

---

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DE DR TAHAR MOULAY DE SAIDA  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE CHMIE



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master en chimie  
Spécialité : MATERIAUX ORGANIQUES



## INTITULE

---

Contribution à la valorisation de deux plantes médicinales  
de la région de Saida : *Marrubium vulgare L (Marrioua )* et  
*Laurus nobilis L (rand)*.

---

PRESENTE PAR : Mr. Khorsi Kadda

**SOUTENU PUBLIQUEMENT LE : 16/06 /2015**  
**DEVANT LE JURY COMPOSE DE :**

<b>Mr A. Guendouzi</b>	<b>Président</b>	<b>Maître assisant 'A' à l'Univ - Saida</b>
<b>Mr B. Haddad</b>	<b>Examineur</b>	<b>Maître de conférences 'A' à l'Univ de Saida</b>
<b>Mr N. Ghali</b>	<b>Examineur</b>	<b>Maître de conférences 'B' à l'Univ de Saida</b>
<b>Mr T.Kebir</b>	<b>Encadreur</b>	<b>Maître de conférences 'B' à l'Univ de Saida</b>

*Année Universitaire : 2014 - 2015*

---

## *DEDICACES*

---

A mes très chers parents

A ma très chère femme

A mon fils Mostapha A et

A ma fille Hafida

A mes frères et sœurs

A tous ceux qui me sont chers

## *Remerciements*

---

*Avant toute chose, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mr Kebir Tahar, Maître de conférences à la faculté des sciences, Université de Saida pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mr Guendouzi Abdelkrim, Maître assistant à l'Université de Saida d'avoir accepté de présider ce jury.*

*J'exprime mes vifs remerciements à Mr Ghali Noureddine, Maître de conférences à l'Université de Saida pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

*Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Mr Haddad Boumadiène, Maître de conférences à l'Université de saida pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de jury.*

*Je tiens à remercier l'équipe de laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels pour l'indentification botanique de nos plantes étudiées.*

*Je remercie également Mr Baba Ahmed Abderrazzak, Maître de conférences au centre universitaire de Rélizane de nous avoir fait les analyses des métaux par la spectrométrie d'absorption atomique –SAA.*

## **Table des matières**

---

## Table des matières

---

*Liste des abréviations*

*Glossaire*

*Liste des figures et des tableaux*

*Introduction générale*.....1

### *Chapitre I : Synthèse bibliographique*

#### *I-1 Métabolites secondaire*

I-1.1 Métabolites primaires et secondaires ----- 2

I-1.2 Les composés polyphénoliques ----- 3

I-1.2.1 Généralités ----- 3

I-1.2.2 Classes des polyphénols ----- 4

I-1.2.2.1 Flavonoïdes ----- 4

I-1.2.2.2 Anthocyanosides ----- 10

I-1.2.2.3 Tannins ----- 10

I-1.2.2.4 Phénols simples et les acides phénoliques ----- 12

I-1.2.2.5 Coumarines ----- 13

I-1.2.2.6 Quinones ----- 14

I-1.2.3 Les composés terpéniques ----- 14

I-1.2.3.1 Stéroïdes, stérols et terpénoïdes ----- 14

I-1.2.3.2 Les saponosides ----- 17

I-1.2.3.3 Huiles essentielles ----- 19

I-1.2.4 Les composées azotées : Alcaloïdes ----- 21

I-1.3 Les antioxydants ----- 23

I-1.3.1 Qu'est-ce qu'un antioxydant ? ----- 23

I-1.3.2 Les antioxydants endogènes ----- 24

I-1.3.3 Les antioxydants exogènes ----- 25

I-1.4 Les métaux lourds dans les plantes ----- 26

I-1.4.1 Composition interne de la plante ----- 26

I-1.4.2 Définition des métaux lourds ----- 26

## ***I-2 Identification botanique des plantes étudiées***

I-2.1 <i>Marrubium vulgare</i> L. -----	27
I-2.1.1 Noms de la plante -----	27
I-2.1.2 Classification botanique -----	27
I-2.1.3 Description morphologique -----	28
I-2.1.4 Répartition géographique -----	28
I-2.1.5 Utilisations traditionnelle de la plante -----	28
I-2.1.6 Toxicité -----	28
I-2.1.7 Composition chimique -----	28
I-2.2 <i>Laurus nobilis</i> L -----	28
I-2.2.1 Généralités -----	28
I-2.2.2 Noms de laurier -----	29
I-2.2.3 Répartition géographique de la plante -----	29
I-2.2.4 Classification botanique -----	29
I-2.2.5 Description botanique de la plante -----	29
I-2.2.6 Composition chimique -----	30
I-2.2.7 Utilisation des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> -----	30

## **Chapitre II : Matériels et Méthodes**

II-1 Matériel végétal -----	31
II-2 Période de récolte de nos plantes -----	31
II-3 Préparation et conservation du matériel végétal -----	32
II-4 Détermination de la teneur en eau (humidité) -----	32
II-5 Détermination de la teneur en cendres -----	33
II-6 Détermination du pH -----	34
II-7 Examen ou test phytochimique -----	34
II-8 Analyse quantitative des composés phénoliques -----	40
II-9 Activité anti-radicalaire contre le radical libre DPPH -----	41
II-10 Minéralisation -----	44

### **Chapitre III : Résultats et Discussions**

III-1 Taux d'humidité ou teneur en eau (%) -----	46
III-2 Matière sèche (Ms) -----	47
III-3 Le pH-----	48
III-4 Détermination de rendement d'extraction (R%)-----	49
III-5 Criblage phytochimique -----	50
III-6 Dosage des composés phénoliques -----	52
III-7 Evaluation du pouvoir antioxydant contre le DPPH -----	56
III-8 Métaux lourds (ETM)-----	61
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>68</b>
<b>Référence bibliographiques .....</b>	<b>70</b>
<b>Annexes</b>	

## **Liste des abréviations**

---



## *Liste des abréviations*

---

**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure ferrique.  
**A** : absorption.  
**DPPH** : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.  
**λ** : longueur d'onde.  
**mg/g** : milligramme par gramme.  
**g**: gramme.  
**mL**: millilitre.  
**min** : minute.  
**nm** : nanomètre.  
**ppm** : partie par million  
**μl**: microlitre.  
**UV**: Ultra-violet.  
**L**: litre.  
**I%** : pourcentage d'inhibition.  
**IC50** : concentration inhibitrice IC50.  
**VC** : vitamine C ou acide ascorbique.  
**D** : facteur de dilution.  
**C** : concentration.  
**m** : masse.  
**°C** : degré celsius.  
**R** : rendement.  
**%** : pourcentage.  
**M** : masse molaire.  
**mg.mL<sup>-1</sup>** : milligramme par millilitre.  
**g.L<sup>-1</sup>** : gramme par litre.  
**EAG** : équivalent d'acide gallique.  
**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium.  
**ETM** : éléments traces métalliques.  
**Ext.Eth** : extrait éthanolique.  
**Ext.aq** : extrait aqueux.  
**Tab** : tableau.  
**Fig** : figure.  
**LDL** : low Density Lipoproteins : lipoprotéines de faible densité.  
**L. nobilis** : *Laurus nobilis*.  
**M.vulgare** : *Marrubium vulgare*.  
**φ OH**: phénol.  
**EF** : extrait éthanolique des feuilles.  
**ET** : extrait éthanolique des tiges.  
**ER** : extrait éthanolique des racines.  
**EAF** : extrait aqueux des feuilles.  
**EAT** : extrait aqueux des tiges.  
**EARa** : extrait aqueux des racines.  
**EAR** : efficacité anti-radicalaire  
**TC**: teneur critique de toxicité.  
**TN** : teneur normale.  
**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphotungstique.  
**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphomolybdique.  
**SAA** : spectrométrie d'absorption atomique.

## **Glossaire**

---

## *Glossaire*

---

- **La phytochimie** : la phytochimie ou chimie des végétaux est la science qui étudie la structure, le métabolisme et la fonction ainsi que les méthodes d'analyse, de purification et d'extraction des substances naturelles issues des plantes.
- **La pharmacognosie (officiel depuis 1969,CSP)** : science multidisciplinaire, au carrefour de toutes les disciplines scientifiques et pharmaceutiques .C'est l'étude de la composition et des effets des principes actifs contenus dans des matières premières d'origine naturelle, animale ou végétale, cette étude étant le plus souvent limitée seulement aux végétaux et produits issus des végétaux. Longtemps utilisé pour définir l'étude des principes actifs d'origine végétale.
- **Phytothérapie** : La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.
- **Principe actif** : Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pour-cent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel.
- **Génines : aglycone** : partie non glucidique d'un hétéroside (sous forme alcool, phénol.....).
- **Hétéroside** : sont des molécules issues de la condensation du sucre et de l'aglycone.
- **Anti-inflammatoires** : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. La plupart des anti-inflammatoires sont aussi des anti-douleurs.
- **Agar** : polymère de l'agarose qui rentre dans la composition des milieux de culture solide en microbiologie. Aussi appelé gélose.
- **Allelopathie** : c'est un phénomène où de nombreuses espèces végétales synthétisent des molécules capables d'agir sur le développement des plantes avoisinantes
- **Analgesique** : médication supprimant la douleur.
- **Antalgique** : médicament qui atténue la douleur.
- **Antifongique** : se dit d'un médicament qui agit contre les infections provoquées par les champignons ou les levures parasites. SYN : antimycosique.
- **Anticonvulsivant (anticonvulsif)** : efficace contre l'épilepsie, et les contractions musculaires involontaires en série.
- **Antiseptique** : se dit d'un agent, d'un médicament propre à prévenir les infections.
- **Anti-inflammatoire**: qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. la plupart des antiinflammatoires sont aussi des antidouleurs
- **Antispasmodique** : se dit d'un médicament qui calme les spasmes
- **Arome** : s'emploie pour caractériser :
  - \* l'odeur des corps volatils issus des aliments ou boissons et perçue au cours de leur dégustation;
  - \* la propriété odorante des aliments et boissons responsable de la saveur.

- **Arthrite** : toute inflammation aiguë ou chronique frappant les articulations. On distingue les arthrites rhumatismales, ou rhumatismes inflammatoires, et les arthrites infectieuses, qui font suite à une infection articulaire.
- **Astringent** : se dit d'une substance qui resserre les tissus ou diminue la sécrétion.
- **Camphre** : substance aromatique extraite de diverses plantes.
- **Carminatif** : qui résorbe les gaz intestinaux.
- **Cellules sécrétrices** : les cellules sécrétrices se rencontrent dans l'épiderme et dans les tissus plus profonds des végétaux. Ce sont certaines cellules épidermiques des tiges, de feuilles, de pétales et d'écailles. Elles diffèrent des autres cellules épidermiques par leur taille plus petite et par l'absence fréquente de cutine dans leurs parois.
- **Cicatrisant** : se dit d'une substance qui favorise la cicatrisation.
- **Colite** : inflammation du colon.
- **Diurétique** : qui favorise l'élimination de l'urine.
- **Emétique** : qui provoque des vomissements.
- **Epicarpe** : pellicule, peau qui recouvre un fruit.
- **Erythème** : affection cutanée donnant lieu à des rougeurs disparaissant à la pression.
- **Expectorant** : qui calme la toux, favorise l'expulsion des sécrétions bronchiques.
- **Fongique** : qui se rapporte aux champignons.
- **Gastrite** : inflammation de la muqueuse de l'estomac.
- **Glabre** : se dit d'une culture ou d'une structure dépourvue de poils.
- **Glycémie** : la glycémie ou taux de sucre dans le sang est mesurée sur un prélèvement de sang veineux, elle varie à l'état normal entre 0.70 et 1.10g par litre, à jeun. Au dessus de 1.30g, il y a diabète.
- **Hémorroïdes** : varices des veines de l'anus et du rectum.
- **Hémostatique** : propre à arrêter les hémorragies.
- **Hypertension** : augmentation de la tension des parois d'une cavité lorsque la pression du liquide qu'elle contient est supérieure à la normale. Cela s'applique aux artères, c'est ce qu'on appelle l'hypertension artérielle.
- **Innocuité** : absence de nocivité.
- **Membrane** : structure biologique formée de feuilles comportant une bicouche lipidique ou sont insérées diverses protéines.
- **Poches sécrétrices** : ce sont des formations anatomiques végétales qui reçoivent et accumulent l'huile essentielle élaborée par les cellules sécrétrices qui les bordent. Les poches sécrétrices se rencontrent généralement chez les MYRTACEES.

- **Poils sécréteurs** : les poils sécréteurs ont une forme très variable. L'essence exsudée du cytoplasme s'accumule dans la paroi externe de la cellule sous la cuticule qu'elle distend. Les poils sécréteurs se rencontrent le plus souvent chez la famille des LABIÉES.
- **Sédatif** : se dit de toute substance qui agit contre la douleur, l'anxiété, l'insomnie ou qui modère l'activité d'un organe.
- **Sous-cutanée** : sous la peau.
- **Stimulant** : se dit de substances capables de faciliter le fonctionnement de certains organes.
- **Stomachique** : se dit d'une substance qui stimule et améliore la fonction gastrique.
- **Teinture** : solution obtenue en laissant une certaine quantité de drogue desséchée au contact d'un solvant pour un temps plus ou moins long.

## **Liste des Figures et des Tableaux**

---

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I-1</b>	Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate. <b>PAL</b> : phénylalanine ammonia-lyase ; <b>C4H</b> : cinnmate 4-hydroxylase	<b>3</b>
<b>I-2</b>	Structure de 2-phenyl chromane	<b>5</b>
<b>I-3</b>	Structure générale des Flavonoïdes	<b>5</b>
<b>I-4</b>	Structures de quelques Flavonoïdes	<b>7</b>
<b>I-5</b>	Structure des anthocyanosides	<b>10</b>
<b>I-6</b>	Structure chimique des acides gallique ( <b>A</b> ) et ellagique ( <b>B</b> )	<b>11</b>
<b>I-7</b>	Liaison " tête-tête " ( <b>A</b> ) et "queue-queue " ( <b>B</b> ).	<b>15</b>
<b>I-1</b>	<i>Marrubium vulgare L</i>	<b>27</b>
<b>II-1</b>	Photo de <i>Marrubium vulgare L</i>	<b>31</b>
<b>II-2</b>	Photo de <i>Laurus nobilis L</i>	<b>31</b>
<b>II-3</b>	Carte géographique de l'endroit de notre récolte	<b>31</b>
<b>II-4</b>	Structure de l'acide gallique	<b>41</b>
<b>II-5</b>	Structure chimique du radical libre DPPH* (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyle)	<b>41</b>
<b>II-6</b>	Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive	<b>42</b>
<b>III-1</b>	Variation du taux d'humidité dans les différentes parties de <i>laurus nobilis L</i>	<b>46</b>
<b>III-2</b>	Variation du taux d'humidité dans les différentes parties de <i>M. vulgare</i>	<b>47</b>
<b>III-3</b>	Histogramme illustrant la matière sèche des parties de <i>L. nobilis</i>	<b>47</b>
<b>III-4</b>	Histogramme illustrant la matière sèche des parties de <i>M. vulgare</i>	<b>48</b>
<b>III-5</b>	Courbe d'étalonnage des composés phénoliques solubles totaux extraits par l'eau	<b>53</b>
<b>III-6</b>	Courbe d'étalonnage des composés phénoliques solubles totaux extraits par l'éthanol	<b>53</b>
<b>III-7</b>	Teneurs en composés phénoliques des feuilles, des tiges et des racines de <i>L. nobilis</i> extraits par l'eau et par l'éthanol.	<b>54</b>
<b>III-8</b>	Teneurs en composés phénoliques des feuilles, des tiges et des racines de <i>M. vulgare</i> extraits par l'eau et par l'éthanol	<b>55</b>
<b>III-9</b>	Réduction d'un antioxydant avec le radical DPPH*	<b>56</b>
<b>III-10</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique	<b>57</b>
<b>III-11</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut éthanolique des feuilles <i>L. nobilis</i>	<b>58</b>
<b>III-12</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut éthanolique des feuilles <i>M. Vulgare</i>	<b>58</b>
<b>III-13</b>	Histogramme illustrant les valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents extraits éthanolique en g/L	<b>60</b>
<b>III-14</b>	Histogramme illustrant le pourcentage en cendres totales de <i>M. vulgare L</i>	<b>61</b>
<b>III-15</b>	Histogramme illustrant le pourcentage en cendres totales de <i>L. nobilis</i>	<b>61</b>
<b>III-16</b>	Histogramme illustrant la teneur en Zn en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées	<b>63</b>
<b>III-17</b>	Histogramme illustrant la teneur en Pb en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées	<b>64</b>

<b>III-18</b>	Histogramme illustrant la teneur en Cr en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées	<b>64</b>
<b>III-19</b>	Histogramme illustrant la teneur en Cu en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées	<b>65</b>
<b>III-20</b>	Histogramme illustrant la teneur en Cd en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées	<b>65</b>

### Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I-1</b>	Structure des squelettes des polyphénols	<b>4</b>
<b>I-2</b>	Quelques exemples de coumarines	<b>13</b>
<b>I-3</b>	Liste des principaux radicaux libres	<b>24</b>
<b>I-4</b>	Exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments	<b>25</b>
<b>II-1</b>	Caractéristiques géographiques et bioclimatiques de Saida et Ain EL Hadjar	<b>32</b>
<b>III-1</b>	Le taux d'humidité dans les différentes parties du <i>L. nobilis</i>	<b>46</b>
<b>III-2</b>	Le taux d'humidité dans les différentes parties de <i>M. vulgare L</i>	<b>47</b>
<b>III-3</b>	pH des différents extraits aqueux de <i>L. nobilis</i>	<b>48</b>
<b>III-4</b>	pH des différents extraits aqueux de <i>M. vulgare</i>	<b>48</b>
<b>III-5</b>	Données opératoires des extractions effectuées sur les feuilles, les tiges et les racines de <i>L. nobilis</i>	<b>49</b>
<b>III-6</b>	Données opératoires des extractions effectuées sur les feuilles, les tiges et les racines de <i>M. vulgare L</i>	<b>49</b>
<b>III-7</b>	Résultats de la recherche des saponosides	<b>50</b>
<b>III-8</b>	Résultats de la recherche des amidons	<b>50</b>
<b>III-9</b>	Résultats de la recherche des anthraquinones libres	<b>50</b>
<b>III-10</b>	Résultats de la recherche des tanins	<b>50</b>
<b>III-11</b>	Résultats de la recherche des alcaloïdes sels	<b>50</b>
<b>III-12</b>	Résultats de la recherche des flavonoïdes	<b>51</b>
<b>III-13</b>	Résultats de la recherche des tanins	<b>51</b>
<b>III-14</b>	Résultats de la recherche des composés réducteurs	<b>51</b>
<b>III-15</b>	Résultats de la recherche des coumarines	<b>51</b>
<b>III-16</b>	Résultats de la recherche des stérols et stéroïdes	<b>51</b>
<b>III-17</b>	Résultats de la recherche des acides gras	<b>51</b>
<b>III-18</b>	Résultats de la recherche des alcaloïdes bases	<b>51</b>
<b>III-19</b>	Résultats de la recherche des Emodols	<b>52</b>
<b>III-20</b>	Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique dans l'eau	<b>52</b>
<b>III-21</b>	Absorbances de la gamme de concentrations d'acide gallique dans le méthanol	<b>53</b>
<b>III-22</b>	Résultats de dosage des composés phénoliques totaux extraits par l'éthanol	<b>54</b>
<b>III-23</b>	Résultats de dosage des composés phénoliques totaux extraits par l'eau	<b>54</b>
<b>III-24</b>	Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique	<b>56</b>



<b>III-25</b>	Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>L. nobilis</i>	<b>57</b>
<b>III-26</b>	Absorbances et pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait éthanolique des feuilles de <i>M. Vulgare</i>	<b>58</b>
<b>III-27</b>	Valeurs des IC50 trouvées et ARP pour les extraits éthanoliques des feuilles de deux plantes étudiées	<b>59</b>
<b>III-28</b>	Résultats des cendres totales pour <i>M. vulgare</i>	<b>61</b>
<b>III-29</b>	Résultats des cendres totales de <i>L. nobilis</i>	<b>61</b>
<b>III-30</b>	Concentration en mg.L <sup>-1</sup> et teneur en ppm (mg.kg <sup>-1</sup> /Ms) du Zn dans les deux plantes étudiées	<b>62</b>
<b>III-31</b>	Concentration en mg. L <sup>-1</sup> et teneur en ppm (mg.kg <sup>-1</sup> /Ms) du Pb dans les deux plantes étudiées	<b>62</b>
<b>III-32</b>	Concentration en mg. L <sup>-1</sup> et teneur en ppm (mg.kg <sup>-1</sup> /Ms) du Cr dans les deux plantes étudiées	<b>62</b>
<b>III-33</b>	Concentration en mg. L <sup>-1</sup> et teneur en ppm (mg.kg <sup>-1</sup> /Ms) du Cu dans les deux plantes étudiées	<b>63</b>
<b>III-34</b>	Concentration en mg. L <sup>-1</sup> et teneur en ppm (mg.kg <sup>-1</sup> /Ms) du Cd dans les deux plantes étudiées	<b>63</b>

## *Introduction générale*

---

*Le vrai point d'honneur d'un scientifique n'est pas d'être toujours dans le vrai. Il est d'oser, de proposer des idées neuves et ensuite de les vérifier*

*Pierre –Gilles de Gennes*

## Introduction générale

---

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant pour des applications dans de nombreux produits de consommation. En effet, leur utilisation est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, mauvaise presse parmi le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application : cosmétiques, industrie alimentaire, pharmaceutiques, additifs nutritionnels, colorants, conserverie et phytothérapie. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît.

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts plateaux, les steppes et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Malheureusement l'exploitation et la valorisation de ces sources naturelles reste très limitée et très artisanale, malgré les multiples études réalisées et qui avaient portées sur la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les huiles essentielles qui ont des intérêts multiples en socio-économiques et socioculturels.

La willaya de Saida 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 (PM) qui les en englobe cette région ainsi qu'au développement des agents thérapeutiques qui pourraient être classés comme des médicaments.

A l'issu de cette rareté d'informations sur les PM 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.

Pour ce la, dans cette étude nous nous sommes intéressés à la valorisation et l'exploitation de plantes médicinales de la région de Saida, il s'agit de *Marrubium vulgare* L (Marrioua) et *Laurus nobilis* L (rand).

*Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :*

- *Criblage phytochimique vise à caractériser la présence des familles de composés chimiques dans les différentes parties des plantes (feuilles, tiges et racines).*
- *Analyse quantitative et du contenu en polyphénols des extraits éthanoliques et aqueux des différentes parties des plantes choisies (feuilles, tiges et racines).*
- *Evaluation du pouvoir piégeur (scavenger) des extraits éthanoliques des feuilles vis-à-vis d'un radical libre relativement stable (DPPH).*
- *Evaluation du caractère xérophytisme des plantes par la détermination des teneurs des métaux lourds par la spectrométrie d'absorption atomique (SAA).*

Enfin, la stratégie consiste à apporter des éléments de connaissances chimiques et biologiques relatifs de deux plantes très utilisées en phytothérapie. 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.

## *Chapitre I*

---

# **Synthèse bibliographique**

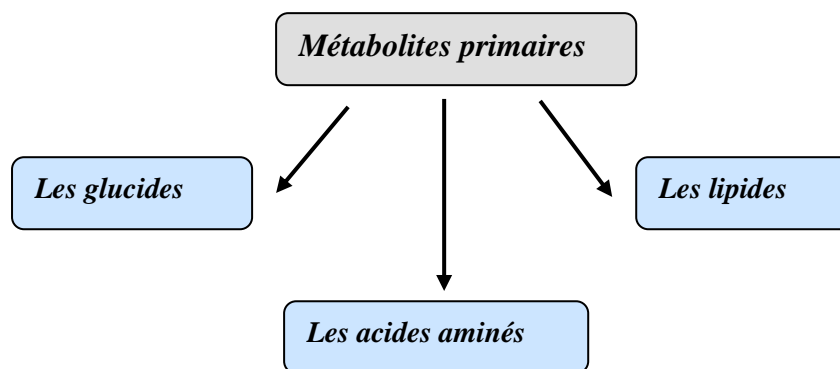
*« Celui qui a planté un arbre avant de mourir n'a pas vécu inutile » dit un proverbe indien.*

## I -1 Les Métabolites secondaires

### I-1.1 Métabolites primaires et secondaires

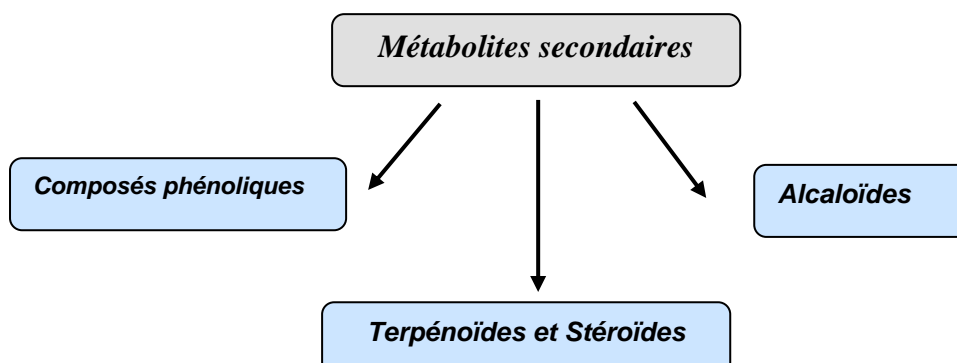
Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux (ou d'animaux). On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires [1]. Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme :

- Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose).
- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines.



Les métabolites secondaires ne sont pas, par définition, nécessairement et vitaux pour la cellule ou l'organisme. Ces molécules sont présentes en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire. Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques. De façon générale. Les métabolites secondaires sont repartis en trois grandes familles chimiques.

- Les composés aromatiques (phénoliques, l'acide shikimique ou les dérivés d'acétate) (composés phénoliques).
- Les terpénoïdes et stéroïdes.
- Les composés azotés ou alcaloïdes.



## I-1.2 Les composés polyphénoliques

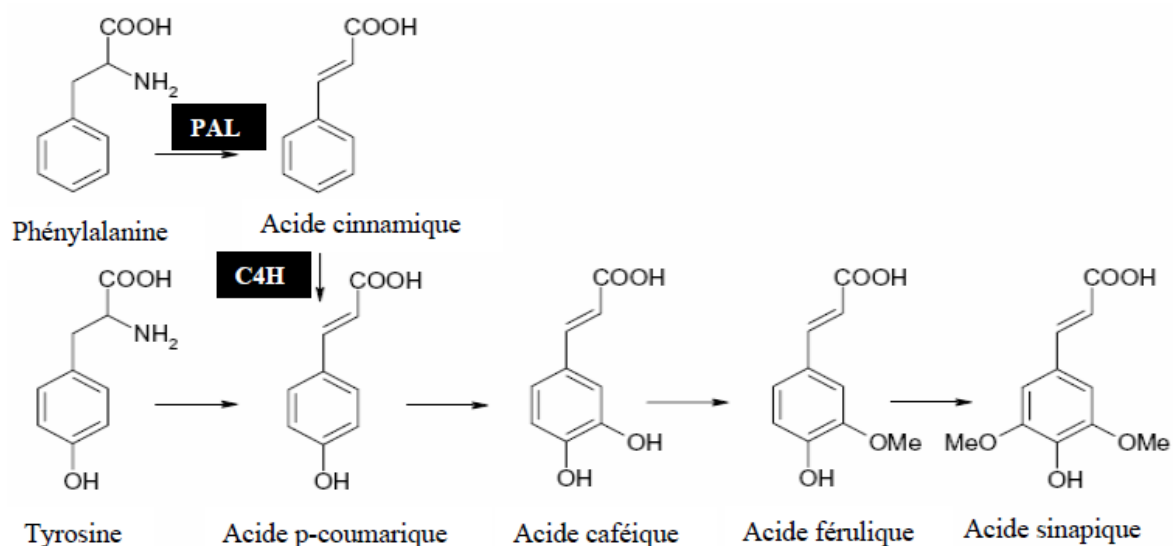
### I-1.2.1 Généralités

Les poly phénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement [1]. A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés [2]. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) [2]. Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 [3].

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols où les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué (Fig I-1).

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs.

Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste [4].


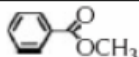

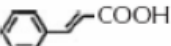
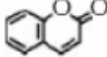
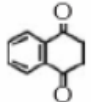
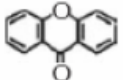
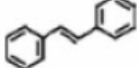
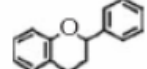


**Figure I-1.** Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate [4]. PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; C4H : cinnmate 4-hydroxylase.

### I-1.2.2 Classes des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tab I-1**). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

**Tableau I-1.** Structure des squelettes des polyphénols [2].

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Acide gallique	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphényl-acétique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Esculitine	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiférine	
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resveratrol	
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Naringénine	

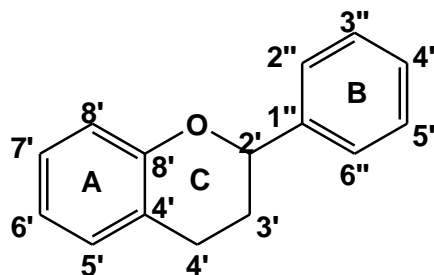
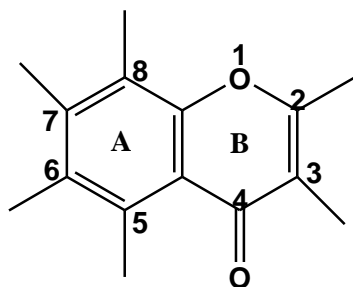
#### I-1.2.2.1 Flavonoïdes

##### a/ Généralités

Depuis la nuit des temps, les abeilles utilisent des flavonoïdes pour assainir leur ruche. On retrouve en effet de la quercétine et de la galangine, dans la propolis. Ces substances sont enzymatiquement fabriquées à partir des sécrétions de bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau, l'aulne, l'épicéa, le sapin, le saule ou l'orme qui en sont riches.

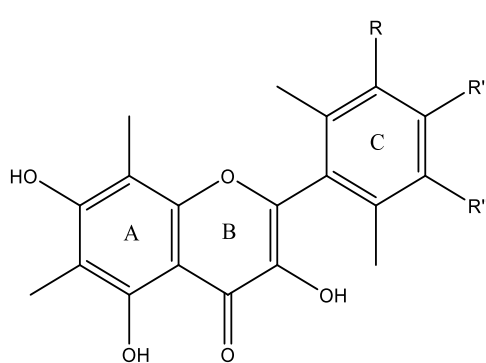
Ce terme rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (thé, raisin, baies, agrumes). Ce sont les pigments les plus importants pour la coloration des fleurs. Beaucoup de plantes, tant alimentaires, qu'adaptogènes ou médicinales en sont riches.

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées par domaine médical, où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-radicalaires, anti-allergiques, anti-tumorales, mais aussi anti-inflammatoires et anti-cancéreuses. Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus [5] et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényl chromane (Fig I-2 et I-3) [6].

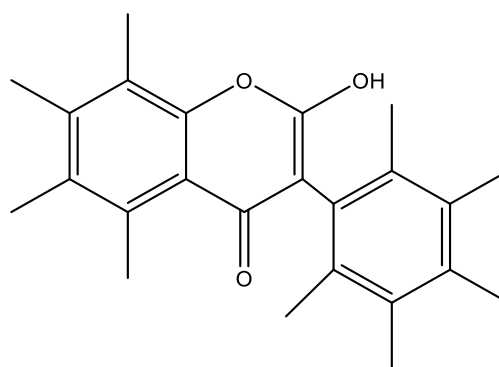


**Figure I-2.** Structure de 2-phényl chromane **Figure I-3.** Structure générale des Flavonoïdes

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C, c'est-à-dire la présence : de double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo [6]. En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones, isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols, flavanones, isoflavanones, aurones (Fig I-4) [7].

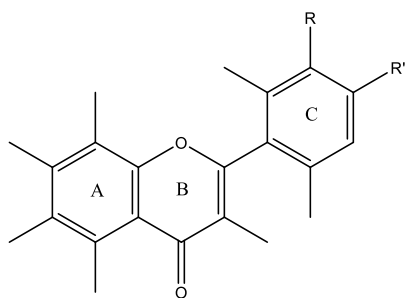


Flavonoles

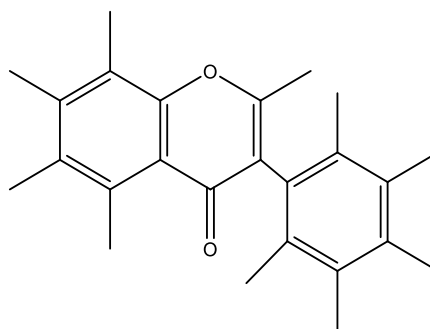


Isoflavonoles

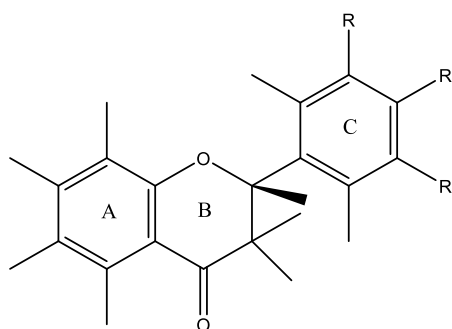




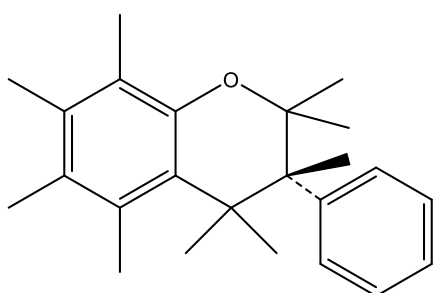
Flavones



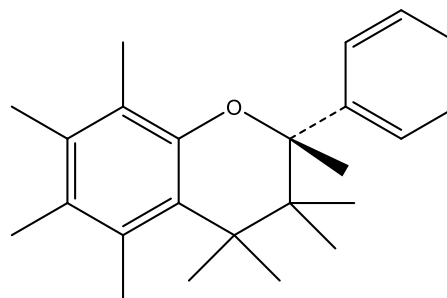
Isoflavones



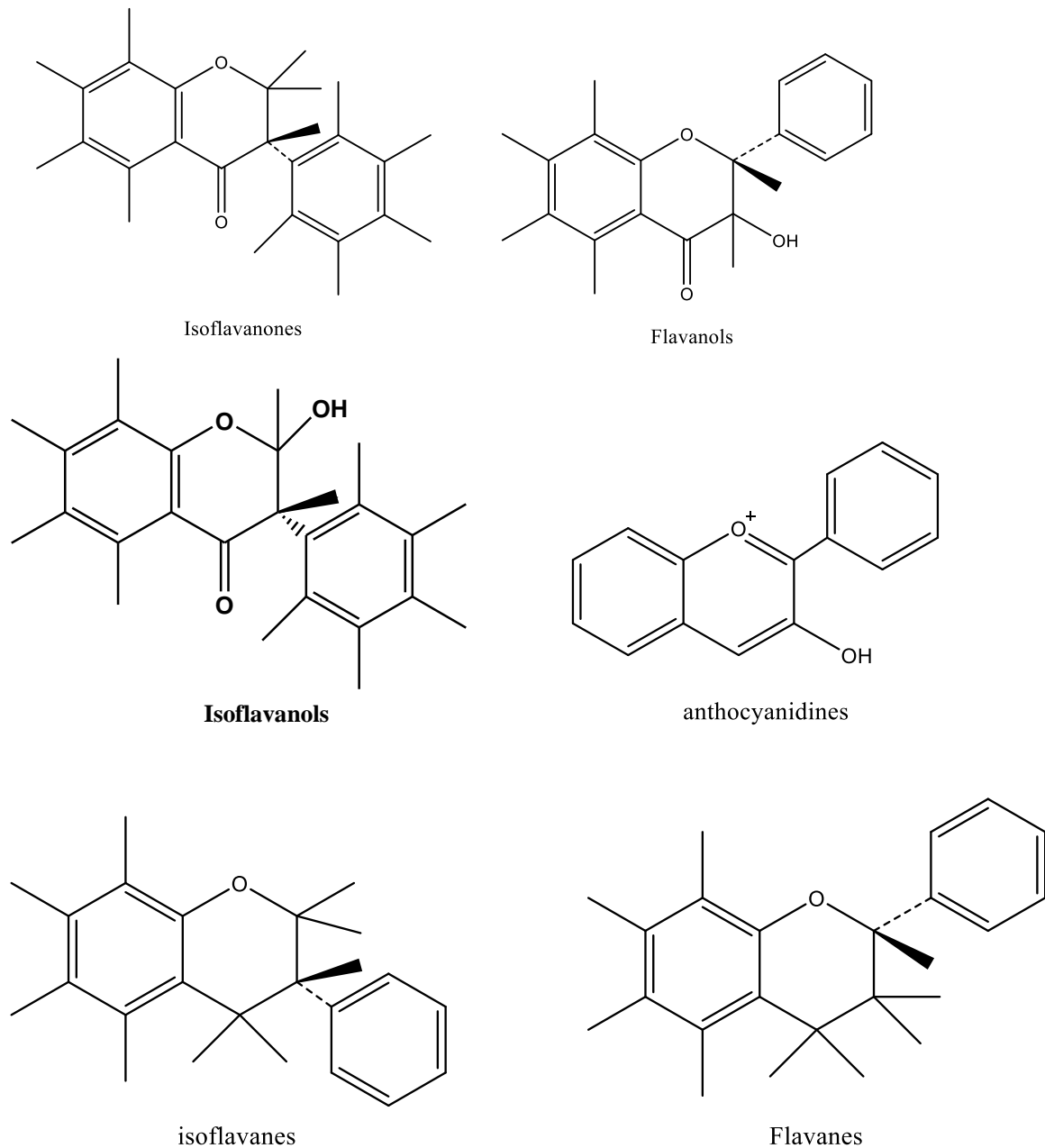
Flavanones



isoflavanes



Flavanes



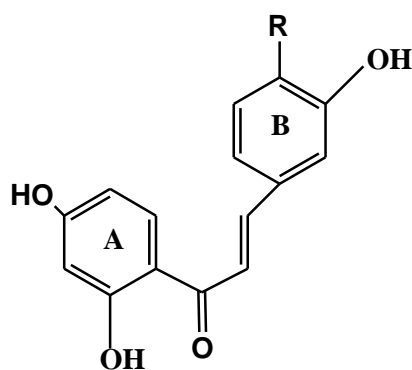
**Figure I-4.** Structures de quelques flavonoïdes

### b/ Répartition des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois... Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles. Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs.

Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique indéniable, culminant dans les fleurs des végétaux supérieurs).

Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge. Les flavones, les aurones et les chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beige voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes [8].



**Chalcones**

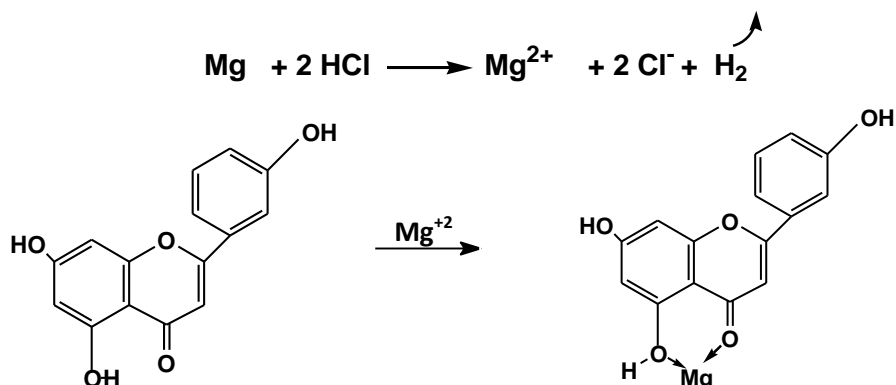
### c/ Propriétés physico-chimiques

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 génines sont peu solubles dans l'eau et l'éther. Les flavonoïdes sont aussi solubles dans la solution alcaline (ammoniaque 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 [9,10].

### d/ Caractérisation

De nombreuses réactions colorées existent pour caractériser les flavonoïdes. En dehors de la coloration jaune donnée par les alcalis, il existe une coloration plus spécifique dite réaction de la cyanidine: les hétérosides flavoniques en solution alcoolique, mis en présence structure chimique des flavonoïdes mis en jeu: orangé (flavones), rouge cerise (flavonols) et rouge violacé (flavonones).

- Les flavonoïdes donnent généralement avec le Mg en présence de HCl une coloration rose ou rouge après trois minutes [11].

**Mécanisme****e/ Aspect thérapeutique des flavonoïdes**

La plupart de ces flavonoïdes sont de puissants antioxydants offrant toute une batterie de fonctions biochimiques particulièrement intéressantes pour notre santé. Ils jouent un rôle important dans la fonction immunitaire, l'expression génique, la circulation sanguine dans les capillaires et le cerveau, la fonction hépatique, l'activité enzymatique, l'agrégation des plaquettes et le métabolisme du collagène, des phospholipides, du cholestérol et de l'histamine.

**f/ Action anti-oxydante des flavonoïdes**

Puissants antioxydants, les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres (hydroxyl, anion superoxyde et des radicaux peroxy lipidiques), générés par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) et qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui sont des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et conduisant à l'asphyxie des tissus irrigués). En inhibant l'oxydation des LDL, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribue à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse.

### g/ Flavonoïdes contre le Cancer

Les flavonoïdes ont pour effet d'inhiber l'activité d'une enzyme, la topoisomérase II, qui joue un rôle essentiel dans l'apparition du cancer, notamment la maladie de Hodgkin. Les flavonoïdes, ont largement montré leurs effets protecteurs contre plusieurs cancers, dont la prostate, le côlon et le poumon.

#### I-1.2.2.2 Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits [1], 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-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum.

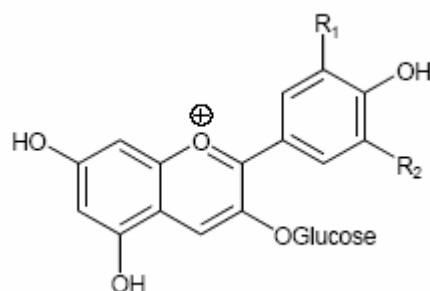


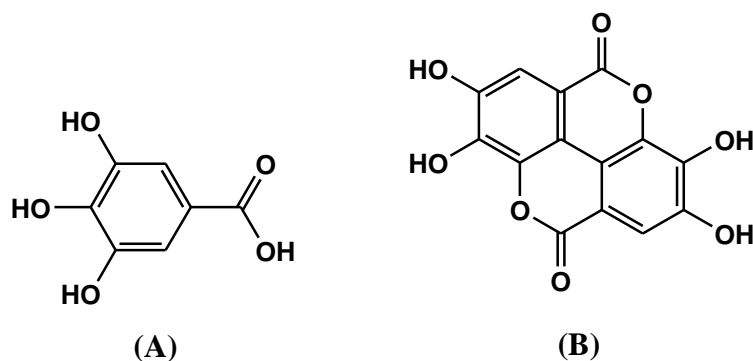
Figure I-5. Structure des anthocyanosides

#### I-1.2.2.3 Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [12]. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [13]. On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

##### a/ Tannins hydrolysables

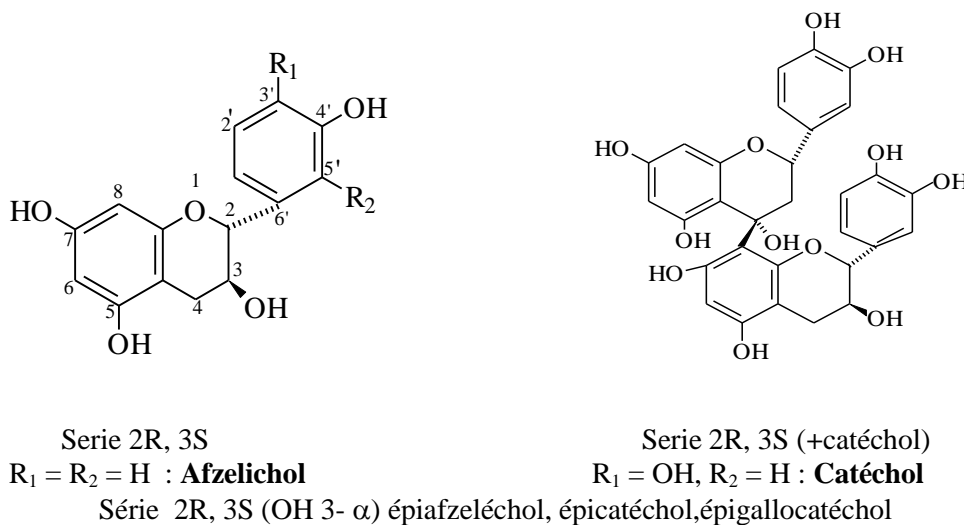
Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Fig I-6) [1,11].



**Figure I-6.** Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).

### b/ Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols

Tannins condensés se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables, ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Ils sont formés de deux ou plusieurs molécules de flavan-3-ol, leur union se fait par des liaisons carbone-carbone, le plus souvent en position 4-8 ou 4-6.



### c/ Propriétés physico-chimiques

Les tanins sont des corps généralement amorphes, solubles dans l'eau et dans l'alcool, insolubles dans les solvants organiques apolaires. On les extrait donc par des mélanges hydro alcooliques.

Les tanins sont précipités par de nombreux réactifs ; ils précipitent avec les sel de métaux lourd : fer, plomb, zinc, cuivre.

#### **d/ Caractérisation**

Avec les sels ferriques, on obtient des précipités colorés différemment selon la nature des tanins :

- bleu-noir avec les tanins hydrolysables.
- brun-verdâtre avec les tanins condensés.

Les tanins galliques donnent une coloration rose avec l'iodate de potassium (acide gallique libre est coloré en orange par se réactif)

Les tanins ellagiques sont colorés en rose par  $\text{HNO}_2$  en milieu acétique (rose, la couleur vire au pourpre puis au bleu). Les tanins condensés sont colorés en rouge par la vanilline chlorhydrique [13,14].

#### **e/ Action médicinales des tannins**

Les tannins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie [15]. Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques. Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5,7-dihydroxyles sur le cycle A. Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres [16], ils inhibent les ions  $\text{Cu}^{2+}$  qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages in vitro [17].

#### **I-1.2.2.4 Phénols simples et les acides phénoliques**

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

##### **a/ Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque**

Les acides phénols en  $\text{C}_6\text{-C}_{11}$ , dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique [1].

### b/ Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large; les autres (acides o-coumarique, o-férulique) sont peu fréquents [1]. Les acides cinnamiques et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation [11].

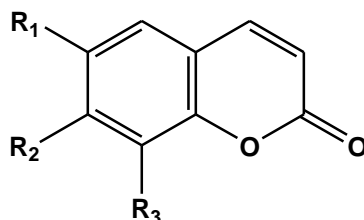
### c) Phénols simples

Tels que le catéchol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois ont été montrés pour leur toxicité vis-à-vis des microorganismes [11].

### I-1.2.2.5 Coumarines

#### a/ Définition

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- $\alpha$ -pyrone [18] et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [11].



*Structure générale des Coumarines*

**Tableau I-2.** Quelques exemples de coumarines

Composé	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Coumarine non phénolique	H	H	H
Ombelliférone	H	OH	H
Herniarine	H	OCH <sub>3</sub>	H
Esculétol	OH	OH	H
Scopolétol	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Scopane	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
Fraxétol	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH



### **b/ Propriétés physico-chimiques**

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres de saveur généralement nulle, certaines sont sublimes et entraînés à la vapeur d'eau. Les hétérosides et les gènes sont assez solubles dans l'eau et l'alcool. Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultraviolette. Leur spectre U.V est également caractéristique et sert à leur identification. [19,20].

Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone par son ouverture et sa solubilisation en milieu alcalin puis par fermeture en milieu acide pour régénérer la fonction lactone [21].

### **c/ Propriétés thérapeutiques**

Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives. Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires [2].

#### **I-1.2.2.6 Quinones**

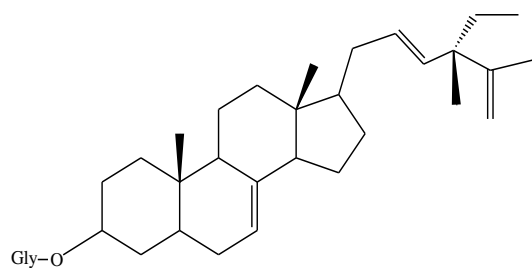
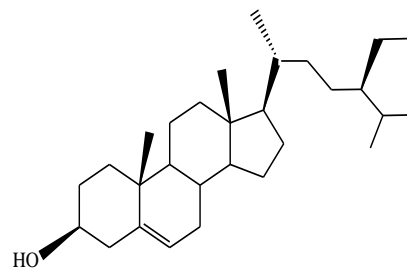
Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) [1]. Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs [11].

#### **I-1.2.3 Les composés terpéniques**

##### **I-1.2.3.1 Stéroïdes, stérols et terpénoïdes**

###### **a/ Définition**

Les stéroïdes, stérols et les terpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, ils regroupent plusieurs sous familles. Les stérols jouent un rôle important dans la qualité des graisses et des huiles [22]. Ils se présentent sous forme des alcools libres (exemple : sitostérol), ou sous forme des esters associés par des glucoses (exemple : glucoside stérols) [23].

Glucoside de  $\Delta^7$ -stérol $\beta$ -sitostérol

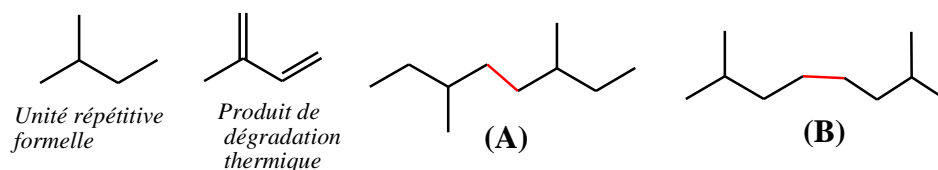
Parmi les stérols ou phytostérols les plus fréquemment rencontrés chez les végétaux sont : le stigmasterol et le  $\beta$ -sitostérol, ils représentent 80% des stérols biosynthétisés à la surface du globe terrestre [24].

Les stéroïdes et les triterpènes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivé du 2-méthylbutadiène ( $C_5H_8$ ). Chaque groupe de terpènes est issu de la condensation tête à queue d'un nombre variable d'unités isoprènes [24].

*La famille des terpénoïdes regroupe plusieurs sous familles :*

pour n = 2 : les monoterpènes (C10)
pour n = 3 : les sesquiterpènes (C15)
pour n = 4 : les diterpènes (C20)
pour n = 5 : les sesterpènes (C25)
pour n = 6 : les triterpènes (C30)
pour n = 8 : les polyterpènes

Dans les terpénoïdes, la tête d'un élément isoprène est ordinairement liée à la queue de l'élément suivant; toutefois, on rencontre des exemples de terpénoïdes où se trouvent des liaisons " tête-tête " et " queue-queue " (**Fig I-7**).



**Figure I-7.** Liaison " tête-tête " (A) et "queue-queue " (B).

### b/ Intérêt des terpènes et des stéroïdes

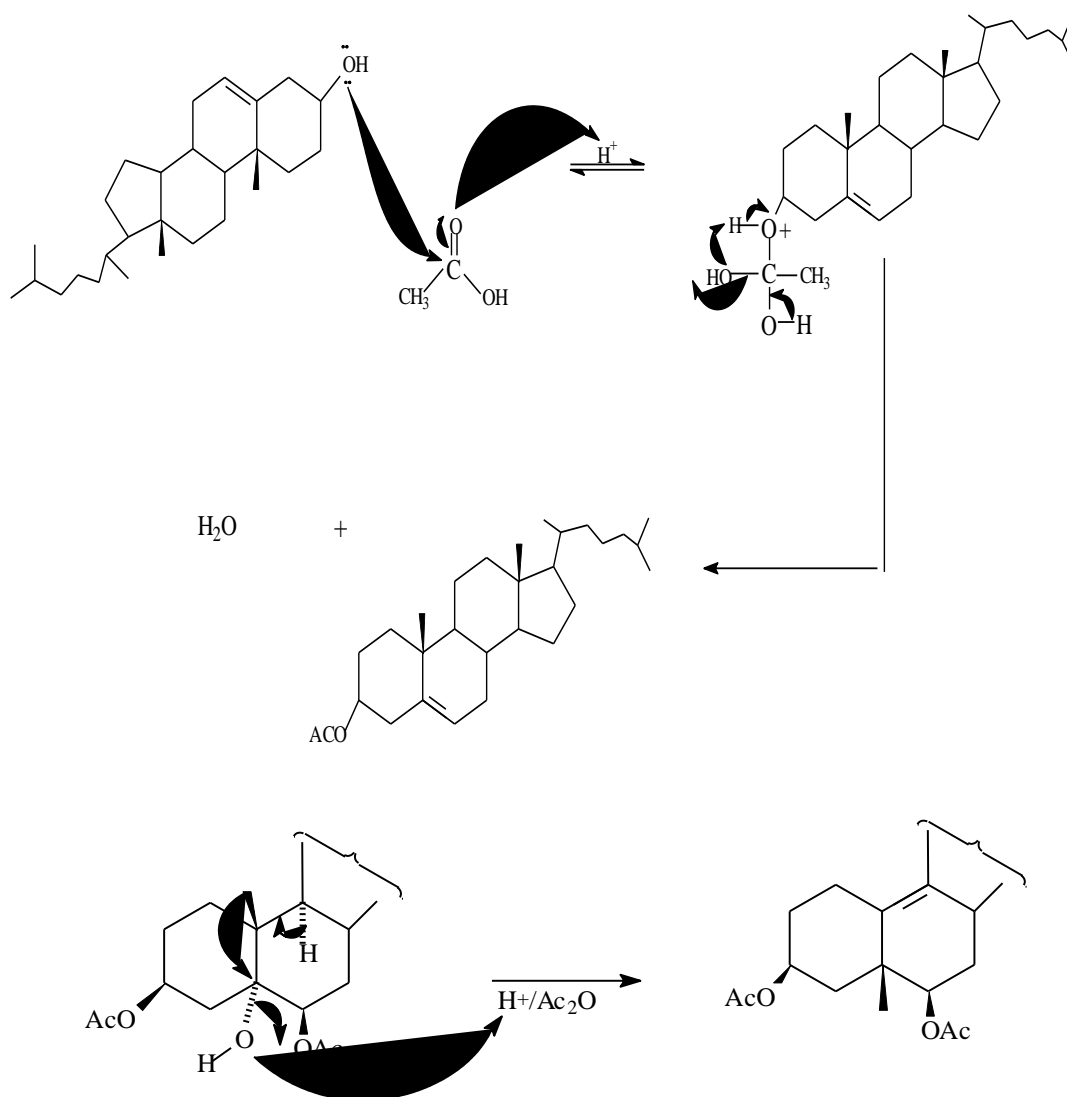
Leur intérêt thérapeutique est très vaste :

- en économie sont très importants dans la glisse, édulcorants peu calorigènes, très utilisés dans les industries agro-alimentaires.
- Ils permettent une augmentation du poids du corps, de la masse musculaire et une augmentation de la force.
- Un potentiel thérapeutique dans les divers ; cytostatiques, antiviraux, insecticides et analgésiques [25].

### c/ Caractérisation des stéroïdes et terpénoïdes

La détection des stéroïdes et des hétérosides tritèrpeniques est basée sur la réaction de Liebermann - Burchardt.

#### Mécanisme



### I-1.2.3.2 Les saponosides

#### a/ Définition

On entend par saponosides (mot latin « sapon », savon ; « saponaire », l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale [26].

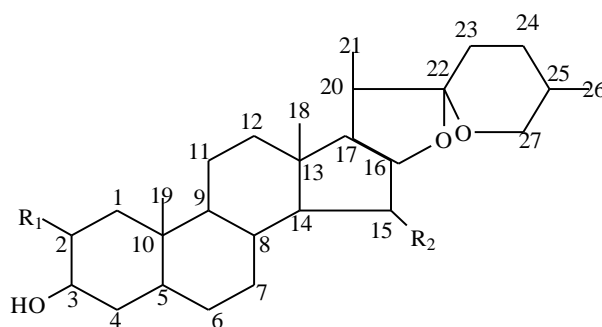
#### b/ Classe des saponosides

Selon la nature de génine, et structurellement, les saponosides sont classés en deux groupes :

##### b-1/ Saponosides à génines stéroïdiques

Ils

possèdent un squelette de 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles, sont des dérivés du noyau spirostane, comme les stérols végétaux ou animaux, ils sont utilisés pour l'hémisynthèse des corticoïdes. Ces sapogénines possèdent toujours une fonction alcool secondaire en position 3, susceptible de former une liaison hémiacétalique avec un ose ou un oside.

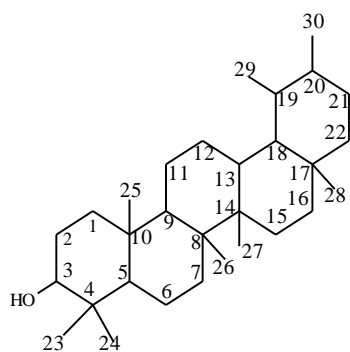
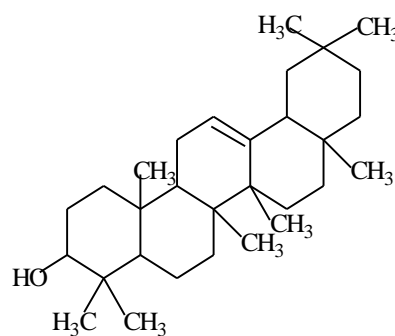
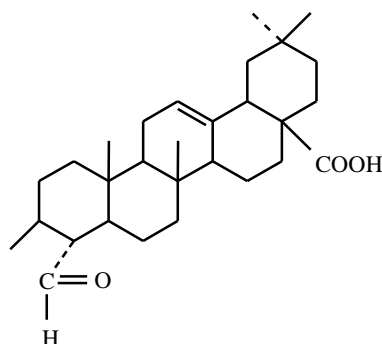


#### Spirostane

*Structure générale des saponosides*

##### b-1/ Saponosides à génines triterpènes

Ils possèdent le squelette de 30 atomes de carbone qui comporte habituellement cinq cycles, ce sont des dérivés du noyau  $\alpha$  ou le  $\beta$ - amyryne (pentacycle), exemple : gypsogénine des saponaires, ou parfois du noyau dammarane (tetracyclique).

 $\alpha$ -amyrine $\beta$ -amyrine

gypsogénine

### c/ Caractérisation

Les saponosides peuvent être mises en évidence par des réactions de coloration, en général peu spécifique, réaction de *Liebermann Burckhardt* pour les génines stéroïdiques.

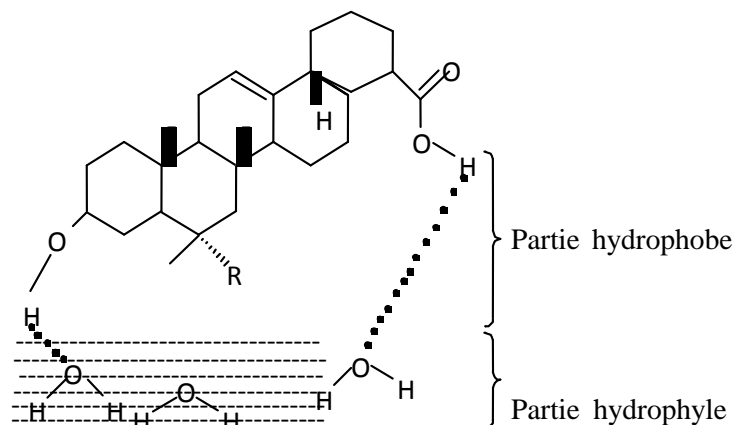
. Les réactions générales de détection des saponosides sont les suivantes :

- l'acide sulfurique concentré dissout les saponosides et se colore successivement en jaune, rouge, bleu vert ou bleu violet.
- L'examen en lumière UV, révélerait une fluorescence bleue pour les saponosides tri terpéniques et jaune pour les stéroïdiques [27].

Dans l'industrie, plusieurs méthodes de dosages sont utilisées, notamment, une gravimétrie réalisée par précipitation des sapogénines après hydrolyse et pesée du résidu.

### Mécanisme

Lors de la caractérisation des saponines en milieu aqueux, la formation d'une couche hydrophobe est expliquée par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes entre un ou plusieurs groupes hydroxyles ou carboxyliques de saponine et les molécules d'eau [27].



#### d/ Propriétés physico-chimiques

Les saponosides possèdent un ensemble de propriétés physico-chimiques qui nous facilitent leur caractérisation, éventuellement, le pouvoir aphrogène, l'action hémolytique et la saveur âcre.

Ils se trouvent sous forme amorphe, solubles dans les solvants organiques polaires et l'eau, ils sont pratiquement insolubles dans les solvants organiques apolaires. Leur point de fusion comprise entre 200°C et 300°C [28].

#### e/ Propriétés biologiques et pharmacologiques

Les saponosides possédant une action dominante et une action irritante s'exercent sur tous les tissu et plus spécifique sur les cellules des muqueuses, ils ont des propriétés anti-inflammatoires et antioedémateuses. Ils sont particulièrement toxiques pour les poissons et autre animaux aquatiques.

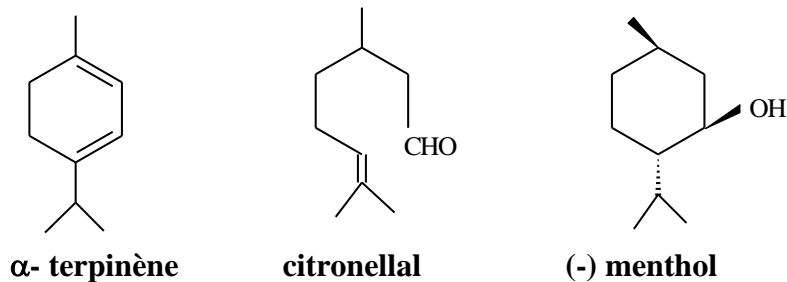
Actuellement, les recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés anti-bactérienne et antifongique [29].

### I-1.2.3.3 Huiles essentielles

#### a/ Généralités

Les huiles essentielles parfois appelées essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles. Elles sont obtenue par deux procédés, soit par hydrodistillation ou entraînement à la vapeur d'eau, ou plus rarement par expression des épicarpes de l'orange et le citron.

Pour améliorer la qualité aromatique des huiles essentielles, l'extraction se fait à basse température et pression [29].

**Exemples**

La teneur des huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1% à 5 %. Il existe quelque exception : exemple : Badiane de Chine, où la teneur en essence est supérieure à 5% ; « clou de Girofle » qui renferme plus de 15% d'essence [29].

**b/ propriétés physiques**

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun des propriétés physiques :

- ce sont généralement des liquides à température ordinaire.
- Leur volatilité les oppose aux « huiles fixes ».
- Elles sont généralement incolores au jaune pâle, sauf quelque exception (exemple huile de Azulène, de coloration bleue).
- Leur densité, le plus souvent est inférieure à celle de l'eau.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.
- Peu solubles dans l'eau, elles sont solubles dans les alcools de titre élevé, dans les huiles fixes (liposolubles), et dans les solvants organiques usuels.

**c/ Propriétés pharmacologiques**

La diversité des constituants présents dans les huiles essentielles entraîne des activités :

- La propriété de diurèse : fait fonctionner les quatre grands émonctoires (peau avec ses trois glandes, reins, poumons et intestins), facilitant le drainage des déchets et des résidus hormonaux solubles et insolubles vers leurs émonctoires.
- Propriétés spasmolytiques et sédatives : de très nombreuses drogues à huiles essentielles (badiane, menthe, verveine,...) sont efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux.
- Propriétés irritantes : augmentent les mouvements de l'épithélium cilié au niveau de l'arbre bronchique et l'élimination rénales d'eau par effet local direct.

### I-1.2.4 Les composées azotées : Alcaloïdes

#### a/ Généralités

Les alcaloïdes constituent avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leur extrême importance tient d'une part à leur activité et d'autre part à leur toxicité. Le terme d'alcaloïdes a été introduit en 1818 par W.Meissner ; il rappelle le caractère alcalin de ces substances, caractères met à profit pour leur extraction et leur dosage [30].

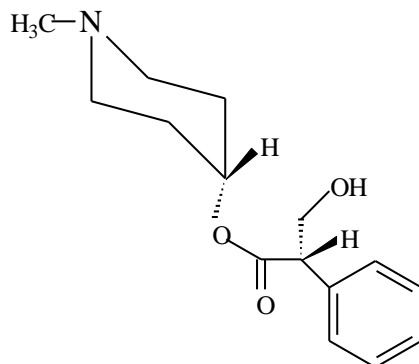
#### b/ Définition

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple). Il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation [31].

Les alcaloïdes existent sous forme de sel (malates, méconates, isobutyrate ... ) et sous forme d'une combinaison avec les tanins [32]. On distingue trois classes d'alcaloïdes :

#### b-1/ Alcaloïdes vrais

Ils sont issus du seul règne végétal, ils existent à l'état de sels et sont biosynthétiquement formés à partir des acides aminés.

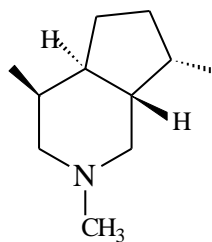
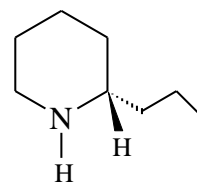


(-) Hyoscyamin

#### b-1/ Pseudo-alcaloïdes

Il s'agit dans la majorité, des alcaloïdes terpéniques, ils présentent, le plus souvent, toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés.

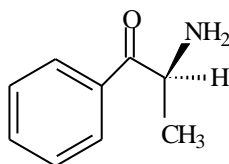


 $\beta$ -Skytantine

(+)-Coniine

### b-3/ Proto-alcaloïdes

Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés [27].



(-)-cathionone

### c/ Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont le plus souvent des solides cristallisables, rarement colorés, la plupart sont doués de pouvoir rotatoire (capables de dévier la lumière polarisée). Certains sont des liquides à la température ordinaire (alcaloïdes généralement non oxygénés), ce sont des composés à caractère basique ; ils donnent des sels avec les acides minéraux (chlorures, sulfates, nitrates...), ou organiques (tartrates, sulfamates, etc.) [33].

Leur solubilité dans les différents solvants varie en fonction du pH :

- à l'état base : soluble dans les solvants organiques non polaire, polaire et insoluble dans l'eau.
- à l'état sel : soluble dans les solvants polaires et l'eau et insoluble dans les solvants organiques non polaires [34].

### d/ Caractérisation

Les extraits secs sont repris dans l'acide chlorhydrique (1N) puis additionnés de quelques gouttes du réactifs de Wegner pour donner un précipite brun indiquant la présence des alcaloïdes [35].

La caractérisation spécifique est possible avec les différents groupes des alcaloïdes :

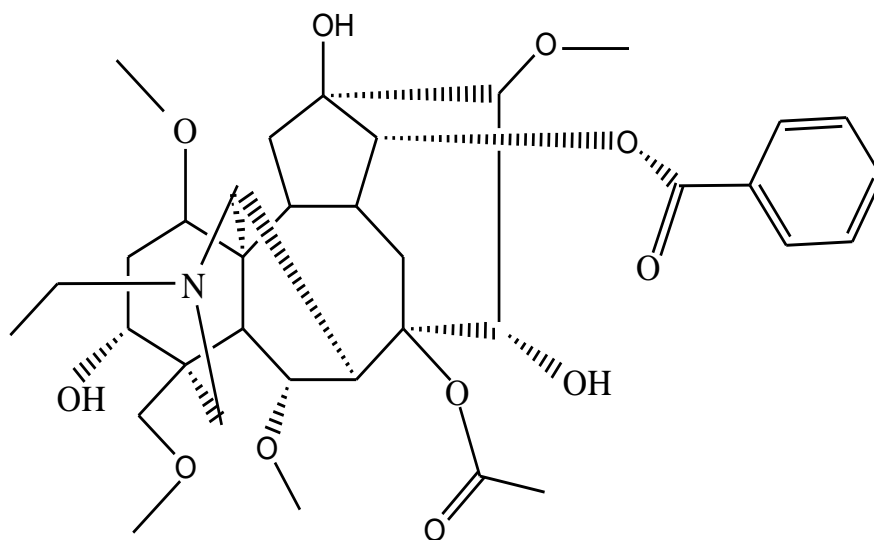
- Le réactif de Vitali-Morin pour les alcaloïdes à noyau tropane estérifié ;
- Le réactif de Van Urk pour les alcaloïdes indoniques [35].

### e/ Action pharmacologiques

Les drogues à alcaloïdes ont une importance considérable en thérapeutique, certains agissent au niveau central, d'autres sur le système nerveux autonome : sympatholytique (exemple : ergotamine); d'autres ont des propriétés anesthésiques, antimorales, etc.

Elles agissent à faibles doses, mais peuvent être même toxiques à très faible dose.

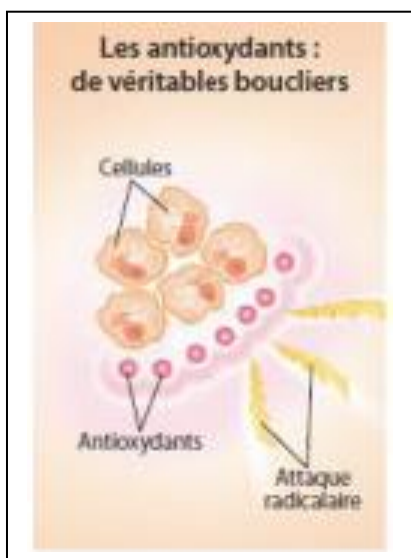
**Exemple :** Aconitine : dose unitaire 0.2mg ; dose mortelle 1mg [35].



Structure de l'Aconitine ( $C_{34}H_{37}NO_{11}$ )

### I-1.3 Les antioxydants

#### I-1.3.1 Qu'est-ce qu'un antioxydant ?



Le radical libre arrache un électron à l'antioxydant et non pas aux constituants de nos cellules. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable. C'est un déchet sans danger qui sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant, auquel il manque un électron, a l'avantage de ne pas se transformer en radical libre. Il devient inactif. La réaction en chaîne est stoppée. La propagation des radicaux libres dans l'organisme cesse et les lésions sont ainsi limitées.

**Tableau I-3.** Liste des principaux radicaux libres [36].

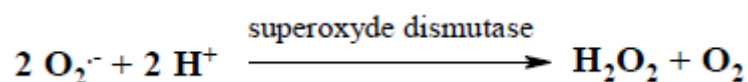
Radicale	Formule
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot -}$
Peroxyde	$H_2O_2$
Hydroxyle	$OH^{\cdot}$
Peroxyle	$ROO^{\cdot}$
Hydroperoxyde	$ROOH$
Alcoyles	$RO^{\cdot}$
Oxgène singulet	$1/2O_2$
Oxyde nitrique	$NO^{\cdot}$

Il existe un très grand nombre de molécules antioxydantes. Elles peuvent être biologiques naturellement fabriquées par notre organisme (**les antioxydants endogènes**) ou bien apportées par l'alimentation (**les antioxydants exogènes**). Chaque antioxydant a une localisation bien spécifique et cible des radicaux libres particuliers.

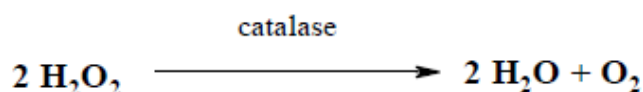
### I-1.3.2 Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge [36].

- Les superoxyde-dismutases (SOD) sont des enzymes qui peuvent fonctionner uniquement en présence de zinc, de cuivre et de manganèse. Elles catalysent la dismutation de deux anions superoxydes en dioxygène et peroxyde d'hydrogène [37].

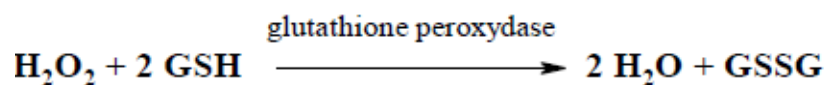


- Les catalases (CAT) sont des enzymes qui permettent d'éliminer les déchets issus des réactions d'oxydation (peroxyde d'hydrogène en particulier) [36].



- Les glutathion-peroxydases (POX) sont constituées d'acides aminés (la glutamine, la cystéine et la glycine) que l'on trouve dans les protéines animales ou végétales. Ces trois acides aminés sont indispensables à la synthèse de glutathion qui contribue au bon

fonctionnement du système de défense antiradicalaire. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{O}_2$ .



- Les peroxyredoxines (PRX), aussi appelées thiorédoxines peroxydases, sont des peroxydases non hémiques contenant un résidu cystéine au niveau de leur site catalytique. Les PRX sont des éléments essentiels du système de détoxification des espèces réactives de l'oxygène.

### I.1.3.3 Les antioxydants exogènes

Ils sont présents dans l'alimentation tels que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes anti-oxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse (**Tab I-4**).

Ces antioxydants nutritionnels sont indispensables mais leur action est limitée jusqu'à ce qu'ils soient régénérés.

**Tableau I-4.** Exemples d'antioxydants retrouvés dans les aliments.

<b>Antioxydant</b>	<b>Protège</b>	<b>contre Sources</b>
<i>Vitamine C</i>	Les maladies cardiovasculaires, les cataractes, et certains types de cancer	Agrumes, tomate, melon, fraise, kiwi, poivron, brocoli
<i>Vitamine E</i>	Les maladies cardiaques et cancer de la prostate, ralentit la maladie d'Alzheimer	Noix et graines, huiles, fruits et légumes
<i>Flavonoïdes</i>	Cancer	mûre, cassis, prune, raisin, Bleuet, cerise, canneberge
<i>Sélénium</i>	Réduction de l'incidence des cancers de la prostate, du côlon et du poumon	Céréales complètes, noix, oignon, ail, volaille, viande

## **I-1.4 Les métaux lourds dans les plantes**

### **I-1.4.1 Composition interne de la plante**

L'analyse chimique des plantes a montré qu'exception faite des molécules d'eau et des ions minéraux, toutes les substances qui les constituent sont des composés de carbone. Ce sont les substances organiques qui sont souvent identifiées par les criblages phytochimiques, alors que la composition minérale et particulièrement les métaux lourds ne sont pas pris en considération et donc ne sont pas très étudiés.

### **I-1.4.2 Définition des métaux lourds**

On appelle en général métaux lourds les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumétrique élevée supérieure à  $5 \text{ g/cm}^3$ . On trouve dans certaines publications anciennes l'appellation de « métal pesant ». L'appellation métaux lourds est cependant une appellation courante qui n'a ni fondement scientifique, ni appellation juridique. Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents « en traces ». Ils sont aussi « la trace » du passé géologique et de l'activité de l'homme.

## I-2 Identification botanique des plantes étudiées

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

### I-2.1 *Marrubium vulgare* L.

Le genre *Marrubium* appartient à la famille des lamiacées, comprenant plus de 30 espèces différentes largement distribuées dans les régions d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie [38].

#### I-2.1.1 Noms de la plante

*En Arabe* : Algérie : Marrioua [39].

Maroc : Merrîwt [40].

Tunis : Marroubia [41].

*En français* : Marrube blanche.

*En Anglais* : Harehound.

*En Italien* : Marrubbio [42].



**Figure II-1.** *Marrubium vulgare* L

#### I-2.1.2 Classification botanique :

<b>Règne :</b>	Végétale
<b>Sous règne :</b>	Plantes vasculaire
<b>Embranchement :</b>	Spermatophytes
<b>Division :</b>	Magnoliophytes
<b>Classe :</b>	Magnolipsides
<b>Sous classe :</b>	Astérides
<b>Ordre :</b>	Lamiales
<b>Famille :</b>	Lamiacées
<b>Genre :</b>	<i>Marrubium</i>
<b>Espèce :</b>	<i>vulgare</i>
<b>Nom binomial :</b>	<i>Marrubium vulgare</i>

### **I-2.1.3 Description morphologique**

Le marrube blanc est une plante herbacée vivace pouvant atteindre 80 cm de hauteur, à tige quadrangulaire cotonneuse. Les feuilles pétiolées, ovales ou arrondies, à limbe crénelé sur les bords sont blanchâtres et duveteux sur la face inférieure. Les fleurs petites, blanches, avec un calice à dents crochues sont groupées en verticilles globuleux à l'aisselle des feuilles. Le fruit est un tétra-akène. Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre (qui irrite les organes du goût et de l'odorat) et amère [43].

### **I-2.1.4 Répartition géographique**

Cette plante est commune dans toute l'Algérie et presque dans toute l'Europe en dehors de l'extrême Nord, Australie et New Zélande [44]. Elle se trouve aussi au Maroc et en Tunisie, surtout en région méditerranéenne [45].

### **I-2.1.5 Utilisations traditionnelle de la plante**

Le marrube blanc est prescrit dans le traitement des difficultés respiratoires, des bronchites, des bronchectasies, des bronchites asthmatiformes des toux sèches et de la coqueluche. Il fluidifie les mucosités. La décoction est employée comme antidiabétique [46]. Le *Marrubium vulgare* est indiqué pour les dermatoses, eczéma chronique, hystérie [47].

### **I-2.1.6 Toxicité**

C'est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s'il y a une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissements ou encore en cas de dyspepsie [43].

### **I-2.1.7 Composition chimique**

La partie aérienne du marrube blanc contient plusieurs métabolites secondaires tels que les diterpènes dont la marrubine responsable de la majorité des propriétés biologiques du *Marrubium vulgare*, les flavonoïdes (apigénine et lutéoline), ainsi que plusieurs phénylpropanoïdes esters tels que les verbascosides

## **I-2.2 *Laurus nobilis* L**

### **I-2.2.1 Généralités**

*Laurus nobilis* L., membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces [48]. *Laurus*, nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante [49].

Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antique grec et romain [50].

Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications [51].

### I-2.2.2 Noms de laurier

*En français* : laurier sauce, laurier d'apollon, laurier commun, laurier franc, laurier noble.

*En allemand* : Lorbeersamen, lorbeer, lorbeerbaum, gewürzlorbeer .

*En anglais* : laurel oil, bay tree, bay, bay laurel, true laurel, roman laurel, noble laurel.

*En italien* : olio di alloro.

*En portugais* : louro.

*En arabe* : rand, habb r'ar

*Nom targui ou berbère* : taselt, rend.

### I-2.2.3 Répartition géographique de la plante

Originnaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment [52]. Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc. L'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux [48,50].

### I-2.2.4 Classification botanique

La systématique de la plante est comme suit :

<b>Règne :</b>	Plantes
<b>Sous règne :</b>	Plantes vasculaires
<b>Embranchement :</b>	Spermatophytes
<b>Sous embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe :</b>	Dialypétales
<b>Ordre :</b>	Laurales
<b>Famille :</b>	Lauracées
<b>Genre :</b>	<i>Laurus</i>
<b>Espèce :</b>	<i>nobilis</i> .
<b>Nom binomial :</b>	<i>Laurus nobilis</i>

### I-2.2.5 Description botanique de la plante

Le laurier est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps. L'écorce est noire à gris foncé et lisse. Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4cm [53].



### I-2.2.6 Composition chimique

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *L. nobilis* et plusieurs ont prouvé la richesse de ses feuilles en substances actives. Par hydrodistillation les feuilles fournissent environ 10-30 mL/kg (1-3%) d'huile essentielle [28,50]. dont les constituants majoritaires inclut : cinéol,  $\alpha$  et  $\beta$  pinène, sabinène, linalol, eugénol, terpinéol, plus d'autres esters et terpénoides, mais dont les proportions varient selon l'origine géographique [50,52].

Les feuilles de *L. nobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol) [55], sesquiterpènes lactones, alcaloïdes d'isoquinoline [56,57]. En plus ces études ont montré la richesse de ses feuilles en vitamine E.

### I-2.2.7 Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis*

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce,...) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant [57], le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence [52].

L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac [55].

L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales [54]. En outre, l'huile essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants [50].

Actuellement, plusieurs études ont démontré que l'extrait méthanoïque des fruits et des feuilles possède une activité oxydante remarquable contre la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes.

## *Chapitre II*

---

### **Matériels et Méthodes**

## Chapitre II : Matériels et Méthodes

### II-1 Matériel végétal

Le matériel végétal de notre étude est constitué des parties aériennes : feuilles et tiges d'une part et d'autre part une partie souterraine : les racines de deux plantes médicinales : *Marrubium vulgare* L et *Laurus nobilis* L (**Fig II-1** et **Fig II-2**).



**Figure II-1.** Photo de *Marrubium vulgare* L



**Figure II-2.** Photo de *Laurus nobilis* L

### II-2 Période de récolte de nos plantes

Les deux plantes ont été récoltées localement au niveau de la région nommée Ain El Hadjar dans la période Février - Mars 2015 à Saida (**Fig II-3**, **Tab II-4**).

L'identification botanique des deux espèces a été faite à Tlemcen au laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels (*LEGEN*) et confirmée par le professeur Bennabadji (Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen - *UABBT*).



**Figure II-3.** Carte géographique de l'endroit de notre récolte

**Tableau II-1.** Caractéristiques géographiques et bioclimatiques de Saida et Ain El Hadjar

Station	Ain El Hadjar	Saida
Etage bioclimatique	Semi-aride sec et froid	Semi-aride sec et froid
Altitude en (m)	1014	869
Latitude nord	34,58°	34,83°
Longitude ouest	0,14°	0,15°
Pluviométrie (mm/an)	339	348
Superficie (Km <sup>2</sup> )	417,3	6765

### II-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 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.

### II-4 Détermination de la teneur en eau (humidité)

#### II-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 [58].

#### 4.2. Démarches suivies

- sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  ;
- laisser refroidir dans un dessiccateur ;
- peser dans chaque capsule préalablement tarée 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).

### 4.3 Expression des résultats

$$H (\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100$$

*Avec :*

**H %** : teneur en eau ou humidité.

**M<sub>1</sub>** : la masse initiale en g : matière fraîche +capsule avant dessiccation.

**M<sub>2</sub>** : la masse finale en g : matière sèche +capsule après dessiccation.

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

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

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

## II-5 Détermination de la teneur en cendres

### II-5.1 Principe

La détermination de la teneur en cendres est basée sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de la température élevée qui est de 500° C [59].

### II-5.2 Mode opératoire

- Peser 1g de matière sèche dans un creuset préalablement tarée ;
- Répéter l'opération 6 fois pour chaque partie de la plante ;
- Mettre les capsules au four à la température de 500° C pendant 5 à 6 heures ;
- Après refroidissement retirer les creusets et prendre leurs poids.

### II-5.3 Expression des résultats

$$CT (\%) = \frac{PF - PV}{PE} \times 100$$

*Avec :*

**CT** : cendres totales (%).

**PV** : poids vide du creuset (g).

**PE** : poids de la prise d'essai (g).

**PF** : poids final du creuset (g) après calcination au four.

Le pourcentage en matière organique **MO%** a été calculé comme suit :

$$\text{MO \%} = 100 - \text{CT \%}$$

## II-6 Détermination du pH

### II-6.1 Mode opératoire

Détermination en unité pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans une solution aqueuse des feuilles, tiges et racines broyées par un rapport 1/5 (masse de prise d'essai en g /volume d'eau en mL) [60]. La mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre.

## II-7 Examen ou test phytochimique

Examen phytochimique consiste à détecter les différents groupes de composés chimiques, à savoir : stérols, stéroïdes, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponosides, ...etc. contenus dans les différents extraits. Leur révélation a été fait selon les méthodes décrites par [61] et [62]. Les tests de révélation de ces groupes de familles chimiques ont été réalisés dans des tubes à essais et les résultats sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et/ou de précipitation.

La traduction du résultat de chaque test a été évaluée comme suit :

- réaction positive : + (présence)
- réaction négative : - (absence)

Dans notre cas, toutes les parties (feuilles, tiges et racine) de deux plantes choisies ont été soumises aux tests phytochimiques. Au cours de ces derniers, trois solvants d'extraction de polarités différentes (eau, éther diéthylique et l'éthanol) sont employés.

Après chaque extraction, nous avons calculé le rendement de chaque résidu obtenu selon la formule suivante :

$$\text{R (\%)} = \frac{\text{M}}{\text{M}_0} \times 100$$

**R** : Rendement exprimé en %.

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant après évaporation du solvant.

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

### II-7.1 Produit végétal épuisé avec l'éthanol

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, mettre 50g de matériel végétal en présence de 300 ml d'éthanol. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange, ensuite soumettre l'extrait éthanolique aux tests suivants :

#### a/ Alcaloïdes sels

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  $\text{NH}_4\text{OH}$  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.

#### b/ Flavonoïdes

Traiter 5 ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0,5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3 mn.

#### c/ Tanins

1 mL de solution alcoolique, ajouter 2 mL d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de  $\text{FeCl}_3$  diluée. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue - noire, verte ou bleue - verte et un précipité, selon que les tanins sont cathéchiques, galliques ou ellagiques.

#### d/ Composés réducteurs

Deux essais ont été réalisés :

➤ Traiter 1 mL de l'extrait éthanolique 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 éthanolique 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.

#### **e/ 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.

#### **f/ 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  $\text{NH}_4\text{OH}$  (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.

#### **g/ 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.

#### **h/ 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.

### **II.7.2 Produit végétal épuisé avec de l'eau à chaud**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 50g de racine en présence de 300 ml d'eau. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et soumettre l'extrait aqueux aux tests suivants :

#### **a. 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.

#### **b. 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 classer la teneur en saponosides :

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

#### **c/ Anthraquinones**

Bouillir 1g d'échantillon de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 mL de KOH 0.5N auxquelles est ajouté 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.

#### **d/ Ergolines**

Traiter 5 mL de la solution aqueuse avec la réaction de Van-Urk. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue.

### **e/ Polyuronides**

Ajouter à 2 mL de la solution aqueuse, 10 mL d'éthanol et 4 à 5 gouttes d'hématoxiline. L'obtention d'un précipité violet note la présence des polyuronides.

### **II-7.3 Produit végétal épuisé avec l'éther diéthylique**

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant à reflux, mettre 50g en présence de 300 ml d'éther diéthylique. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et le soumettre aux différents tests suivants :

#### **a/ Huiles volatiles**

Evaporer 20 mL de solution étherique. Le résidu ainsi obtenu est dissout dans l'éthanol. La solution éthanolique obtenue est ensuite concentrée à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu arôme.

Concernant le résidu gras, ce dernier est saponifié, à la fin de la réaction ajouter un peu d'eau et extraire la solution avec l'éther diéthylique.

#### **b/ Acides gras**

Acidifier la solution aqueuse alcaline, puis l'extraire avec l'éther diéthylique. La solution étherique est ensuite concentrée à sec. Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

#### **c/ Stérols et Stéroïdes**

Concentrer la solution étherique insaponifiable à sec. Traiter le résidu obtenu avec la réaction de Liebermann Burchardt. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration verte-violette ou verte-bleue.

#### **d/ Alcaloïdes bases**

Evaporer 10 ml de la solution étherique. Dissoudre le résidu obtenu dans 1.5 mL de HCl 2%. Ajouter à la solution aqueuse alcaline 1 à 2 gouttes du réactif de **Mayer**. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases.

#### **e/ Emodols**

Evaporer 3 mL de l'extrait étherique. Dissoudre le résidu dans 1 mL de NH<sub>4</sub>OH concentré. Ensuite traiter la solution avec la réaction de Bornträger. Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé-rouge au violet pourpre.

## II-7.4 Réactifs de caractérisation

### a/ Alcaloïdes

➤ **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1,358g de  $\text{HgCl}_2$  dans 60 mL d'eau. Dissoudre 5g 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.

➤ **Réactif de Wagner** : Dissoudre 2g de KI et 1,27g d' $\text{I}_2$  dans 75 mL d'eau. Ajuster le volume total à 100 mL d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

### b/ 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 30mn 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 tritèrpéniques respectivement des colorations verte -bleue et verte -violette.

### c/ Anthraquinones, anthracénosides et émodols

➤ **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.

### d/ Composés réducteurs

➤ 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.

➤ **réaction de Keller- Killiani** : l'addition de 5 mL d'acide sulfurique concentré contenant des traces de sels ferriques à 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.

### e/ Amidon

➤ **Réactif d'amidon** : Dissoudre 1,2g d'iode dans 50mL d'eau distillée contenant 2,5g d'iodure de potassium. Chauffer pendant 5mn. Diluer jusqu'à 500mL. Chauffer 5mL de la solution à tester avec 10mL 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.

## II-8 Analyse quantitative des composés phénoliques

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 Rossi [63] en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (F-C).

### II-8.1 Principe

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits, fractions et sous-fractions sont déterminées au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu [63]. 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.



Formule du réactif hétéropolyanionmolybdotungstophosphorique [63].

### II.8.2 Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en phénols totaux des extraits éthanoliques et aqueux des plantes qui font l'objet d'analyse a été déterminée par la méthode décrite par **Singleton et coll [63]**. Une quantité de 200 microlitres 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 %.

### II.8.3 Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

Une gamme de 9 concentrations d'acide gallique allant de 0 à 0.17  $mg \cdot mL^{-1}$  a été préparée à partir d'une solution mère de 0,2  $mg/mL$  de concentration

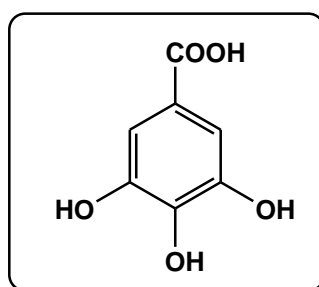


Figure II-5. Structure de l'acide gallique

### II-8.4 Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec ou matière sèche (mg EAG/g de Ms) de la plante en poudre en appliquant la formule suivante :

$$T = \frac{A \cdot V}{K \cdot P} \times D$$

**T** : La teneur en phénols totaux (mg EA gallique/g de Ms).

**p** : Le poids de la matière sèche en g.

**A** : l'absorbance à  $\lambda = 765$  nm.

**K** : tangente de l'acide gallique en nm.mL/mg.

**D** : facteur de dilution.

**V** : volume de récupération de l'extrait en mL.

**P** : le poids initial de la plante en g.

### II-9 Activité anti-radicalaire contre le radical libre DPPH

#### II-9.1 Principe de la méthode

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure - activité antioxydant des composés phénoliques [64,65]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Fig II-6).

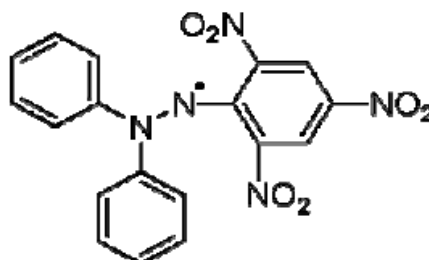
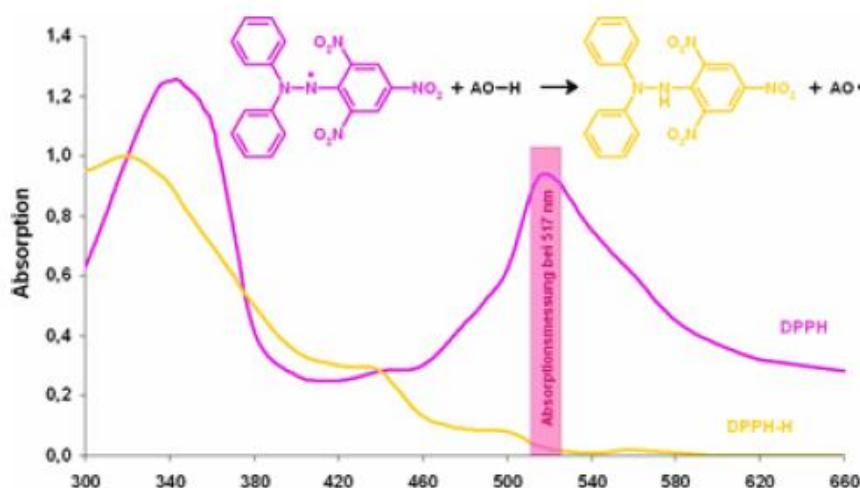


Figure II-6. Structure chimique du radical libre DPPH<sup>\*</sup>  
(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH<sup>•</sup> reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH<sup>•</sup>. 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<sup>•</sup>, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (Fig II-7).

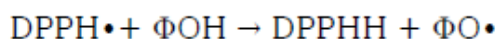


**Figure II-7.** Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive [66].

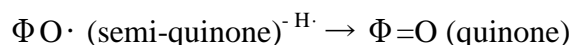
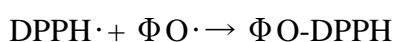
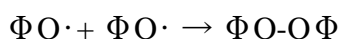
Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes :

- (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) [66].

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<sup>•</sup> alors transformé en une molécule stable DPPHH [67] :



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



### II-9.2 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 fractions utilisées

### II-9.3 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 [67].

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

$$EAR = 1/IC_{50} \quad [67]$$

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

### II-9.4 Méthode mise en oeuvre selon Sanchez-Moreno et coll [68]

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 méthanolique 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  $\lambda_{max}$  515 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

### II-9.5 Expression des résultats

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

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

**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 [69].

*Nos résultats ont été exprimés en tenant compte de la moyenne de deux mesures obtenues.*

## II-10 Minéralisation

### II-10.1 Première étape : pré-minéralisation (ou calcination)

L'étape de calcination permet d'oxyder les matières organiques et constitue une pré-minéralisation de l'échantillon, favorisant la mise en solution des éléments traces métallique. Cette étape est indispensable pour les laboratoires qui réalisent la mise en solution totale des ETM par les acides (mélange d'acide chlorhydrique HCl et nitrique HNO<sub>3</sub> dite l'eau régale et aussi fluorhydrique HF, eau oxygénée et/ou à l'acide nitrique).

#### II-10.1.1 Mode opératoire

On pèse dans une capsule de porcelaine 200 à 300 mg  $\pm$  0.1mg de poudre végétale. La capsule est placée dans un four à moufle. Les meilleurs résultats sont obtenus en gardant le four à 300°C jusqu'à ce que le carbone cesse d'être incandescent. La température du four est alors montée à 400-500°C. Le temps de minéralisation est variable, il dépend de la nature du matériel pour obtenir des cendres blanches friables. L'oxydation des dernières traces de matériel organique est alors réalisée en ajoutant 1 à 2 mL de HNO<sub>3</sub> (1N) après refroidissement de la capsule. On évapore à sec sur une plaque chauffante ou au bain de sable et on replace au four à 400°C pendant une heure.

#### II-10.1.2 Réactifs

La mise en solution totale des ETM nécessite l'utilisation d'acide forts concentrés comme l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique, l'acide fluorhydrique ainsi que l'eau oxygénée pour oxyder les matières organique. Ces réactifs permettent de « désagréger » les liaisons chimiques des constituants des végétaux et solubilisent ainsi les éléments sous forme libre qui deviennent alors facilement dosable par les techniques analytiques classiques.

### II-10.2 Deuxième étape : la mise en solution des métaux lourds

#### II-10.2.1 Méthode choisie

La mise en solution des éléments métallique dans un mélange d'acide chlorhydrique (HCl) et nitrique (HNO<sub>3</sub>) concentrés par un rapport de 3V/V, suivi par une ébullition sous un réfrigérant à reflux.

#### II-10.2.2 Démarches

La mise en solution en vue du dosages des métaux lourds a été réalisée par attaque acide d'une quantité de 1g  $\pm$  0,1mg d'échantillon de la plante par (10  $\pm$  0,1) mL d'eau régale (7,5  $\pm$  0,1mL de HCl de 37% (m/m), densité 1,19g.mL<sup>-1</sup>, Merck Supra pur max Hg 0,005 ppm et et 2,5  $\pm$  0,1mL HNO<sub>3</sub> de 65%(m/m),  $\rho$ =1,38g.mL<sup>-1</sup>, Merck Supra pur max Hg 0,005 ppm, par un



rapport volumique (3/1). En suite le tous est porté à l'ébullition sur une plaque chauffante pendant 3 heures par un système de chauffage fermé (en utilisant un chauffage à reflux). Après refroidissement, on filtre dans une fiole jaugée de  $(25 \pm 0,1)$  mL puis on complète avec de l'eau distillée au trait de jauge.

### II-10.3 Expression des résultats

Le dosage des éléments en traces métalliques de nos échantillons a été réalisé par la spectrométrie d'émission atomique (SSA). Les résultats obtenus ont été exprimés en ppm (mg du métal/kg de la matière sèche)

$$T = \frac{C \cdot V}{S} \times D$$

Où :

**T** : teneur de l'élément en mg/Kg (ou ppm)

**C** : concentration de l'élément en  $\text{mg.L}^{-1}$  (donnée par l'appareil après l'étalonnage).

**p** : poids de la prise de sol sec exprimé en Kg.

**V** : volume d'extraction (ou mise en solution) exprimé en mL ( $V= 25\text{mL}$ ).

**D** : facteur de dilution.

## *Chapitre III*

---

### **Résultats et Discussions**

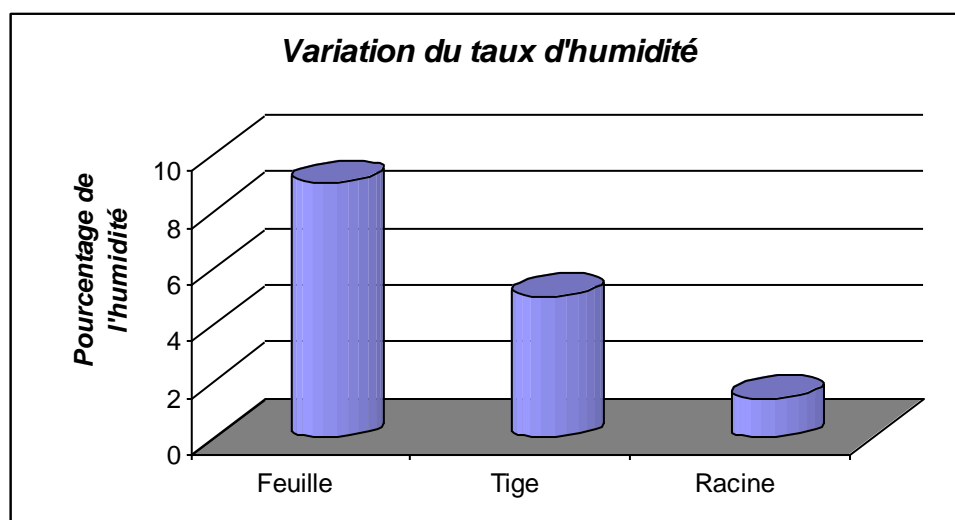
## Chapitre III- RESULTATS ET DISCUSSIONS

### III-1 Taux d'humidité ou teneur en eau (%)

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % [59]. Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans la poudre des feuilles 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 les tableaux III-1 et III-2 et représentés dans les figures III-1 et III-2.

**Tableau III-1.** Le taux d'humidité dans les différentes parties du *L. nobilis*..

Echantillon	P (g)	masse d'eau (g) : $M_1 - M_2$	H (%)	Humidité de Conservation	Normes[59]
Poudre des feuilles	2	0,18	9	8	< 10 %
Poudre des tiges	2	0,01	5	4,5	< 10 %
Poudre des racines	2	0,05	1,4	1,3	< 10 %



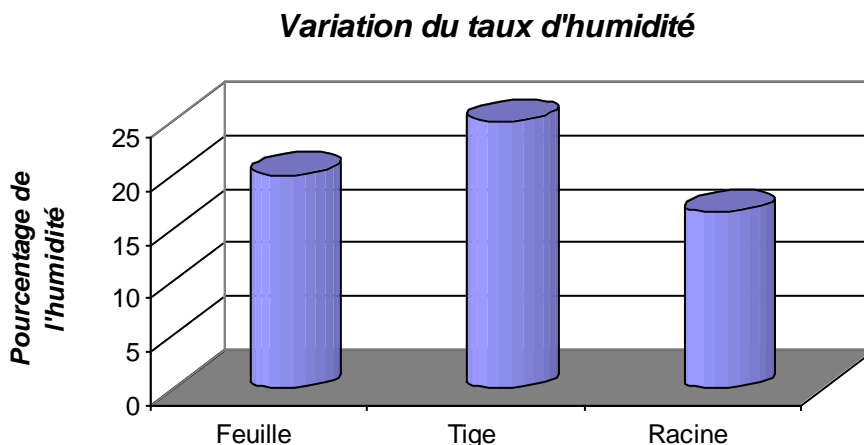
**Figure III-1.** Variation du taux d'humidité dans les différentes parties de *laurus nobilis* L.

Le résultat obtenu, montre que la poudre des feuilles, tiges et racines ont perdu presque : **9**, **5**, **1,4%** respectivement de leurs poids massique lors de la dessiccation. Les résultat sont tous inférieur à 10%, d'où on peut déduire que ces résultats sont conformes aux normes exigées par la pharmacopée européenne.

$$H (\%)_{\text{Feuille}} > H (\%)_{\text{Tige}} > H (\%)_{\text{Racine}}$$

**Tableau III-2.** Le taux d'humidité dans les différentes parties de *M. vulgare L.*

Echantillon	P (g)	masse d'eau (g) : $M_1 - M_2$	H (%)	H % de conservation	Normes
Poudre des feuilles	2	0,40	20	7,3	< 10 %
Poudre des tiges	2	1,50	25	9,2	< 10 %
Poudre des racines	2	1,67	16,5	6,8	< 10 %



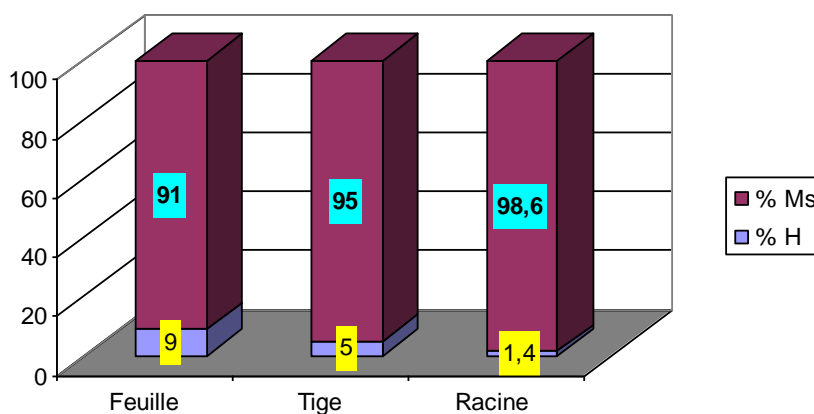
**Figure III-2.** Variation du taux d'humidité dans les différentes parties de *M. vulgare*.

Le résultat obtenu, montre que les poudre des feuilles, tiges et racines ont perdu presque : **20, 25, 16.5%** respectivement de leurs poids massique lors de la dessiccation. Les résultats sont tous inférieurs à 10%, d'où on peut déduire que ces résultats sont conformes aux normes exigées par la pharmacopée européenne [59].

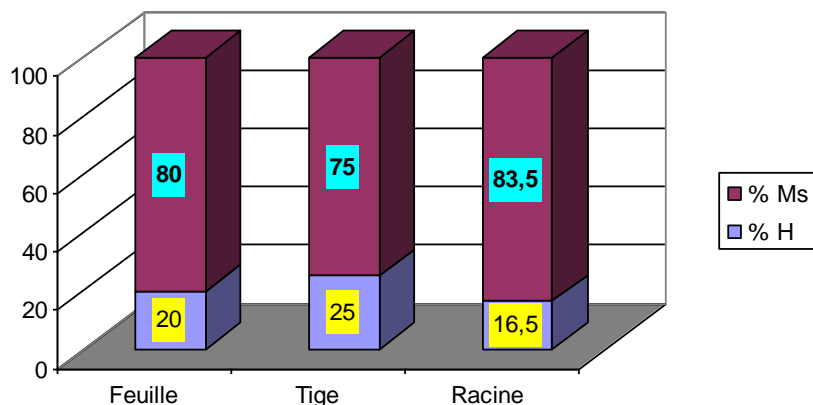
$$H (\%)_{Tiges} > H (\%)_{Feuilles} > H (\%)_{Racines}$$

### III-2 Matière sèche (Ms)

La matière sèche des organes est illustrée dans les histogrammes suivants.



**Figure III-3.** Histogramme illustrant la matière sèche des parties de *L. nobilis*.



**Figure III-4.** Histogramme illustrant la matière sèche des parties de *M. vulgare*.

à la lumière de ces résultats obtenus, on constate que la variation de la matière sèche dans les deux plantes est comme suit :

- *L. nobilis* : *Ms (racines)* > *Ms (tiges)* > *Ms (Feuilles)*
- *M. vulgare* : *Ms (racines)* > *Ms (Feuilles)* > *Ms (feuilles)*

### III-3 Le pH

Les valeurs obtenues des pH des extraits aqueux des parties étudiées sont regroupées dans les tableaux III-3 et III-4.

**Tableau III-3.** pH des différents extraits aqueux de *L. nobilis*.

<i>Paramètre</i>	<b>Organe</b>		
	<i>Feuilles</i>	<i>Tiges</i>	<i>Racines</i>
<b>pH</b>	<b>6,60</b>	<b>6,72</b>	<b>6,75</b>

**Tableau III-4.** pH des différents extraits aqueux de *M. vulagare*.

<i>Paramètre</i>	<b>Organe</b>		
	<i>Feuilles</i>	<i>Tiges</i>	<i>Racines</i>
<b>pH</b>	<b>6,45</b>	<b>6,62</b>	<b>6,70</b>

Les valeurs des pH obtenues pour les deux plantes médicinales sont légèrement acides à presque neutre comprises entre 6,60 et 6,75.

### III-4 Détermination de rendement d'extraction (R%)

Les rendements d'extraction ont été déterminés par la formule suivante :

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

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

**Tableau III-5.** Données opératoires des extractions effectuées sur les feuilles, les tiges et les racines de *L. nobilis*.

Partie utilisée	Masse (g)	solvant utilisé	Aspect de l'extrait	Masse de L'extrait (g)	Rendement (%)
Feuilles	20	Ether diéthylique	Visqueux	0,6	3,0
Feuilles	20	Ethanol	Visqueux	<b>3,00</b>	<b>15,0</b>
Feuilles	20	Eau	Visqueux	1,80	9,0
Tiges	20	Ether diéthylique	Visqueux	0,60	3,0
Tiges	20	Ethanol	Visqueux	1,50	7,5
Tiges	20	Eau	Visqueux	<b>2,40</b>	<b>12,0</b>
Racines	20	Ether diéthylique	Visqueux	0,3	1,5
Racines	20	Ethanol	Visqueux	<b>0,90</b>	<b>4,5</b>
Racines	20	Eau	visqueux	<b>0,90</b>	<b>4,5</b>

**Tableau III-6.** Données opératoires des extractions effectuées sur les feuilles, les tiges et les racines de *M. vulgare L.*

Partie utilisée	Masse (g)	solvant utilisé	Aspect de l'extrait	Masse de L'extrait (g)	Rendement (%)
Feuilles	20	Ether diéthylique	Visqueux	<b>3,00</b>	<b>15</b>
Feuilles	20	Ethanol	Visqueux	1,2	6,0
Feuilles	20	Eau	Visqueux	2,7	13,5
Tiges	20	Ether diéthylique	Visqueux	0,6	3,0
Tiges	20	Ethanol	Visqueux	0,3	1,5
Tiges	20	Eau	Visqueux	<b>1,8</b>	<b>9,0</b>
Racines	20	Ether diéthylique	Visqueux	0,6	3,0
Racines	20	Ethanol	Visqueux	<b>1,2</b>	<b>6,0</b>
Racines	20	Eau	visqueux	0,6	3,0

Les rendements d'extraction les plus élevés qui ont été obtenus sont : L'extrait éthanolique des feuilles (**15%**) suivi par l'extrait aqueux des tiges pour *M. vulgare*. Tandis que pour *L. nobilis*, c'est l'extrait éthérique des feuilles (**15%**) qui a prédominé les autres extraits dans les autres parties.

### III-5. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits des feuilles, des tiges et des racines de *L. nobilis* et *M. vulgare* respectivement, préparés dans différents solvants (eau, éthanol et éther diéthylique) par une seule mode de préparation (décoction). Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous.

#### III-5.1 Résultats des tests phytochimiques des extraits aqueux

**Tableau III-7.**Résultats de la recherche des saponosides.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Saponosides</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+++	++
	<b><i>Tige</i></b>	+++	++
	<b><i>Racines</i></b>	+++	++

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

**Tableau III-8.**Résultats de la recherche des amidons.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Amidon</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	-	+
	<b><i>Tiges</i></b>	-	+
	<b><i>Racines</i></b>	-	+

**Tableau III-9.**Résultats de la recherche des anthraquinones libres.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Anthraquinone libre</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	-	-
	<b><i>Tige</i></b>	-	-
	<b><i>Racines</i></b>	-	-

**Tableau III-10.**Résultats de la recherche des tanins

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Tanins</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+	+
	<b><i>Tiges</i></b>	+	+
	<b><i>Racines</i></b>	+	+

#### III-5.2 Résultats des tests phytochimiques des extraits éthanoliques

**Tableau III-11.**Résultats de la recherche des alcaloïdes sels.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Alcaloïde sel</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+++	-
	<b><i>Tige</i></b>	++	-
	<b><i>Racines</i></b>	++	-

**Tableau III-12.**Résultats de la recherche des flavonoïdes

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Flavonoïdes</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+++	++
	<b><i>Tiges</i></b>	++	+
	<b><i>Racines</i></b>	+	+

**Tableau III-13.**Résultats de la recherche des tanins

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Tanins catéchiques /galliques</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+++ / +	++ / -
	<b><i>Tiges</i></b>	++ / +	+ / -
	<b><i>Racines</i></b>	+ / +	+ / -

N.B : (-) absent

**Tableau III-14.**Résultats de la recherche des composés réducteurs.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Composés réducteurs</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+++	+++
	<b><i>Tiges</i></b>	+++	+
	<b><i>Racines</i></b>	+	+

**Tableau III-15.**Résultats de la recherche des coumarines.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Coumarine</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	++	++
	<b><i>Tiges</i></b>	+	++
	<b><i>Racines</i></b>	++	++

**Tableau III-16.**Résultats de la recherche des stérols et stéroïdes

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Stérols et stéroïdes</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+	++
	<b><i>Tiges</i></b>	+	++
	<b><i>Racines</i></b>	+	++

**III-5.3 Résultats des tests phytochimiques des extraits étheriques****Tableau III-17.**Résultats de la recherche des acides gras.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Acides gras</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	+++	-
	<b><i>Tiges</i></b>	++	-
	<b><i>Racines</i></b>	+	-

**Tableau III-18.**Résultats de la recherche des alcaloïdes bases.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Alcaloïde base</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	-	+
	<b><i>Tiges</i></b>	-	+
	<b><i>Racines</i></b>	-	+



**Tableau III-19.** Résultats de la recherche des Emodols.

Famille chimique	Partie unitaire	<i>Laurus nobilis L</i>	<i>Marrubium vulgareL</i>
<b>Emodols</b>	<b><i>Feuilles</i></b>	-	+
	<b><i>Tiges</i></b>	-	+
	<b><i>Racines</i></b>	-	+

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire à savoir : les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les composés réducteurs, les coumarines, les stérols et stéroïdes et les saponosides dans les deux plantes étudiées. Tandis que les amidons et les émodols sont seulement présents dans *Marrubium vulgareL* et les acides gras dans *Laurus nobilis L*.

Par contre, les tests des anthraquinones libres sont marqués négatif dans les différentes préparations. De même, nous avons enregistré que l'extrait éthéré est très pauvre en métabolites secondaires.

### **III-6 Dosage des composés phénoliques**

Les teneurs en composés phénoliques obtenues à partir des extraits éthanoliques et aqueux ont été estimées grâce à une courbe d'étalonnage (**Fig III-5**), réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique à différentes concentrations.

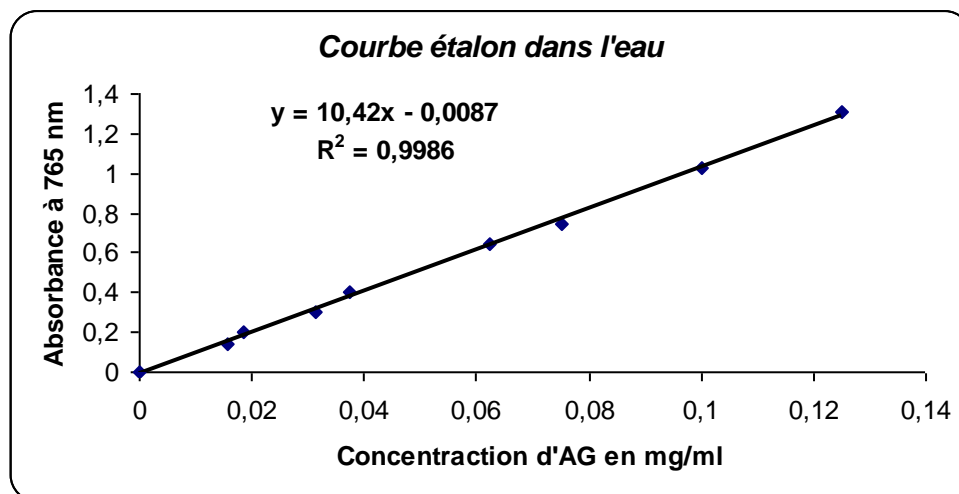
Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g de Ms).

#### **III-6.1 La courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

La gamme de concentrations d'acide gallique utilisée pour le dosage des phénols totaux dans les deux extraits (éthanolique et aqueux) ainsi que les absorbances respectives mesurées à 765nm sont représentés dans les tableaux **III-20** et **III-21**.

**Tableau III-20.** Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique dans l'eau

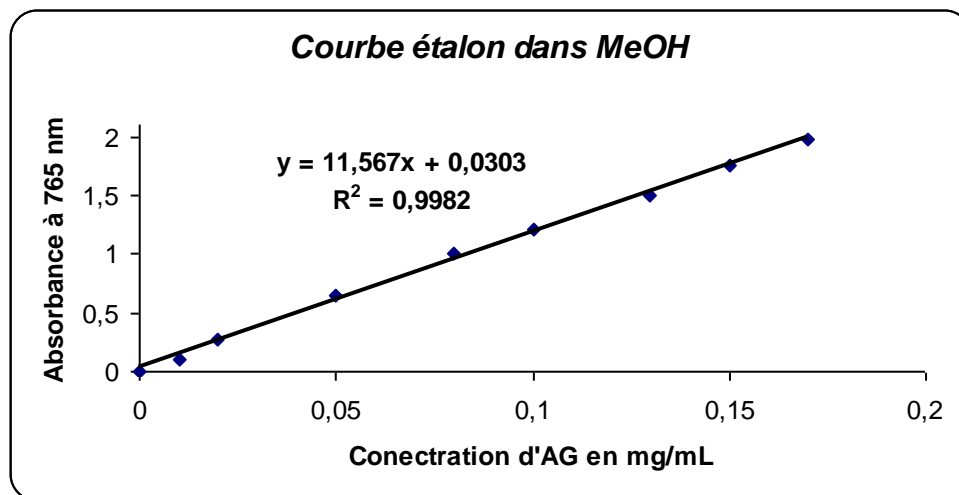
<b>Concentration en (mg/mL)</b>	<b>0,00</b>	<b>0,0156</b>	<b>0,0187</b>	<b>0,0312</b>	<b>0,0375</b>	<b>0,0625</b>	<b>0,075</b>	<b>0,1</b>	<b>0,125</b>
<b>Absorbance à 765 nm</b>	<b>0,00</b>	<b>0,122</b>	<b>0,203</b>	<b>0,313</b>	<b>0,398</b>	<b>0,644</b>	<b>0,726</b>	<b>1,025</b>	<b>1,38</b>
	<b>0,00</b>	<b>0,159</b>	<b>0,202</b>	<b>0,308</b>	<b>0,401</b>	<b>0,644</b>	<b>0,764</b>	<b>1,036</b>	<b>1,24</b>
<b>Moyenne de l'absorbance</b>	<b>0,00</b>	<b>0,140</b>	<b>0,203</b>	<b>0,311</b>	<b>0,400</b>	<b>0,644</b>	<b>0,745</b>	<b>1,031</b>	<b>1,310</b>



**Figure III-5.** Courbe d'étalonnage des composés phénoliques solubles totaux extraits par l'eau

**Tableau III-21.** Absorbances de la gamme de concentrations d'acide gallique dans le MeOH.

Concentration en (mg/mL)	0,00	0,01	0,02	0,05	0,08	0,10	0,13	0,15	0,17
Absorbance à 765 nm	0,00	0,113	0,270	0,640	1,008	1,200	1,519	1,890	1,948
	0,00	0,108	0,274	0,648	1,006	1,216	1,501	1,632	1,998
Moyenne de l'absorbance	0,000	0,110	0,272	0,644	1,007	1,208	1,510	1,761	1,973



**Figure III-6.** Courbe d'étalonnage des composés phénoliques solubles totaux extraits par l'éthanol

### III-6.2 Teneur en composés phénoliques totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g Ms) et déterminé par l'équation de type :

- $y = 10,42x - 0,087$  ( $R^2 = 0,9986$ ) (**Fig III-5**) pour l'extrait aqueux ;
- $y = 11,567x - 0,0303$  ( $R^2 = 0,9982$ ) (**Fig III-6**) pour l'extrait éthanolique.

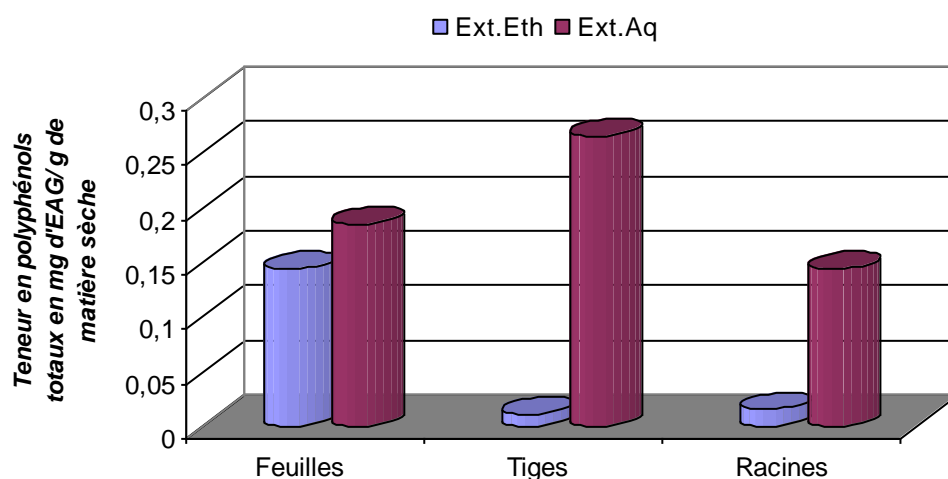
Les différentes absorbances des extraits éthanoliques (Ext.Eth) et aqueux (Ext.Aq) qui ont été dosées par le spectrophotomètre à  $\lambda = 765$  nm sont répertoriés dans les tableaux **III-23** et **III-24**.

**Tableau III-22.** Résultats de dosage des composés phénoliques totaux extraits par l'éthanol.

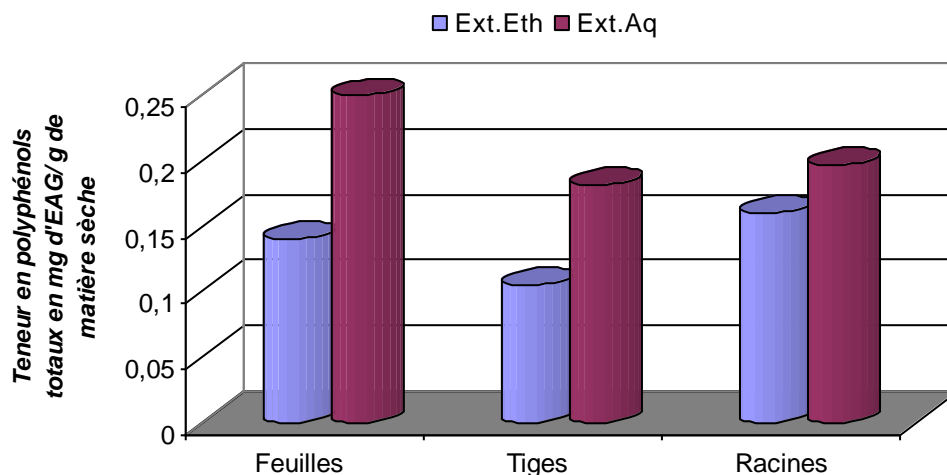
Extrait éthanolique	Absorbance	[C] : mg/mL	Teneur : mg EAG/g Ms
<b>L. nobilis</b>			
Feuilles	<b>0,221</b>	<b>0,016</b>	<b>0,143</b>
Tiges	0,017	0,007	0,011
Racines	0,023	0,008	0,015
<b>M. vulgare</b>			
Feuilles	0,214	0,016	0,139
Tiges	0,161	0,011	0,104
Racines	<b>0,245</b>	<b>0,019</b>	<b>0,159</b>

**Tableau III-23.** Résultats de dosage des composés phénoliques totaux extraits par l'eau.

Extrait aqueux	Absorbance	[C] : mg/mL	Teneur : mg EAG/g Ms
<b>L. nobilis</b>			
Feuilles	0,256	0,024	0,184
Tiges	<b>0,367</b>	<b>0,034</b>	<b>0,264</b>
Racines	0,198	0,018	0,143
<b>M. vulgare</b>			
Feuilles	<b>0,345</b>	<b>0,034</b>	<b>0,248</b>
Tiges	0,250	0,025	0,180
Racines	0,271	0,027	0,195



**Figure III-7.** Teneurs en composés phénoliques des feuilles, des tiges et des racines de *L. nobilis* extraits par l'eau et par l'éthanol.



**Figure III-8.** Teneurs en composés phénoliques des feuilles, des tiges et des racines de *M. vulgare* extraits par l'eau et par l'éthanol.

Les teneurs en polyphénols totaux (**Fig III-7 et III-8**) des extraits éthanoliques **EF**, **ET** et **ER** de deux plants étudiées sont relativement faibles par rapport aux extraits aqueux **EAF**, **EAT**, **EARa**. Il paraît clairement que l'eau chaude est le solvant qui permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux plus élevé.

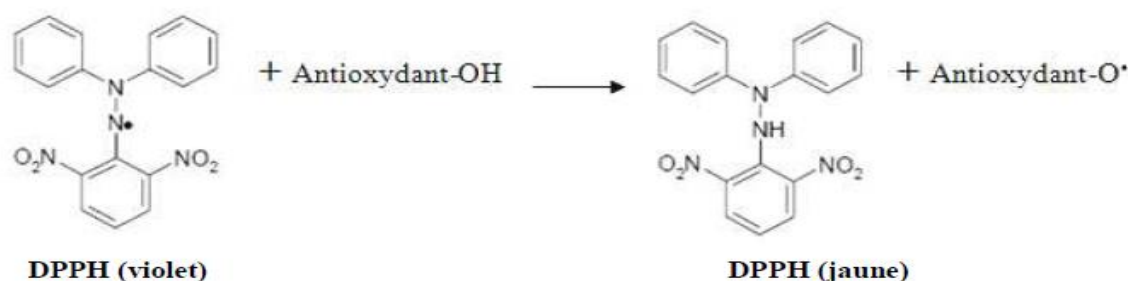
Les concentrations des différents extraits ont été déterminées graphiquement en référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique indiqué dans les figures **III-5** et **III-6**. Les résultats sont indiqués dans les **tableaux III-22** et **III-23**.

Les deux espèces *M. vulgare* et *L. nobilis* ont des teneurs en phénols totaux assez proches dans les extraits aqueux, tandis que pour les extraits éthanoliques des tiges et des racines, on constate que les teneurs sont supérieures d'environ 10% dans *M. vulgare* que dans *L. nobilis*.

### III-7 Evaluation du pouvoir antioxydant contre le DPPH

La mise en évidence du pouvoir antioxydant (ou l'activité antioxydante) des extraits des plantes a été réalisée par une techniques chimiques 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 [66]. Il possède un électron non apparié 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 (**Fig III-9**).



**Figure III-9.** 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 III-10, III-11 et III-12**, 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>).

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

### III-7.1 Pouvoir d'inhibition (PI) par l'acide ascorbique contre DPPH

Tableau III-24. Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'acide ascorbique.

Concentration De l'extrait (mg/mL)	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0217	0,015
Absorbance à 515 nm	0,047	0,110	0,352	0,483	0,542	0,571	0,571
	0,053	0,097	0,371	0,498	0,568	0,579	0,594
Moyenne de l'absorbance	0,050	0,104	0,362	0,491	0,555	0,575	0,589
% d' inhibition de DPPH	92,68	84,84	47,13	28,27	18,83	15,96	13,94

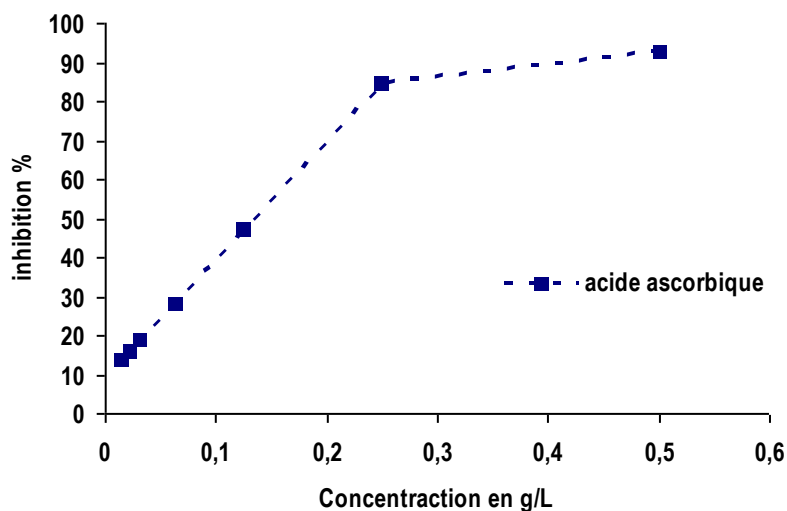


Figure III- 10. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.

### III-7.2 Laurus nobilis L

Tableau III-25. Absorbances et pourcentages d'inhibition de DPPH de l'extrait éthanolique des feuilles de *L. nobilis*

Concentration De l'extrait (mg/mL)	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0217	0,0156
Absorbance à 515 nm	0,105	0,215	0,354	0,438	0,510	0,531	0,561
	0,125	0,241	0,356	0,440	0,516	0,525	0,563
Moyenne de l'absorbance	0,115	0,228	0,355	0,439	0,513	0,528	0,562
% d' inhibition de DPPH	83,19	66,67	48,10	35,82	25,00	22,81	17,84

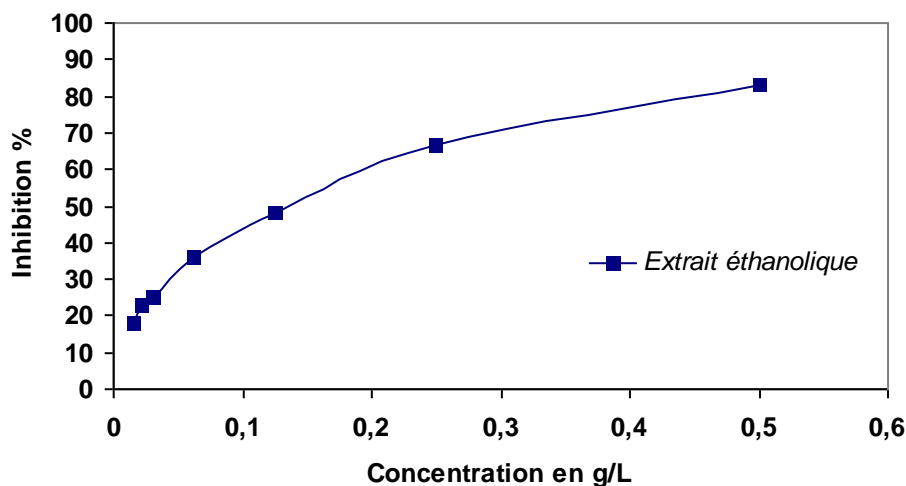


Figure III-11. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut éthanolique des feuilles de *L. nobilis*

III-7.3 Marrubium Vulgare L

Tableau III-26. Absorbances et pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait éthanolique des feuilles de *M. Vulgare*

Concentration De l'extrait (mg/mL)	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0217	0,0156
Absorbance à 515 nm	0,099	0,312	0,310	0,325	0,350	0,350	0,362
	0,085	0,310	0,300	0,320	0,355	0,372	0,400
Moyenne de l'absorbance	0,092	0,311	0,305	0,322	0,352	0,361	0,381
% d' inhibition de DPPH	86,84	54,53	55,41	52,92	48,54	47,22	44,30

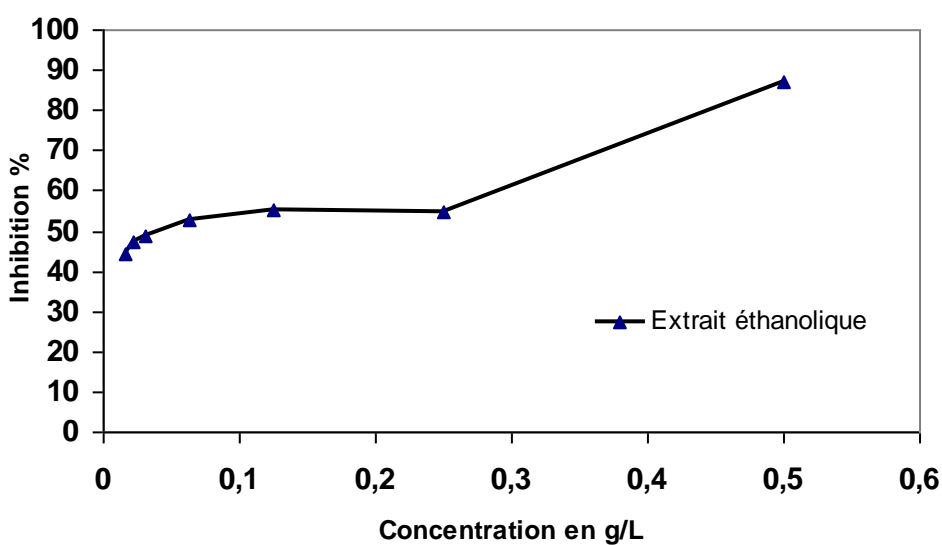


Figure III-12. Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut éthanolique des feuilles de *M. Vulgare*.

### III-7.4 Calcul des concentrations inhibitrices à 50% ( IC<sub>50</sub>)

La capacité antioxydante de nos différents extraits a été déterminée à partir des IC<sub>50</sub>. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. L'IC<sub>50</sub> et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnels [66].

Les valeurs de IC<sub>50</sub> des feuilles de deux plantes étudiées pour les différents extraits éthanolique ont été estimées en utilisant la courbe de régression linéaire :  $y = ax + b$

Où :  $y = 50\%$  (pourcentage de réduction de DPPH)

$x$  : IC<sub>50</sub> (la concentration en extrait et de l'acide ascorbique)

Les valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour tous les extraits testés sont représentées dans le **tableau III-27** et dans la **figure III-13** sous forme d'histogramme.

### III-7.5 Le calcul de l'efficacité antiradicalaire (EAR)

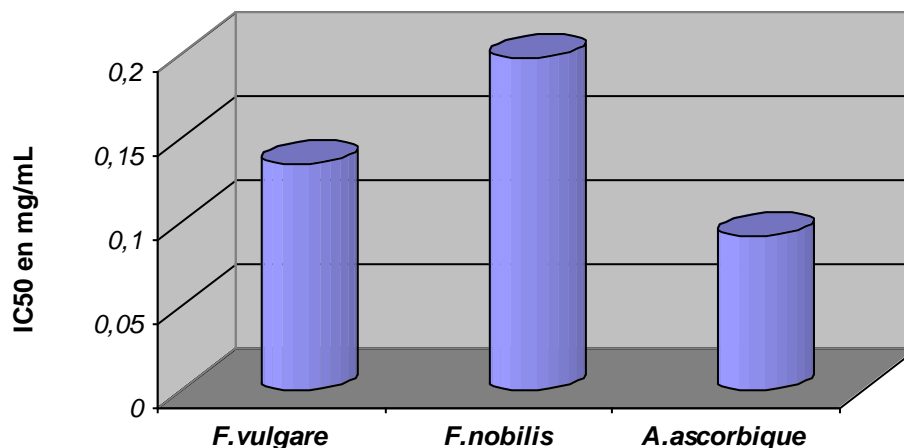
EAR est inversement proportionnel à l'IC<sub>50</sub> (Tab III-27) :

$$EAR = 1/IC_{50} \quad [69]$$

**Tableau III-27.** Valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées et ARP pour les extraits éthanoliques des feuilles de deux plantes étudiées.

<i>Extrait</i>	<i>IC50 : g/L</i>	<i>EAR</i>
<i>Extrait éthanolique des feuilles de L. nobilis</i>	<i>0,198</i>	<i>5,050</i>
<i>Extrait éthanolique des feuilles de M. Vulgare</i>	<i>0,135</i>	<i>7,407</i>
<i>Acide ascorbique (vitamine C)</i>	<i>0,092</i>	<i>10,869</i>





**Figure III-13.** Histogramme illustrant les valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents extraits éthanolique en g/L.

*F.vulgare* : feuilles de *Marrubium vulgare* et  
*F.nobilis* : feuilles de *Laurus nobilis*

D'après les **tableaux III-24, III-25, III-26 et III-27**, on peut dire que :

Nos résultats indiquent que l'extrait brut éthanolique présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un IC<sub>50</sub> de 0,135 mg/mL pour les feuilles de *M.vulgare* et IC<sub>50</sub> de 0,198 mg/mL pour les feuilles de *L.nobilis*.

À la plus faible concentration testée (**0,0156 g/L**), l'extrait éthanolique des feuilles de *M.vulgare* a réduit 44,30% du radical libre DPPH, contrairement à l'extrait éthanolique des feuilles de *L.nobilis* qui a simplement réduit 17,84% du DPPH.. La figure III-15 nous permet de classer selon IC<sub>50</sub> les deux extraits et l'acide ascorbique comme suit : A.ascorbique > F.vulgare > F.nobilis.

La valeur d'IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique que nous avons trouvé (**0.092 g/L**) est proche de celle trouvée par **Rached et coll., (2010) [69]** qui est de l'ordre de **0.07g/L**.

Les résultats trouvés sont très proches à ceux obtenus par beaucoup de chercheurs.

### III-8 Métaux lourds (ETM)

#### III-8.1 Teneur en cendres totales (CT)

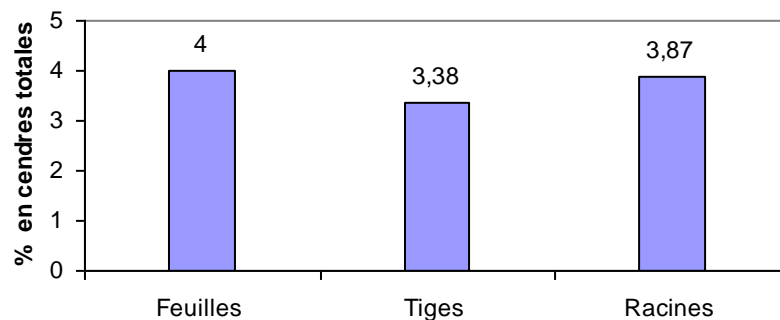
Elle caractérise la quantité de substances résiduelles non volatilisées lorsque l'échantillon de drogue et complètement calciné [59].

**Tableau III-28.** Résultats des cendres totales pour *M. vulgare*.

Echantillon	PV (g)	PE (g)	PF (g)	CT (g)	CT (%)	Normes[59]
Poudre des feuilles	12,6265	1	12,6665	0,0400	4,00	< 6 (%)
Poudre des tiges	12,6270	1	12,6608	0,0338	3,38	< 6 (%)
Poudre des racines	11,7723	1	11,8061	0,0387	3,87	< 6 (%)

Le tableau ci-dessus montre que :

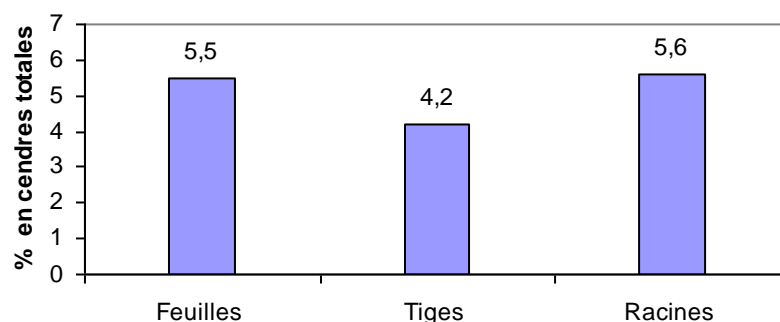
$$CT (\%)_{\text{feuilles}} > CT (\%)_{\text{racines}} > CT (\%)_{\text{tiges}}$$



**Figure III-14.** Histogramme illustrant le pourcentage en cendres totales de *M. vulgare L*

**Tableau III-29.** Résultats des cendres totales de *L. nobilis*.

Echantillon	PV (g)	PE (g)	PF (g)	CT (g)	CT (%)	Normes[59]
Poudre des feuilles	12,5648	1	12,6198	0,0550	5,5	< 6 %
Poudre des tiges	11,8734	1	11,9154	0,0420	4,2	< 6 %
Poudre des racines	12,4321	1	12,4881	0,0560	5,6	< 6 %



**Figure III-15.** Histogramme illustrant le pourcentage en cendres totales de *L. nobilis*.

D'après la figure III-15, on voit clairement que les racines et les feuilles contiennent les mêmes quantités en cendres totales.

### III-8.2 Teneur des métaux dans les plantes étudiées

Le dosage des métaux lourds tels que : le Pb, le Cu, le Cd, le Zn et le Cr a été effectué par la spectroscopie d'absorption atomique (SAA). Ainsi, tous les résultats sont donnés en  $\text{mg.L}^{-1}$  et afin de les comparer aux différentes normes internationales, toutes les valeurs ont été converties en  $\text{mg.kg}^{-1}$  de matière sèche (ou ppm) (Tab III-30 au III-34).

**Tableau III-30 .** Concentration en  $\text{mg.L}^{-1}$  et teneur en ppm ( $\text{mg.kg}^{-1}$  /Ms) du Zn dans les deux plantes étudiées.

Métal : Zn	Partie dosée	Concentration (mg/L)	Teneur mg/kg de Ms	Normes internationales (mg/kg/Ms) [70-72]
<i>Marrubium vulgare</i> L	Feuilles	69,05	74,49	* Teneur critique : Toxicité : 100-400 Déficience : 15-20
	Tiges	31,14	28,98	
	Racines	118,64	123,16	
<i>Laurus nobilis</i> L	Feuilles	121,95	182,26	*Teneur normale : TN : 50
	Tiges	87,6	96,31	
	Racines	34,05	48,30	

TN : teneur normale , ----- : valeur non donnée (non déterminé)

**Tableau III-31 .** Concentration en  $\text{mg.L}^{-1}$  et teneur en ppm ( $\text{mg.kg}^{-1}$  /Ms) du Pb dans les deux plantes étudiées.

Métal : Pb	Partie dosée	Concentration (mg/L)	Teneur mg/kg de Ms	Normes internationales (mg/kg/Ms) [70-72]
<i>Marrubium vulgare</i> L	Feuilles	0,74	0,80	* Teneur critique : Toxicité : 12-300 Déficience :-----
	Tiges	2,56	2,39	
	Racines	72,9	75,68	
<i>Laurus nobilis</i> L	Feuilles	1,56	2,33	*Teneur normale : TN : 1,0
	Tiges	2,46	2,70	
	Racines	0,69	0,98	

**Tableau III-32 .** Concentration en  $\text{mg.L}^{-1}$  et teneur en ppm ( $\text{mg.kg}^{-1}$  /Ms) du Cr dans les deux plantes étudiées.

Métal : Cr	Partie dosée	Concentration (mg/L)	Teneur (mg/kg / Ms)	Normes internationales (mg/kg/Ms) [70-72]
<i>Marrubium vulgare</i> L	Feuilles	17,96	19,37	* Teneur critique : Toxicité : 3 Déficience :-----
	Tiges	49,30	45,88	
	Racines	52,40	54,40	
<i>Laurus nobilis</i> L	Feuilles	18,46	27,59	*Teneur normale : TN : 1,5
	Tiges	38,90	42,77	
	Racines	3,91	5,54	

**Tableau III-33 .** Concentration en  $\text{mg.L}^{-1}$  et teneur en ppm ( $\text{mg.kg}^{-1}/\text{Ms}$ ) du Cu dans les deux plantes étudiées.

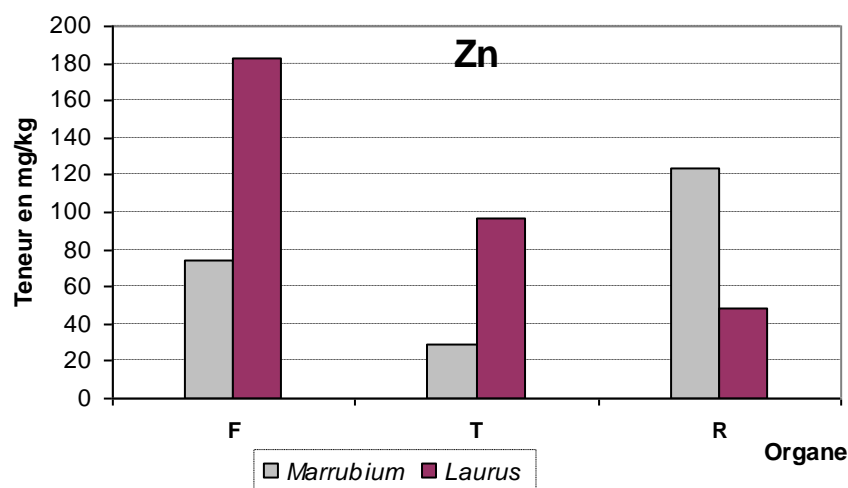
Métal : Cu	Partie concernée	Concentration (mg/L)	Teneur (mg/kg /Ms)	Normes internationales (mg/kg/Ms) [70-72]	
<i>Marrubium vulgare</i> L	Feuilles	18,02	19,44	* Teneur critique : Toxicité : 20-50 Déficience : 3-5	
	Tiges	23,00	21,40		
	Racines	36,80	38,20		
<i>Laurus nobilis</i> L	Feuilles	29,40	43,94		
	Tiges	13,24	14,56		*Teneur normale : TN : 10
	Racines	4,58	6,50		

**Tableau III-34 .** Concentration en  $\text{mg.L}^{-1}$  et teneur en ppm ( $\text{mg.kg}^{-1}/\text{Ms}$ ) du Cd dans les deux plantes étudiées.

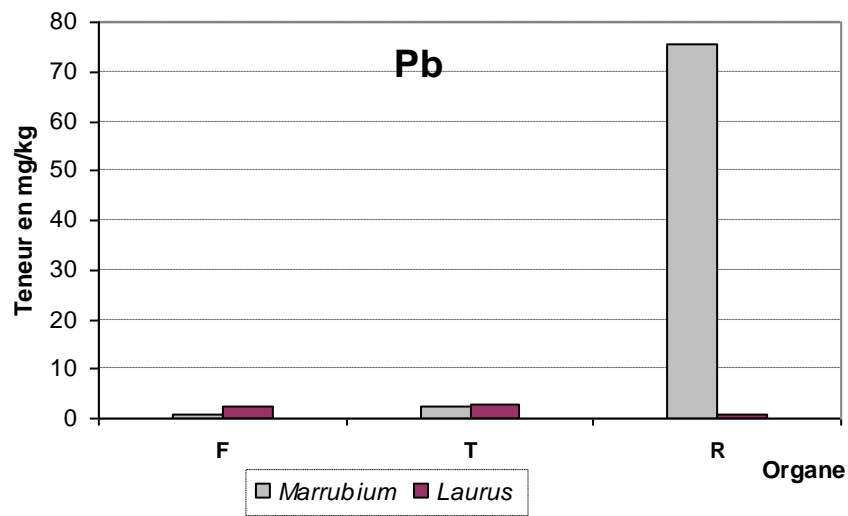
Métal : Cd	Partie concernée	Concentration (mg/L)	Teneur mg/kg de Ms	Normes internationales (mg/kg) [70-72]	
<i>Marrubium vulgare</i> L	Feuilles	2,60	2,80	* Teneur critique : Toxicité : 5 Déficience :-----	
	Tiges	2,44	2,27		
	Racines	2,64	2,74		
<i>Laurus nobilis</i> L	Feuilles	2,09	3,13		
	Tiges	2,46	2,70		*Teneur normale : TN : 0,01–1
	Racines	2,69	3,82		
Matière sèche					

### Histogrammes correspondant

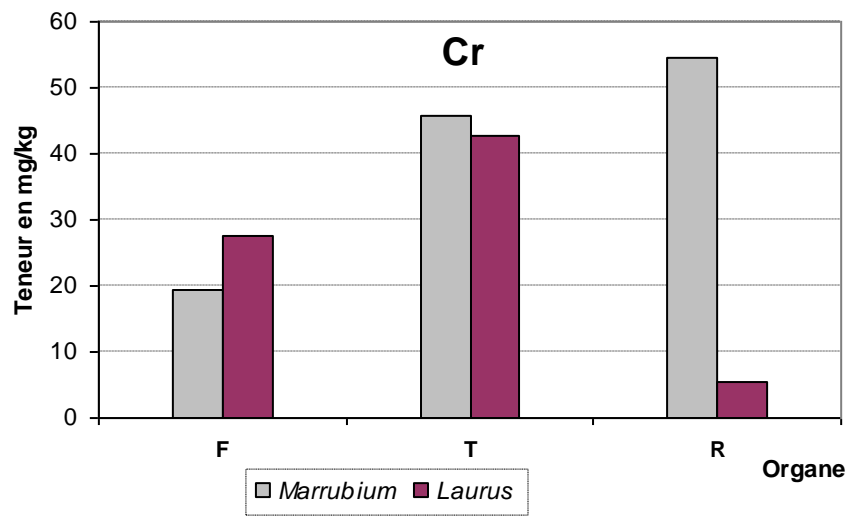
Les résultats d'analyses des métaux indiqués dans les tableaux ci-dessus sont représentés dans les figures suivantes :



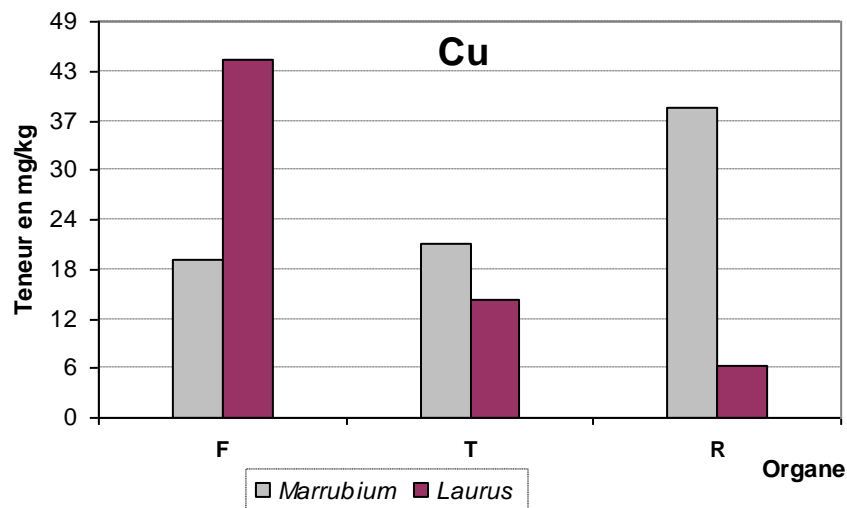
**Figure III-16.** Histogramme illustrant la teneur en Zn en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées.



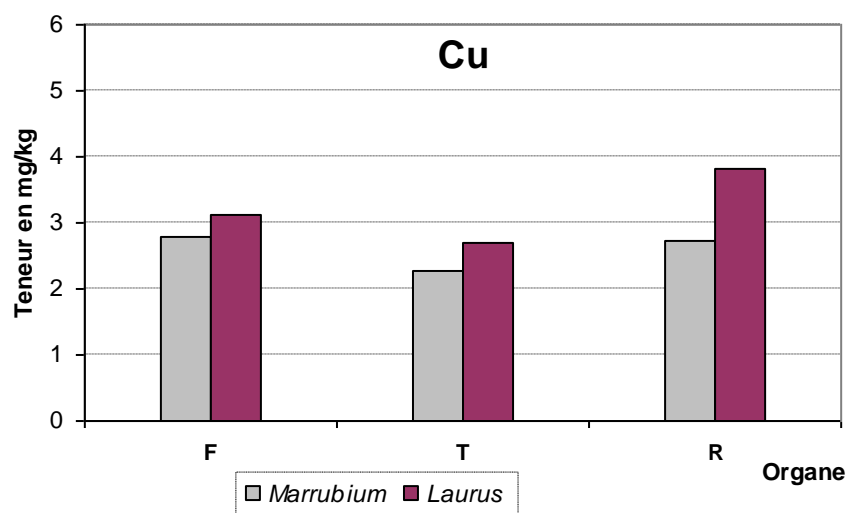
**Figure III-17.** Histogramme illustrant la teneur en Pb en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées



**Figure III-18.** Histogramme illustrant la teneur en Cr en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées



**Figure III-19.** Histogramme illustrant la teneur en Pb en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées



**Figure III-20.** Histogramme illustrant la teneur en Cd en mg/kg de matière sèche dans les deux plantes étudiées

### III-8.3 Variation et toxicité des métaux dans les organes de chaque plante étudiée

Ces résultats nous permettront de déterminer d'une part la contamination des plantes et le taux d'accumulation dans leurs différentes parties et d'une part de faire une comparaison entre les deux plantes appartenant à deux familles différents.

✓ **Pour le zinc :**

D'après la figure III-16, on constate que le Zn se répartie variablement dans les différentes parties des plantes où il se concentre majoritairement dans les racines de marrubium par **123,16 mg/kg** de matière sèche et dans les feuilles de laurus par **182,26 mg/kg/Ms**.

*On peut classer le contenu du zinc dans les organes comme suit :*

- Marrubium vulgare :  $[Zn]_{\text{racines}} > [Zn]_{\text{feuilles}} > [Zn]_{\text{tiges}}$
- Laurus nobilis :  $[Zn]_{\text{feuilles}} > [Zn]_{\text{tiges}} > [Zn]_{\text{racines}}$  .

La majorité de ces valeurs dépasse la teneur normale du Zn dans les plantes **50 mg/kg**. Par contre, simplement les valeurs détectées dans les feuilles de marrubium et les feuilles de laurus qui s'échelonnent dans la teneur critique toxiques (**100-400**) mg/kg. Ces plantes ne sont pas contaminées par le Zn.

✓ **Pour le plomb :**

Le Pb est concentré majoritairement dans les racines de marrubium (**75,68 ppm, Fig III-18**), tandis que dans laurus, il se répartie équitablement dans toutes ses parties.

*Le Pb se localise dans les deux plantes comme suit :*

- Marrubium vulgare :  $[Pb]_{\text{racines}} > [Pb]_{\text{tiges}} > [Pb]_{\text{feuilles}}$
- Laurus nobilis :  $[Pb]_{\text{tiges}} > [Pb]_{\text{feuilles}} > [Pb]_{\text{racines}}$ .

Par ailleurs, ces teneurs sont inférieures à la teneur critique de toxicité **12-300 mg/kg**, à l'exception des racines de marrubium où sa teneur oscille dans l'intervalle de la teneur critique de toxicité et dépassent la valeur normale fixée à **1 mg/kg (Tab III-32)**, sauf dans les feuilles de marrubium et les racines de laurus.

✓ **Pour le Chrome :**

Le Cr s'accumule dans les racines de marrubium (**54,40 mg/kg/Ms**) et les tiges de laurus (**42,77 mg/kg/Ms**) (**Fig III-18**).

*La séquence d'accumulation est comme suit :*

- Marrubium vulgare :  $[Cr]_{\text{racines}} > [Cr]_{\text{tiges}} > [Cr]_{\text{feuilles}}$
- Laurus nobilis :  $[Cr]_{\text{tiges}} > [Cr]_{\text{feuilles}} > [Cr]_{\text{racines}}$ .

Le marrubium a une teneur en Cr supérieure à celle trouvée dans laurus surtout dans les racines.

Toutes les valeurs enregistrées en chrome dépassent largement la teneur critique de toxicité citée dans le tableau III-32 (**3 ppm**). Donc les deux plantes sont contaminées par le Cr.

✓ **Pour le cuivre :**

Le Cu a été accumulé comme suit:

**Pour marrubium**, il se concentre majoritairement dans les racines avec la valeur **38,20 mg/kg** et les autres parties par des teneurs ont pratiquement les mêmes valeurs (Tab III-33).

**Pour laurus**, la plus grande teneur détectée était dans les feuilles (**43,94 ppm**) suivie par les tiges et racines.

Les valeurs trouvées oscillent dans l'intervalle de la teneur critique toxique des plantes (**20-50**) mg/kg, sauf pour les racines avec une teneur inférieure à la norme internationale fixée à **10** mg/kg (Tab III-33).

✓ **Pour le cadmium :**

Le Cd contrairement aux autres métaux analysés se trouve avec des quantités presque identiques dans toutes les parties de deux plantes (Tab III-34).

Toutes les valeurs obtenues sont supérieures à la teneur normale (TN) **0,01–1 mg/kg** et inférieures à la teneur critique de toxicité qui est **5 mg/kg**.



**Conclusion**

---

**Générale**

## Conclusion générale

---

Au cours de ce mémoire, nous avons étudié *Marrubium vulgare* L (Marrioua) et *Laurus nobilis* L (rand), des plantes très utilisées en pharmacopée traditionnelle algérienne pour ces vertus thérapeutiques.

Pour notre part, nous avons tenté de contribuer à sa valorisation en établissant une relation en leur utilisation en médecine traditionnelle contre les infections des voies respiratoires, les dyspepsies et la perte d'appétit pour la marrioua et le laurier, par voie orale, le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement pigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence.

Cette étude a été débutée par une identification botanique détaillée de *M. vulgare* et *L. nobilis* au laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes Naturels (Univ-Tlemcen) et au département de biologie, faculté des sciences (Univ-Saida), suivie d'un examen phytochimique. Ce dernier est indispensable car il nous permet d'avoir une idée claire sur les différentes familles de composés existants dans les différentes parties.

L'examen phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les coumarines et les composés réducteurs dans les trois parties de nos plantes étudiées (feuilles, tiges et racines). Ces résultats sont en accord avec ce qui est décrit en littérature.

Le dosage des polyphénols évalué par la méthode de Folin-Ciocalteu (F-C) sur les extraits éthanoliques et aqueux a montré l'abondance en composés phénolique surtout par l'éthanol.

De plus, les extraits éthanoliques des feuilles de deux plantes choisies ont été testés pour leur pouvoir de piégeage des radicaux libres via la méthode DPPH. Dans cette partie, trois facteurs ont été mis en place : la détermination de la concentration inhibitrice 50 (CI<sub>50</sub>), efficacité anti-radicalaire (EAR) et le pouvoir d'inhibition ou réduction du radical libre DPPH à différentes concentrations de nos extraits éthanoliques. Les résultats obtenus ont montré que les extrait brut éthanolique des feuilles de *M. vulgare* sont pourvus d'une bonne activité antioxydante meilleure que celle provoquée par l'extrait brut éthanolique des feuilles *L.nobilis* Une forte efficacité anti-radicalaire est notée pour l'extrait brut éthanolique par un IC<sub>50</sub> relativement faible (0,135 g/L), proche à celle du produit standard, l'acide ascorbique (0,092 g/L).

*Le dosage des métaux par la spectrométrie d'absorption atomique nous a permis de conclure que la majorité des teneurs enregistrées en Zn, en Pb, en Cd et en Cu sont inférieures aux normes internationales. En revanche le Cr a révélé une teneur supérieure à celle autorisée par les différentes normes internationales (3 mg/kg/MS).*

*Enfin, ce modeste travail s'il fixe des résultats certains, ouvre des perspectives et des pistes de recherche, tant au niveau de la connaissance scientifique, qu'à celui d'une possibilité de valorisation de la matière végétale de la région de Saida. D'autres études pourront être envisagées :*

*Evaluation de l'activité anti-radicalaire par d'autres méthodes afin de bien comparer nos résultats obtenus.*

*La recherche du (des) composé (s) responsable(s) de cette activité antioxydante dans l'extrait éthanolique et même aqueux des parties utilisés par la population contre plusieurs maladies et infections.*