

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR
KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES & DE LA
TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE
INDUSTRIEL



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم: الهندسة الصناعية

No. Réf. :/...../2020

Mémoire

Présenté par : IBTISSEM BELAIDI & KHAOULA HAMZAOUI

Pour obtenir le diplôme de MASTER (LMD)

OPTION : Génie Des Procédés et L'environnement

Thème

**Extraction, analyse chimique et étude de
l'activité antioxydants des huiles essentielles
de *Ephédra sinica***

Devant le jury :

Mr.		Président	U.A.L.K
Mr.	MAKHLOUFI. A	Rapporteur	U.A.L.K
Mr.		Examineur	U.A.L.K

Année universitaire : 2019 – 2020

Remerciement

*Nous remercions avant, après, et à l'infini **DIEU** de nous entouré*

de ses grâce et claire de ses lumière, et nous avoir donné la patience,

Le courage, pour établir ce modeste travail.

Nous remercions chaleureusement notre cher encadreur et enseignant :

Dr .MAKHOLOUFI ABDESSLAM

Nous tenons aussi à remercier toutes les personnes de nous avoir

aidés durant la réalisation de ce travail de prés et de loin.

Nous remercions tous les professeurs de notre spécialité

"GENIE DES PROCÉDÉS"

Nous remercions tous ceux qui méritent d'être cités sur cette page.

Dédicace

Je dédie ce travail

*À mes chers parents, ma mère NADIA et mon père
TAYEB Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur
encouragement tout au long de ma vie.*

À mes sœurs

À toute ma famille BELAIDI de près ou de loin.

*À mon encadreur MAKHLOUFI ABDASSELEM qui m'a
fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa
grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*À mon binôme KHAOULA qui a partagée avec moi les
moments difficiles de ce travail et son famille.*

À La promotion de master 2 Génie des procédés

À mes amies

À tous ceux qui me connaissent

Je dédie ce modeste travail

BELAIDI IBTISSEM

Dédicace

Je dédie ce travail

*À la flamme qui illumine ma vie, qui a tant souffert pour me
voir arriver un jour à mon but*

À ma Mère GHEZALA

*À mon Père LAARBI qui me guide vers le pas de la réussite et
savoir*

À mes sœurs

À mes frères

*À mon encadreur MAKHLOUFI ABDASSELEM qui m'a
fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa
grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

Je remercie mon binôme

À toutes mes amies

*À tous les étudiants de la faculté des sciences et technologie
surtout la spécialité:*

"GENIE des PROCÉDÉS"

À tous les professeurs de notre matière.

Je remercie tous ceux qui méritant d'être cités sur cette page.

...Merci Infiniment...

HAMZAOUI KHOULA

Liste des figures

Figure I-01 : Séchage les plantes

Figure I-02 : Séchage de la plantes a tiges

Figure I-03 : Séchage des plantes au four

Figure I-04: La conservation des plantes dans un papier carton

Figure II-01 : Quelques types plante aromatiques

Figure II-02 : Quelques exemples de terpènes

Figure II-03 : Les types de lactones

Figure II.04 : Structure chimiques de Coumarines

Figure II-05: Montage d'entrainement à la vapeur d'eau

Figure II-06 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation

Figure II-07: extraction des huiles par L'hydro-diffusion

Figure II-08: Répartition géographique de *l'Ephédra* dans le monde.....

Figure II-09: Photo de la plante *Ephédra sinica*

Figure II-10: Structure chimique L'éphédrine

Figure III-01 : Mécanisme du stress oxydatif.....

Figure III-02 : Les origines des espèces réactives à l'oxygène

Figure III-03 : Structure tridimensionnelle de la catalase

Figure III-04 : Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase.....

Figure III-05 : Système antioxydant enzymatique

Figure III-06 : Structure chimiques des vitamines E

Figure III-07 : Structure chimique de la vitamine C

Figure III-08 : Structure chimique de la β -carotène

Figure III-09 : Mécanismes d'action des antioxydants.....

Figure III-10 : Réaction de test DPPH.....

Figure III-11 : courbe représentant l'évolution du DPPH° résiduel en fonction du temps

Figure III-12 : Schéma sur la réaction de test FRAP.....

Figure III-13 : Génération de radicaux peroxydes à partir de l'AAPH.....

Figure III-14 : Exemple de courbes cinétiques de dégradation de RP

Figure III-15 : Oxydo-réduction de l'ABTS en ABTS^{•+}

Liste des tableaux

Tableau II-01 : L'usage de quelques plantes aromatiques en cosmétique

Tableau II-02 : Liste des plantes aromatiques et leurs vertus.....

Tableau III-01 : Les espèces réactives de l'oxygène.....

Liste des abréviations

ABTS	2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid.
SOD	Superoxydedismutase.
CAT	Catalase.
C	Concentration.
°C	Degré.
DPPH	2,2-diphényl-1picrylhydrazyle.
D	Nombre de dilution.
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power.
GPX	Glutathiion peroxidase.
GSSG	Oxidized glutathione.
GR	Glutathionreductas .
GSH	Glutathione .
HOCl	Acide hypochloreux.
H₂O₂	Le peroxyde d'hydrogène.
IC₅₀	Concentration inhibitrice médiane.
I%	Pourcentage d'inhibition.
nm	Nanomètre.
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity.
ROS	Espèces réactive de l'oxygène.

R*	Radicaux libres.
R°	Radical alkyles.
RNS	Radicaux libres azotés.
RO°	Radical alkoxye.
ROO°	Radical peroxye.
TRX	Thiorédoxine.
TEAC	Trolox Equivalent Antioxydant Capacity.
XO	Xanthine oxydase.
VC	Vitamine C ou acide ascorbique.

Table de matières

Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Introduction générale..... 1

Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales

I.1.La phytothérapie 5
I.1.1.Généralité 5
I.1.2.Définition 5
I.1.3.Avantage 5
I.1.4. Les facteurs de risques spécifiques 5
I.2.Les plantes médicinales..... 6
I.2.1.Définition 6
I.2.2.Objectifs de l'étude 6
I.2.3.Fonctionnement..... 6
I.3.Récolte-séchage-conservation des plantes médicinales 7
I.3.1.La récolte..... 7
I.3.1.1.Cueillir sans détruire 7
I.3.1.2.Cueillir pour réussir la conservation 7
I.3.2.Séchage 8
I.3.2.1.Séchage des plantes à tiges 8
I.3.2.2.Séchage des autres plantes 9
I.3.2.3.Séchage au four 9
I.3.3.Conservation 10
I.4.Compositions 10

I.4.1.Les huiles essentielles	10
I.4.2.Les flavonoïdes	10
I.4.3.Les alcaloïdes	11
I.4.4.Les substances amères	11
I.4.5.Les Tanins	11
I.4.6.Les Glucosides	11
I.4.7.Les résines	11
I.4.8.Les phénols.....	12
I.5.Plantes médicinales en Algérie	12

Chapitre II : Les plantes aromatiques et les huiles essentielles

II.1.Les plantes aromatiques	14
II.1.1.L'usage dans le cosmétique	14
II.1.2.Aromathérapie	14
II.1.3. Liste des plantes aromatiques et leurs vertus	15
II.1.4.Quelques plantes aromatiques	16
II.2.Les huiles essentielles	17
II.2.1.Définition	17
II.2.2.De la plante aromatique à l'huile essentielle	17
II.2.3.Classification	17
II.2.4.Domaine d'utilisation	17
II.2.4.1.L'alimentation.....	17
II.2.4.2.L'industrie cosmétique.....	18
II.2.5.Compositions chimiques	18
II.2.6.Les différentes molécules aromatiques	18
II.2.7.Techniques d'extraction	19

II.2.8. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles	20
II.2.9. Contrôle de qualité des huiles essentielles.....	22
II.3. Plante étudié : <i>L'Ephédra sinica</i>	23
II.3.1. Généralités sur la plante <i>Ephédra</i>	23
II.3.2. <i>L'Ephédra sinica</i>	23
II.3.3. Classification systématique d' <i>Ephédra sinica</i>	24
II.3.4. Description botanique	24
II.3.5. Distribution géographique	25
II.3.6. Usage traditionnelle	25
II.3.7. Usage pharmacologique	26
II.3.8. Composition chimique	27
II.3.9. Molécules actives (Ephedrine)	27

Chapitre III : Capacité antioxydant

III.1. Le stress oxydatif	29
III.1.1. Définition	29
III.2. Radicaux libres	30
III.2.1. Différentes types	30
III.2.2. Origine des radicaux libres	31
III.3. Les antioxydants	32
III.3.1. Origine	32
III.3.2. Les antioxydants enzymatiques (endogènes)	33
III.3.2.1. Superoxydedismutase (SOD)	33
III.3.2.2. Les catalases	33
III.3.2.3. Glutathion peroxydase et glutathion réductase	34
III.3.2.4. Thiorédoxine (TRX)	34

III.3.2.5.La Bilirubine	35
III.3.3.Les antioxydants non enzymatiques (exogènes)	35
III.3.3.1La vitamine E (alpha tocophérol)	35
III.3.3.2.La vitamine C (acide ascorbique)	36
III.3.3.3.Les caroténoïdes	36
III.3.3.4.Les oligo-éléments	37
III.4.Mécanismes d'action des antioxydants	37
III.5.Tests expérimentaux de l'activité antioxydants	38
III.5.1.Piégeage du radical libre DPPH	38
III.5.1.1.Protocol expérimental	39
III.5.1.2.Méthode de dosage	40
III.5.1.3.Analyse des résultats	40
III.5.2.Autres tests expérimentaux de l'activité antioxydants	41
III.5.2.1.Test de la réduction du fer FRAP	41
III.5.2.1.1.Méthode de dosage	42
III.5.2.2.Les méthodes ORAC(Oxygen radical absorbance capacity)	42
III.5.2.2.1.Méthode de dosage	44
III.5.2.3.Réduction du radical- cation ABTS ou détermination du TEAC.....	45
III.5.2.3.1.Méthode de dosage	46
III.5.2.4.Capacité antioxydants total (TAC)	47
III.5.2.4.1.Méthode de dosage	47
Conclusion générale	48
Références bibliographiques	50



Introduction générale



Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 81% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire. En outre, plus de 120 composés provenant de plantes sont utilisés aujourd'hui en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel. Parmi les 25 composés pharmaceutiques les plus vendus au monde, 12 sont issus de produits naturels [1]. Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- Complexe contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures).
- Pure, chimiquement définie comme principe actif.

L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour les quelles elle est utilisée en tradithérapie. En effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches.

A titre indicatif, les polyphénols, forment un groupe très diversifié de molécules dont plusieurs sont largement utilisées en thérapeutique comme antioxydants pour lutter contre les effets néfastes de l'oxygène à l'origine d'un grand nombre de maladies. D'autre part, et parce que certains antioxydants synthétiques ont montré un risque potentiel pour la santé, notamment un effet cancérigène possible; il y'a lieu de trouver de nouvelles sources d'antioxydants peu dangereuses et peu coûteuses naturelles pour les utiliser dans les aliments et les préparations pharmaceutiques et remplacer ainsi les antioxydants synthétiques [2, 3].

Après une introduction générale, le mémoire présenté serait de fait structuré en différentes parties et chapitres, à savoir:

Partie I, comportant un rappel sur la phytothérapie, le concept des plantes médicinales, composition, utilisation et le domaine d'application.

Partie II, relative au huiles essentielles et leurs techniques d'extraction d'une part. Et d'autre part, on discutant description botanique et l'usage pharmacologique traditionnel et moderne de la plante de *l'éphédra sinica*.

Partie III, s'intéresse aux mécanismes d'action des radicaux libres, antioxydants et l'évaluation expérimentale de la capacité antioxydant.



Chapitre I : *Phytothérapie et plantes médicinales*



Sommaire

- ✓ La phytothérapie.....
- ✓ Récolte-séchage-conservation des plantes médicinales
- ✓ Composition des plantes médicinales
- ✓ Evolution des plantes médicinales vis-à-vis de la lutte phytosanitaire



Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique contient un rappel sur la phytothérapie, les plantes médicinales, leurs compositions ainsi que leurs mode de récolte et conservation.

I.1.La phytothérapie

I.1.1.Généralité

En générale, le corps humain est bien mieux adapté à base de plantes qu'à une thérapeutique exclusivement chimique. L'homme et les plantes vivent cotés à coté depuis dizaines de milliers d'années. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces des plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicinales que nutritives [4]. Durant des milliers d'années, la phytothérapie a constitué la principale source de remèdes contre de nombreuses maladies. Aujourd'hui, elle est abondamment utilisée avec succès dans le monde par des millions d'êtres humains pour qui la médecine occidentale reste en grande partie inaccessible.

I.1.2.Définition

La phytothérapie provient de deux mots grecs : «phython » qui signifie plante, « thérapein » qui signifie soigner donc c'est une pratique thérapeutique qui utilise des plantes pour prévenir ou soigner une maladie [5], est une médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques naturelles des molécules contenues dans les plantes. Certaines de ces propriétés sont également utilisées par l'allopathie, la médecine occidentale, pour la confection de médicaments contrôlés [6].

I.1.3.Avantage

Certains de ces avantages sont en relation avec les plantes elles même nous citons parmi eux :

- Le degré de la toxicité qui est faible ou absent surtout quand il s'agit de plante comestibles.
- La diversité thérapeutique des plantes : une plante peut traiter plusieurs pathologies par utilisation des graines, racines, feuilles et fruits.
- Les autres avantages sont, par contre liés aux conditions socioéconomiques, à causes de :

Le cout des plantes médicinales relativement très bas et qui rend leur achat accessible [7].

I.1.4. Les facteurs de risques spécifiques

Parmi les facteurs de risque spécifique à la phytothérapie

- Mauvaise identification botanique.

- Sélection d'une mauvaise partie de la plante.
- Stockage inapproprié.
- Altération du produit végétal lors du conditionnement.
- Erreur d'étiquetage du produit final [8].

I.2. Les plantes médicinales

I.2.1. Définition

Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Il est peu fréquent que la plante soit utilisée entière, le plus souvent il s'agit d'une ou de plusieurs parties qui peuvent avoir chacune des utilisations différentes [9].

I.3.2. Objectifs de l'étude

Les objectifs d'étude les plantes médicinales sont :

- Elles sont utilisées par une ethnie ou une communauté sont multiples.
- Elles sont utilisées par une ethnie ou une communauté sont multiples.
- Accélérer l'intégration des connaissances ethno médicales dans la médecine moderne.
- Rechercher de nouvelles plantes méconnues ou mal connus dans la flore médicinale.
- Rechercher également de nouvelles propriétés éventuelles et de nouvelles formes d'utilisation plus pratique.
- Constituer une banque de données de plantes médicinales nécessaire à la contribution d'élaboration de la pharmacopée nationale.

Un intérêt économique de l'utilisation des ressources nationales en produits phytopharmaceutique revêt une grande importance économique d'un pays, en particulier pour les pays en développement [10].

I.2.3. Fonctionnement

Au cours des dernières décennies, la recherche pharmaceutique a décrypté la composition chimique des propriétés de nombreuses plantes médicinales. L'industrie pharmaceutique a réussi à reproduire chimiquement un grand nombre de leurs composantes et à découvrir de nouvelles combinaisons, pour le bénéfice de patients et celui de la protection des ressources naturelles [11].

Chaque plante est composée de milliers de substances actives, présentes en quantité variable. Ces principes actifs isolés ne sont pas d'une grande efficacité, mais lorsqu'ils sont prélevés avec d'autres substances de la plante, ils révèlent leur aspect pharmacologique [12]. On parle alors de synergie, car contrairement aux médicaments allopathiques qui ne sont composés que d'un seul principe actif, les médicaments phyto-thérapeutique utilisent l'ensemble des constituants de la plante [13]. Ces végétaux auraient des effets curatifs et préventifs chez leurs utilisateurs [14].

Les premiers produits de la photosynthèse sont des substances à basse molécularité nommés métabolites primaires : les oses (sucres), les acides gras et les acides aminés. Par la suite sont produits les métabolites spécialisés. Certains possèdent des vertus thérapeutiques[15].

I.3.Récolte-séchage-conservation des plantes médicinales

I.3.1.La récolte

I.3.1.1.Cueillir sans détruire

Ne cueillez jamais la totalité d'une production, laissez sur place toujours au moins un tiers des plants. Il faut explorer autour de la plante afin de s'assurer qu'il existe d'autres spécimens de son espèce. Vous pouvez par contre cueillir sans réserve le pissenlit, l'ortie et la primevère officinale qui sont des espèces robustes et qui se reproduisent en abondance[16].

I.3.1.2.Cueillir pour réussir la conservation

Les plantes se récoltent par temps sec, car les plantes mouillées sont plus difficiles à conditionner par la suite :

- Cueillez les plantes jeunes car leur concentration en substances actives est plus élevée que les plantes adultes.
- Si vous partez cueillir plusieurs espèces en même temps, prenez soin de bien transporter vos récoltes séparément. Évitez les sacs en plastique qui, avec la vapeur d'eau émise par les plantes, permettraient la prolifération de champignons. Les sacs en papier ou en tissus sont donc à privilégier.
- Les racines, rhizomes, tubercules et bulbes se récoltent à l'automne pour les plantes annuelles ou au printemps pour les autres.
- Tiges : la récolte se fait à l'automne.
- Bourgeons : fin d'hiver, début du printemps, avant la montée de sève.

- Les bourgeons se récoltent dès leur apparition en début de printemps.
- Les feuilles avant la fermeture des boutons qui donnent les fleurs.
- Les fleurs au début de leur épanouissement [17].

I.3.2.Séchage

Pour le mode de conservation par excellence, il faut cependant que cette opération se fasse rapidement pour éviter l'altération des plantes, leur fermentation et la perte d'une partie ou la totalité de leurs principes actifs, le but étant d'enlever aux plantes l'eau qu'elles renferment [18].

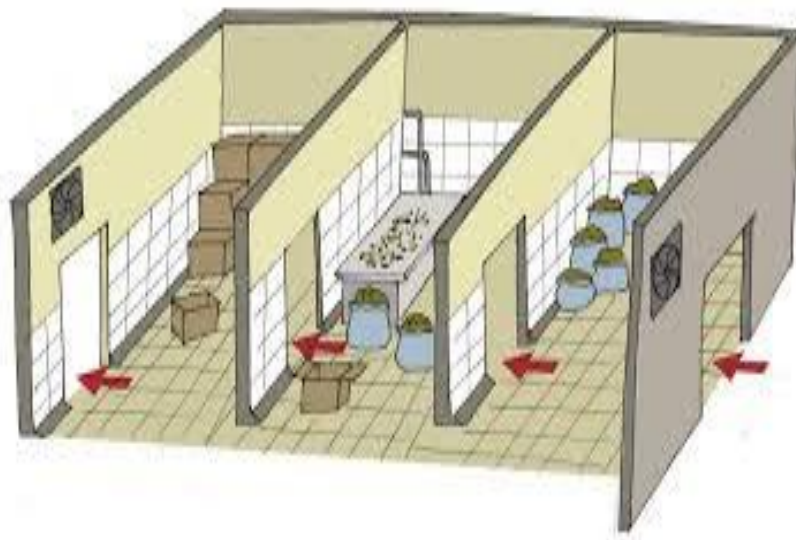


Figure I-01 : Séchage les plantes

I.3.2.1.Séchage des plantes à tiges

Pour les plantes à tiges, faites en des petits bouquets que vous accrochez à des poutres et que vous laissez sécher la tête en bas dans une pièce sèche et ventilée (une véranda par exemple). Les bouquets doivent être séchés rapidement, uniformément, et en profondeur. Il faut notamment veiller à les détacher dès qu'ils soient entièrement secs afin d'éviter qu'elles soient couvertes de poussières et d'insectes.

Cette méthode traditionnelle n'est pas forcément la plus efficace. Ces fameux bouquets destinés à faire des tisanes deviennent souvent un élément de décoration [18].



Figure I-02 : Séchage de la plantes a tiges

I.3.2.2.Séchage des autres plantes

Pour les autres plantes, il faut les disposer à plat, en une seule couche ou plutôt une seule épaisseur, afin que l'air et la chaleur puissent circuler parfaitement entre elles. La superposition risque de provoquer le développement de moisissure à cause d'un manque d'aération.

Cette technique de séchage se fait généralement sur un grand linge propre et blanc posé sur le sol de 11 h à 16 h (maximum 17 heures) avant la venue de l'humidité du soir.

I.3.2.3.Séchage au four

Cette méthode particulièrement pratique est préconisée pour sécher les racines et les parties ligneuses des plantes aromatiques. Pour ce faire, on commence par bien nettoyer les organes végétatifs fraîchement cueillis, puis on les sèche en utilisant un torchon propre et sec. Ensuite, on les coupe en fines tranches transversales, ou en petits morceaux, Le séchage au four dur, deux à trois heures [18].



Figure I-03 : Séchage des plantes au four

I.3.3. Conservation

1- Les plantes se conservent dans un sac en papier, une poche en tissu, un pot en fer, en grès ou en verre, dans un endroit sec et à l'abri de la lumière.

2- Pensez à étiqueter votre récipient avec les noms et dates de récolte ou leur provenance. Utilisez toujours le même pour une plante afin de ne pas mélanger les arômes.

En général la durée de conservation ne dépasse pas un an. Par la suite elles perdent leurs principes actifs [19].



Figure I-04 : La conservation des plantes dans un papier carton

I.4. Compositions

I.4.1. Les huiles essentielles

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on trouve ces molécules dans les organes sécréteurs [20]. Ces huiles jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirent les insectes pollinisateurs. Ils sont utilisés pour soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma, et soulagent les problèmes intestinaux [21]. Leur utilisation est également présente dans l'industrie cosmétique et alimentaire [22].

I.4.2. Les flavonoïdes

Ils sont à l'origine de la coloration des feuilles, fleur, fruit ainsi que d'autres parties végétales. Les flavonoles, flavonones et flavones sont les trois groupes principaux existants [23]. Les flavonoïdes sont des antibactériennes [24]. Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire, et de l'industrie pharmaceutique, comme certains flavonoïdes qui ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales [25].

I.4.3. Les alcaloïdes

Sont des substances naturelles azotées à réaction basique fréquente issus d'acides aminés. En général, ils portent le nom du végétal qui les contient [26]. Tous les alcaloïdes ont une action physiologique intense, médicamenteuse ou toxique. Très actifs, les alcaloïdes ont donné naissance à de nombreux médicaments [27].

I.4.4. Les substances amères

Qui forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût. Cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs, ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion. Avec une meilleure digestion, et l'absorption des éléments nutritifs adaptés, le corps est mieux nourri [28].

I.4.5. Les Tanins

C'est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux [29]. C'est une substance amorphe contenue dans de nombreux végétaux. Elle est employée dans la fabrication des cuirs car elle rend les peaux imputrescibles. Elle possède en outre des propriétés antiseptiques mais également antibiotiques, astringentes, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, hémostatiques et Vasoconstrictrices (diminution du calibre des vaisseaux sanguins) [30]. Les plantes contenant du tanin sont par exemple le chêne [31].

I.4.6. Les Glucosides

Les glucosides sont des composés organiques très répandus, contenus dans un grand nombre de préparations pharmaceutiques. Outre les sucres (simples et composés) [32].

I.4.7. Les résines

Matières nées d'un fluide dont la fonction est de limiter les pertes en eau du végétal dont elles sont issues. La résine la plus connue est l'ambre, résine fossile provenant de conifères [33].

I.4.8. Les phénols

Sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [34]. Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques [35].

I.5. Plantes médicinales en Algérie

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été fait aux IXème siècles par Ishà-Ben-Amran et Abdallah-Ben- Lounès, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVIIème et au XVIIIème siècle .Même pendant le colonialisme français de 1830 à1962. Les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales.

En 1942, Fourment et Roque ont publiés un livre de 200 espèces végétales d'intérêt médicinales, la plupart d'entre elles sont du Nord d'Algérie et seulement 6 espèces sont localisées au Sahara. Le travail le plus récent publié sur les plantes médicinales Algériennes est reporté dans les ouvrages. L'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatique.

En effet, l'Algérie constitue aujourd'hui un importateur net de plantes aromatique et médicinales, elle importe presque la totalité de ses besoins en plantes aromatique, médicinales et huiles essentielles.

Aussi, la matière brute de ces plantes est vendue à des prix dérisoires, par contre que le produit fini est importé à des prix exorbitants. C'est pour cela que l'Algérie devrait rendre le marché des plantes médicinales une filière à part entière profit de son riche potentiel, à l'instar des autres pays du Maghreb [36].



Chapitre II : *Les plantes aromatiques et les huiles essentielles*



Sommaires

- ✓ Les huiles essentielles.....
- ✓ Techniques d'extraction des huiles essentielles
- ✓ *L'Ephédra sinica*
- ✓ Distribution nationale
- ✓ Usage pharmacologique



Dans e chapitre II de ce mémoire nous nous intéresserons aux huiles essentiels : ses classifications, utilisations et méthodes d'extraction. Puis nous nous présenterons les différentes propriétés de la plante médicinale *éphédra sinica* ainsi que leur utilisation traditionnelle et moderne.

II.1. Les plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont un ensemble des plantes utilisées en cuisine et en phytothérapie pour les arômes qu'elles dégagent, et leurs huiles essentielles que l'on peut extraire. Ces elles sont cultivées selon les besoins pour leurs feuilles, tiges, bulbes, racines, graines, fleurs, écorce [37].

II.1.1. L'usage dans le cosmétique

Elles entrent dans la composition de nombreux produits cosmétiques, sous forme d'huiles essentielles, d'extraits de plantes ou d'herbes lyophilisées [38].

Tableau II-01 : L'usage de quelques plantes aromatiques en cosmétique

Plantes aromatiques	Usages en cosmétique
Thym	Les déodorants, pour les soins des peaux et cuirs chevelus gras, dans les démaquillants et aussi dans les dentifrices et les bains de bouche.
Basilic	Complexe anti-stress et sommeil et soin correcteur anti-taches
Mélisse	Les feuilles sont adoucissantes, astringentes, rafraîchissantes, revitalisantes et sont surtout employées pour les peaux grasses.
Orange	Masque cheveux et visage à la poudre d'orange.

II.1.2. Aromathérapie

L'aromathérapie est une discipline utilisant les huiles essentielles provenant de plantes dites « aromatiques » [39].

II.1.3. Liste des plantes aromatiques et leurs vertus

Le suivant tableau présent quelque plantes aromatiques et ces applications thérapeutiques.

Tableau II-02 : Liste des plantes aromatiques et leurs vertus

Plantes aromatiques	Nom vernaculaire	Nom scientifique	Familles (APG III)	Vertus
Persil	المعدنوس	PetroselinumCrisp um	Apiacées	Il protège les cellules contre le vieillissement, il nous apporte de grandes quantités de vitamine C qui aident à fortifier le système immunitaire.
Basilic	الخبق	Ocimum Basilicum	Lamiacées	Il améliore la santé respiratoire, il protège les reins, il soulage les maux de tête
Ail	الثوم	Allium Sativum	amaryllidacée	Il aiderait à prévenir certains cancers, fluidifierait le sang et favoriserait la digestion
Citronnier	القارص	Citrus Limon	Rutacées	Perte de poids, ralentir la progression du cancer
Menthe Poivrée	النعناع	Mentha ×Piperita	Lamiacées	Troubles digestifs, urinaires, toux et rhume
Armoise	الشيح	ArtemisiaVulgaris	Astéracées	Soulage les troubles digestifs, stimule la sécrétion du suc gastrique.

II.1.4. Quelques plantes aromatiques



a- Persil (*PetroselinumCrispum*)



b-Fenugrec (*TrigonellaFoenum- Graecum*)



c- Laurier Noble (*LaurusNobilis*)



d-Lavande (*LavandulaAngustifolia*)

Figure II-01: Quelque type de plante aromatique.

II.2.Les huiles essentielles

II.2.1.Définition

Les huiles essentielles sont des assemblages de molécules diverses ayant chacune leurs propriétés particulières .Ce sont des principes volatils et odoriférants sécrétés puis excrétés par les plantes aromatiques. L'huile essentielle est le produit de la distillation obtenue par entraînement à la vapeur d'eau d'une plante aromatique ou par expression du péricarpe des certains fruits de la famille des Citrus [40].

L'aromathérapie est l'usage des huiles essentielles des plantes médicinales aromatiques dans un but thérapeutique. Elle est autant préventive que curative [41].

II.2.2. De la plante aromatique à l'huile essentielle

Les essences végétales sont élaborées par les plantes aromatiques au sein des cellules excrétrices. Leur élaboration est totalement tributaire des facteurs environnementaux, en particulier du rayonnement solaire, en l'absence desquels le rendement en principes aromatiques et leur nature même sont affectés [42].

II.2.3. Classification

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des chromatogramme classent les huiles essentielles comme suit:

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains [43].

II.2.4. Domaine d'utilisation

Les huiles essentielles sont étroitement liées à l'histoire de l'humanité. En effet depuis les anciennes civilisations, l'homme utilise les substances odorantes à chaque instant de sa vie quotidienne, les principaux domaines d'application étant les suivants :

II.2.4.1. L'alimentation

Les huiles essentielles entrent dans la composition des aliments sous formes d'aromates ou d'épices et parfois comme condiments. C'est le cas des *Ocimum* (les basilics), du *Zingiber officinalis* (gingembre), du *Petroselinum crispum* (persil), des piper (poivre), des extraits des *Citrus*.

II.2.4.2. L'industrie cosmétique

C'est l'un des plus grands consommateurs des substances odorantes. En effet, les produits de toilettes (parfums, savons, laits, shampoings, pâtes et poudres, dentifrices), seront appréciés selon leur fragrance. L'homme étant toujours à la recherche de sensations nouvelles, les industries de la parfumerie et la cosmétique utilisent abondamment les substances odorantes volatiles pour l'élaboration des gammes de produits de plus en plus diversifiés.

II.2.5. Compositions chimiques

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est

fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle [44].

C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures non aromatiques), c'est-à-dire dérivés de l'isoprène et non du benzène, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, ester) [45].

II.2.6. Les différentes molécules aromatiques

Les huiles essentielles sont composées de différentes molécules que l'on dit aromatiques, car elles sont très odorantes. Les molécules présentes et leurs proportions modifient les propriétés, le champ d'action et la toxicité des huiles. Il est donc très important de connaître la composition d'une huile essentielle avant de l'utiliser. C'est indispensable pour la sécurité, mais aussi afin d'obtenir l'effet recherché. Elles sont le plus souvent composées de quelques molécules présentes en grande quantité et complétées par beaucoup d'autres, à l'état de traces [46].

➤ Terpènes

Les mono-terpènes sont des décongestionnants respiratoires et lymphatiques. En diffusion, ils sont très efficaces comme antiseptiques. Ils sont irritants pour la peau et doivent par conséquent être dilués. Les sesquiterpènes sont généralement présents à l'état de traces. Ce sont des hypotenseurs, des calmants et des sédatifs. Ils ne sont pas irritants.

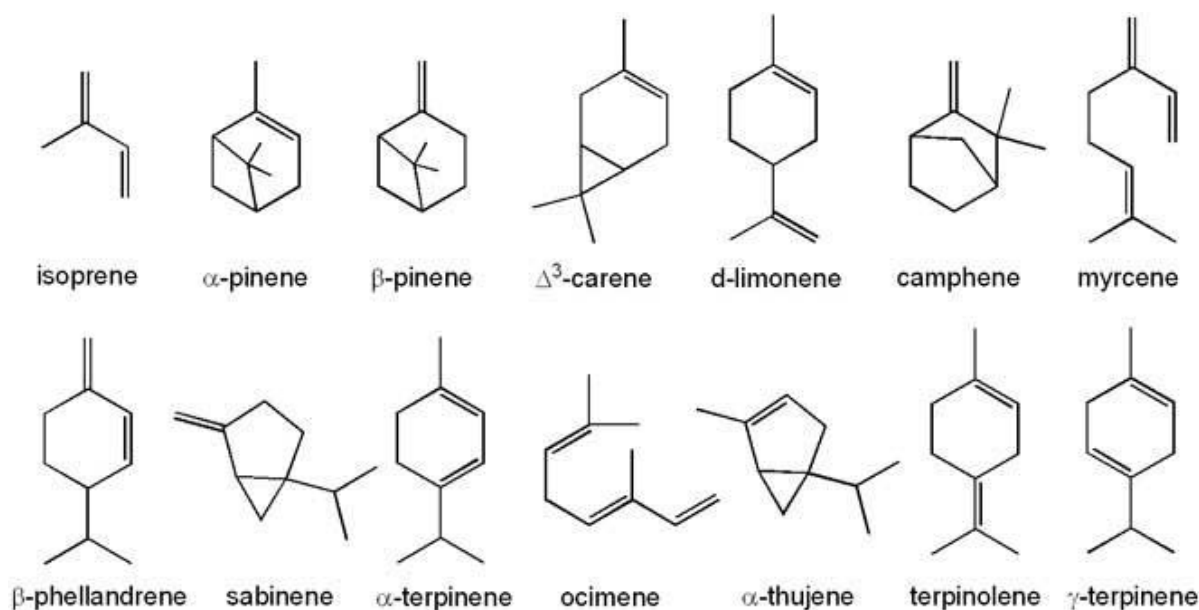


Figure II-02: Quelques exemple de terpène

➤ **Lactones**

Comme les cétones, les lactones sont souvent retrouvées à l'état de traces dans les huiles essentielles, mais elles sont très toxiques, et leurs contre-indications sont identiques. On les utilise pour traiter des pathologies à production de mucus, comme la bronchite.

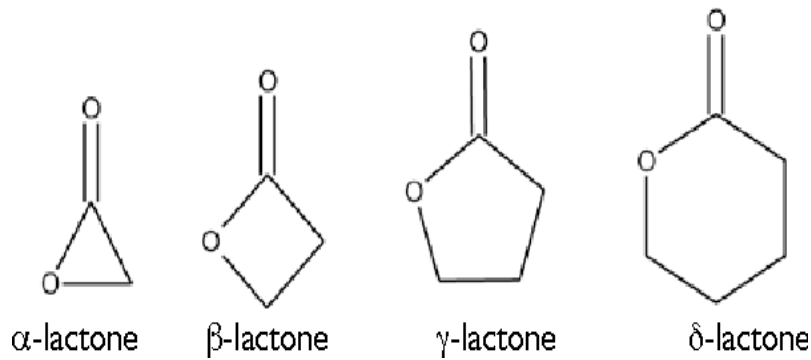


Figure II-03: Les types de lactones

➤ **Coumarines**

Si les coumarines sont souvent présentes à l'état de traces, elles sont cependant très efficaces. Elles ont des propriétés calmantes pour ce qui concerne le système nerveux. Elles sont néanmoins photo sensibilisantes.

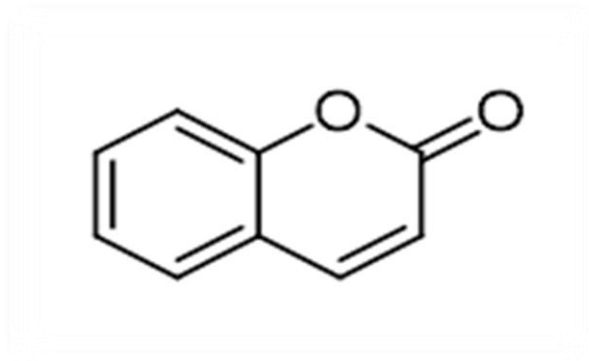


Figure II-04: Structure chimiques de Coumarines

II.2.7. Techniques d'extraction

A l'heure actuelle, seules 3 méthodes d'obtention d'HE à usage thérapeutique sont autorisées par la pharmacopée : l'entraînement à la vapeur d'eau, la distillation sèche et l'expression à froid pour les HE des péricarpes des plantes du genre Citrus [47].

➤ **Entraînement à la vapeur d'eau**

Il s'agit en général d'une cuve en métal inerte comme le cuivre ou l'inox avec un tamis au fond pour que les végétaux ne soient pas en contact direct avec l'eau. La vapeur générée traverse le végétal et arrache par les micros gouttelettes d'huile essentielle. Cette vapeur d'eau chargée est refroidie dans un serpentin par un circuit d'eau froide, retourne donc à l'état liquide pour se séparer dans l'essencier ou vase florentin. L'HE étant hydrophobe et souvent moins dense que l'eau, surnage dans la majorité des cas à sa surface et est recueillie après décantation, grâce à un vase florentin ou essencier [48].

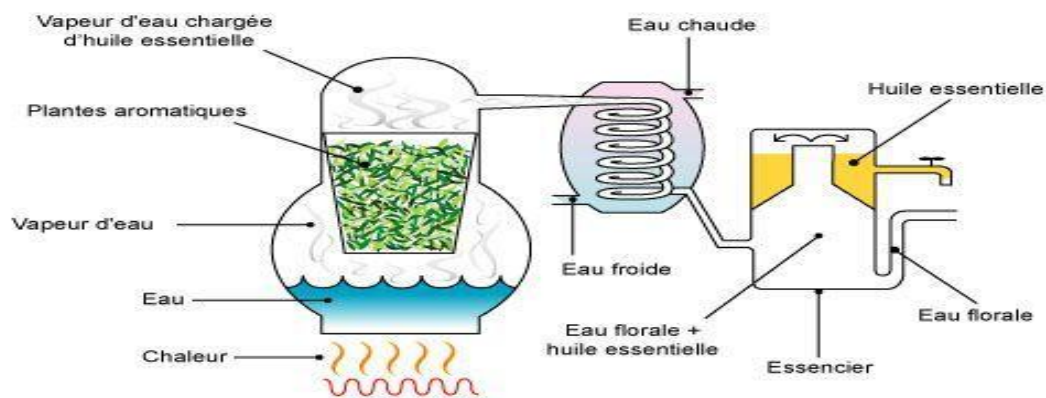


Figure II-05 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau

➤ **Distillation sèche**

Lors d'une distillation sèche, la plante n'est pas en contact direct avec l'eau. La masse végétale est disposée sur une plaque perforée et de la vapeur d'eau y est injectée au travers. Il est possible de travailler en surpression modérée (de 1 à 3 bars) afin de gagner en temps et en énergie mais la qualité de l'HE peut en suffire [49]. Cette méthode est utilisée pour les écorces, bois et racines.

II.2.8. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles

D'autres méthodes ne sont autorisées par la pharmacopée européenne pour obtenir une HE de qualité pharmaceutique.

a-Hydro-distillation

On peut citer :

- **Hydro-distillation sous pression** : Bien que ce procédé conduise à une amélioration du rapport d'entraînement, donc, à des économies d'énergie, l'influence d'une température élevée (supérieure à 100°C) sur la qualité de l'huile essentielle donne lieu à certains artefacts.
- **Système de thermo-pompage** : Consiste à pomper la chaleur du condenseur et à l'utiliser pour la production de vapeur. Les économies d'énergie calorifique et d'eau de refroidissement se situeraient entre 60 et 90%.
- **Turbo-distillation** : Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation [50].
- **Hydro-distillation par micro-ondes** : Méthode très rapide (temps de travail divisé par 5 à 10 par rapport à l'hydro-distillation traditionnelle), peu consommatrice d'énergie (température plus basse) et de qualité supérieure à l'hydro-distillation traditionnelle. Elle consiste à chauffer sélectivement une plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est diminuée de façon séquentielle : l'HE est alors entraîné dans un mélange azéotrope formé par la vapeur d'eau de la plante traité (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais) [51].

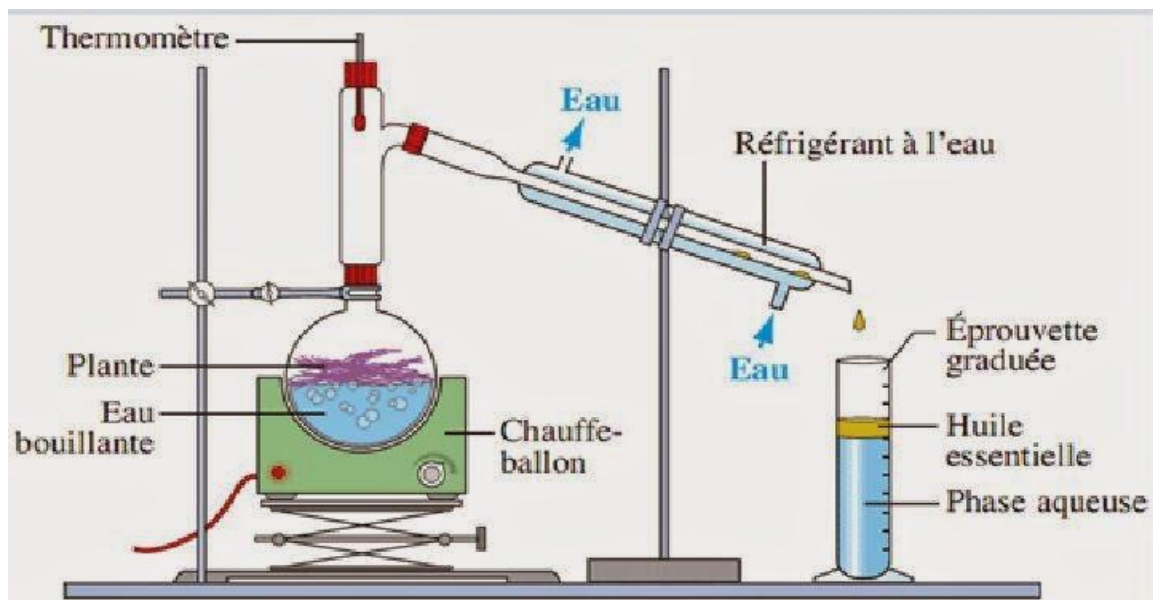


Figure II-06 : Schéma d'un montage d'hydro-distillation.

b-Percolation ou hydro-diffusion

La percolation est une méthode consistant à envoyer la vapeur d'eau de haut en bas et non de bas en haut comme pour la distillation. Cette méthode a l'avantage d'être plus rapide et donc moins préjudiciable à la qualité des substances aromatiques. Cependant, la percolation possède l'inconvénient de charger les HE en substances non volatiles. Il en résulte des « essences de percolation » et non des HE à proprement parler [52].

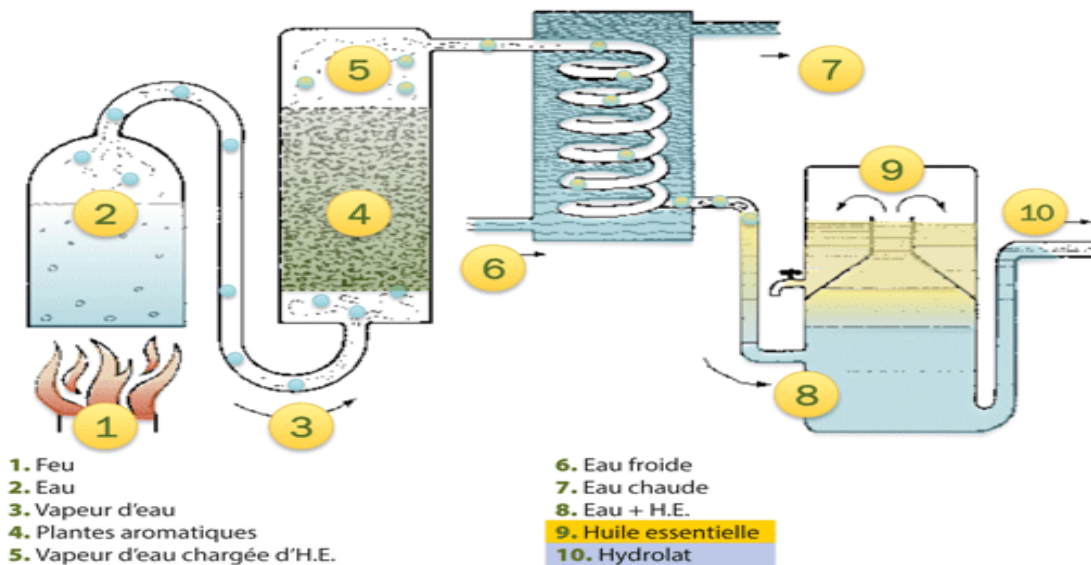


Figure II-07 : Extraction des huiles par L'hydro-diffusion

II.2.9. Contrôle de qualité des huiles essentielles

Selon la pharmacopée, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques: indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés. Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement «végétale », contrairement aux essences synthétiques ou «identiques naturelles» intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse [53].

II.3.Plante étudié : *L'Ephédra sinica*

II.3.1.Généralités sur la plante *Ephédra*

La famille des Ephédraceae représentée par le seul genre *Ephédra* inclue environ 40 espèces dans le monde est représentée par des arbustes dioïques vivaces à rameaux articulés, qui peuvent atteindre 1 à 3 mètre de haut, avec de minces tiges dressées, verts jaunâtres, intersectées et légèrement nervurées, à canalicules de 1,5 mm de diamètre et qui se termine par une pointe souvent acérée. Au niveau des nœuds, qui sont écarté de 4 à 6 cm, les feuilles réduites en écailles apparaissent triangulaires qui se développent en paires opposées ou en verticilles de trois, donnant à la plante l'aspect d'un arbuste sans feuille. De petites fleurs apparaissent en été [54]. Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes et qui poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Egypte, le Moyen-Orient, en Europe et dans les Amériques. La figure 09 montre la répartition du genre *Ephédra* dans le monde [55].

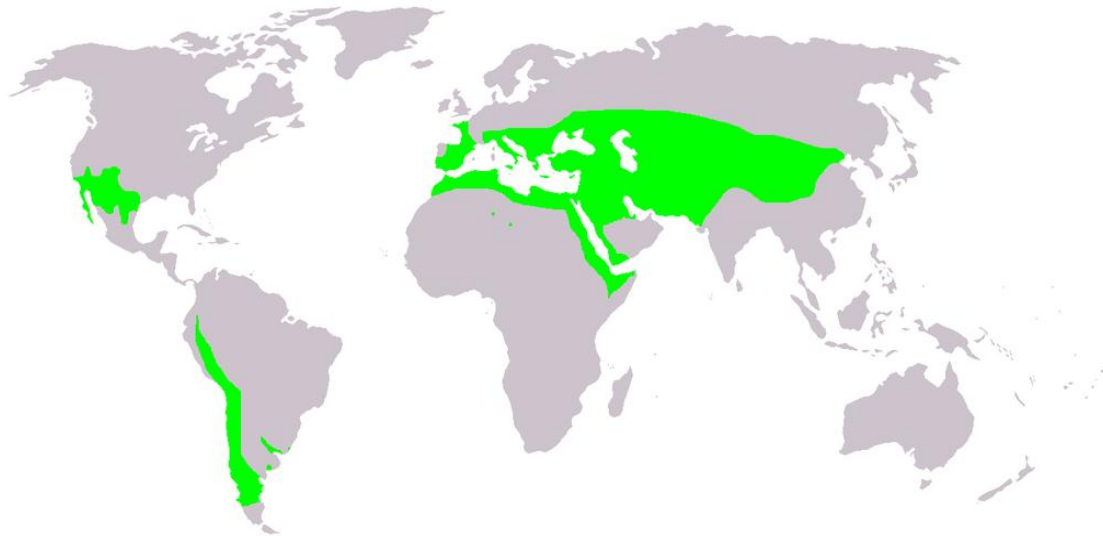


Figure II-08: Répartition géographique de *l'Ephédra* dans le monde.

II.3.2.L'*Ephédra sinica*

L'éphédra chinois ou ma huan est une espèce de plantes gnétophytes (gymnospermes, class des Equisetopsida) de la famille des Ephedraceae , originaire d'Asie de l'Est.

Elle est inscrite depuis des millénaires dans la pharmacopée chinoise pour ses propriétés stimulantes [56].

II.3.3. Classification systématique d'*Ephédra sinica*

Règne : plantae

Class : Equisetopsida

Sous – class : Gnetidae

Ordre : Ephedrae

Famille : Ephedraceae

Genre : Ephédra

Espèce : *Ephédra sinica*

II.3.4. Description botanique

L'Ephédra sinica est un sous-arbrisseau, pouvant atteindre 40 cm de haut, à l'aspect de « balai de sorcière ». La plante est peu ramifiée, à tiges ligneuses, anguleuses, courtes ou prostrées, avec des ramifications droites ou incurvées parfois légèrement enroulées. Les entre-nœuds, de 3 à 4 cm de long sur environ 2 mm de diamètre, sont superficiellement sillonnés. Les feuilles, réduites, sont opposées, cannelées sur un tiers à deux tiers de leur longueur, la partie libre, subulée à étroitement triangulaire, à l'apex très pointu, a moins de 5 mm de long². Les cônes mâles, à pollen, solitaires ou groupés en grappes aux nœuds, rarement terminaux, sont sessiles ou pédonculés. Ils présentent 4 paires de bractées à marge très étroite, membraneuse, à l'apex obtus ou subaigu, et 7 ou 8 anthères sessiles ou peu stipitées. Les cônes femelles, à graines, terminaux ou axillaires, sont solitaires, ovoïdes-oblongs- ou su globuleux, et ont environ 8 mm de long à maturité. Ils présentent 4 paires de bractées, cannelées sur un tiers à trois quarts de leur longueur, qui deviennent rouges et charnues à maturité. Les graines, généralement au nombre de 2, sont rouge-noirâtre ou brun-grisâtre [57].



Figure II-09 : Plante *Ephédra sinica*

II.3.5. Distribution géographique

L'espèce *Ephédra sinica* est une plante médicinale appartenant au genre *Ephédra* originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite. Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Égypte et l'Arabie. En Algérie, elle se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert [58].

II.3.6. Usage traditionnelle

On a trouvé de l'éphédra parmi une série de plantes médicinales sur un site archéologique datant du Néandertal (il y a 60 000 ans). En Inde ancienne, le jus d'éphédra était appelé *soma* et on le consommait pour s'assurer la longévité.

Ce sont assurément les Chinois qui ont développé, de la manière la plus systématique, l'usage médicinal de *l'éphédra*.

En Médecine traditionnelle chinoise (MTC), la plante est, depuis plus de 5 000 ans, un ingrédient de plusieurs préparations de la pharmacopée traditionnelle. Elle n'est jamais prise seule, mais plutôt en association avec plusieurs autres ingrédients, comme c'est généralement le cas en pharmacopée chinoise. Par exemple, dans la préparation Yi Yi RenWan, qui est indiquée dans certains cas de polyarthrite rhumatoïde, l'éphédra a pour rôle de contribuer à dissiper tout œdème qui se serait formé dans les articulations, mais son action est complétée et équilibrée par six autres plantes.

Selon la MTC, elle est utile pour traiter les infections respiratoires, l'asthme, l'eczéma, la rhinite allergique (rhume des foins), l'œdème et la narcolepsie. La médecine kempo (Japon) reprend systématiquement les usages médicaux et les formules de la MTC. Quant à la médecine ayurvédique (Inde), elle reconnaît depuis longtemps l'utilité de l'éphédra pour traiter l'asthme, les spasmes, le rhume des foins et les allergies.

En 1887, des chercheurs japonais isolaient l'éphédrine, l'un des principaux alcaloïdes de l'éphédra, qui renferme également de la pseudo éphédrine, un alcaloïde semblable au premier. Les deux substances sont rapidement devenues populaires pour traiter l'asthme et la congestion nasale [59].

II.3.7. Usage pharmacologique

Il est mentionné dans le premier ouvrage de matière médicale, le Classique de la matière médicale du Laboureur Céleste, compilé au 1^{er} siècle de notre ère⁶. A la même époque, en Europe, le grec Dioscoride mentionne l'usage thérapeutique d'éphédra (probablement *E. major*) et le romain Pline l'Ancien se fait aussi l'écho de ces prescriptions.

Certains pensent que cette drogue pourrait être le fameux *soma* (religion indo-européenne), tandis que d'autres penchent pour l'amanite tue-mouches, les parties utilisées sont surtout les feuilles et la tige.

La médecine chinoise traditionnelle l'utilise contre l'asthme et les crises de bronchite aiguë. C'est un produit piquant chaud qui libère le bio vent froid. Sa principale propriété est qu'il permet de faire la sudorification.

Dans les pays occidentaux, c'est comme énergisant qu'on utilise l'*éphédra*, pour perdre du poids. De nos jours, *Ephedrasinica* est considérée en Europe comme obsolète, même chez les médecins avec une orientation phytothérapeutique. Il existe en effet pour le traitement des troubles concernés des médicaments modernes, en partie dérivés de l'éphédrine, dont le rapport bénéfice risque est meilleur que celui de *Ephedra sinica* [60].

II.3.8. Composition chimique

Le genre *Éphédra* est l'un des rares plantes à produire les alcaloïdes. Les espèces de ce genre contiennent notamment des alcaloïdes, du type « éphédrine », ayant une importance biologique certaine : éphédrine, pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthylpseudoéphédrine.

D'autres composés chimiques sont également présents, notamment des kynurénates, des acides citrique, oxalique et malique, des saponines, des cristaux d'oxalate de calcium et des traces de minéraux. Les composés volatils présents dans ces plantes sont principalement représentés par des trapézoïdes qui peuvent servir de marqueurs chimio taxinomiques.

II.3.9. Molécules actives (Ephedrine)

En médecine classique, on a utilisé l'éphédrine, principale substance active de l'éphédra, pour traiter l'asthme parce qu'elle agit comme bronchodilatateur. À l'époque où on la prescrivait couramment à cette fin, les bronchodilatateurs de synthèse courants présentaient sensiblement les mêmes effets indésirables que l'éphédrine, ce qui ne serait plus le cas des nouvelles générations de médicaments pour asthmatiques. Cet usage de l'éphédrine est aujourd'hui désuet.

La pseudoéphédrine, une autre substance présente en quantité importante dans l'éphédra, est encore de nos jours utilisée pour la préparation de médicaments en vente libre destinés à combattre la congestion nasale. C'est le seul usage autorisé des produits en vente libre et il est soumis à des dosages restreints.

En obstétrique, l'éphédrine est également utilisée en intraveineuse pour éviter les chutes de tension artérielle pendant les accouchements difficiles, lorsqu'on administre une épidurale ou en cas de césarienne[61] .

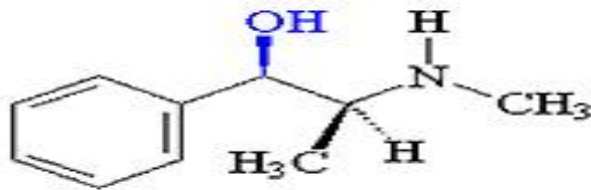


Figure II-10: Structure chimique d'éphédrine



Chapitre III : Capacité anti-oxydante



Sommaire

- ✓ Le stress oxydatif
- ✓ Les radicaux libres
- ✓ Les antioxydants.....
- ✓ Les mécanismes d'action des antioxydants
- ✓ Tests expérimentaux de la 'activité antioxydants'



Ce troisième chapitre détaillera le stress oxydatif et leurs conséquences biologiques, les radicaux libres, les antioxydants endogènes et exogènes, ainsi que les tests expérimentaux réalisés pour l'évaluation de l'activité antioxydants.

III.1.Le stress oxydatif

III.1.1.Définition

Est l'agression des cellules par des radicaux libres, aussi appelés «espèces réactives de l'oxygène», qui sont des atomes ou des molécules devenus très instables (réactifs) et qui peuvent interagir avec les composants des cellules et les endommager.

Au sein de l'organisme, l'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries, "poumons" de la cellule, qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP. Ce métabolisme induit la production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) en équilibre avec les systèmes antioxydants. Le stress oxydant est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants et leur élimination (les systèmes de défense) [62].

Cette anomalie est :

- La principale raison de la détérioration des cellules.
- Déclenche ou aggrave la majorité des maladies chroniques .
- Déclenche le vieillissement prématuré [63].

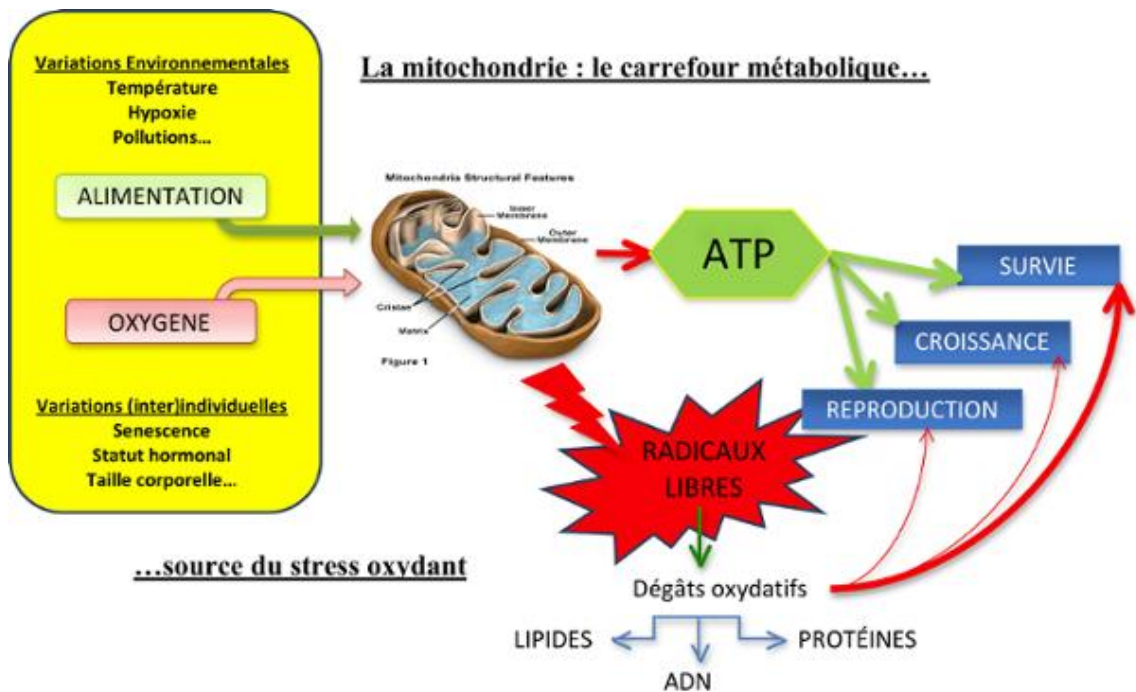


Figure III-1Mécanisme du stress oxydatif

III.2.Radicaux libres

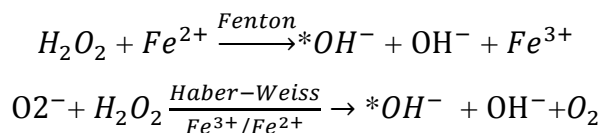
Après la découverte du radical superoxyde par McCord et Fridovich en 1968, les travaux sur les radicaux libres (R^*) se sont multipliés dans des domaines aussi variés que la biochimie, la physiopathologie et la physiologie de l'exercice [64]. Les radicaux libres (R^*) sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe [65].

Ce sont des espèces chimiques, capables d'existence indépendante, qui peuvent être formées par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre, donc sont des espèces chimiques instables, très réactives. Et possèdent un temps demi-vie extrêmement court: 10^{-9} jusqu'à 10^{-6} seconds [66].

III.2.1.Différentes types

Les espèces radicalaires les plus importantes en biologie sont les radicaux libres oxygénés (RLO) et le monoxyde d'azote (NO)[67].

Les radicaux libres impliquant un ou des atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Tableau II-1). L'anion superoxyde (O_2^-) est la forme primaire des ERO et est formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le radical peroxy ($ROO\cdot$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non appariés. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote, le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) et le peroxy-nitrite ($ONOO\cdot$) étant deux espèces bien connues, Le radical $\cdot OH$, considéré comme un des plus réactifs (durée de vie limitée à quelques nanosecondes) est obtenu par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss mettant en jeu l' H_2O_2 et l' O_2^- . Elles sont catalysées par le fer:



Le fer est essentiel dans les processus d'oxydation soit indirectement en catalysant les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss soit directement sous la forme d'espèces de type ferry ou perferry ($Fe^{3+}O_2^-$).

Tableau III-01 : Les espèces réactives de l'Oxygène

Empèces réactives de l Oxygène	Réaction
Anion super oxyde	$O_2^- + e^- \rightarrow O_2^{2-}$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2 + O_2^- + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$
Radical hydroxyle	$HO^- + H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^- + OH^- + Fe^{3+}$ $H_2O_2 + O_2^- \rightarrow O_2 + OH^- + OH^-$ $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow 2 H_2O + GSSG$
Radical hydroxyle	$RO_2R + O_2 \rightarrow RO_2$
Hydroperoxyde	$RO_2H + RH \rightarrow RO_2H + R\cdot$

La réaction (1) correspond à la réaction de Fenton, et la réaction (2) à la réaction d'HaberWeiss. O_2 : oxygène ; e^- : électron ; H^+ : ion hydrogène ; Fe^{2+} : ions ferreux, Fe^{3+} : ions ferriques, GSH : glutathion réduit ; GSSG : Glutathion oxydé ; HO^- : anionhydroxyle

III.2.2. Origine des radicaux libres

Les ERO peuvent avoir différentes sources cellulaires, mais la mitochondrie représente une source importante [68].

➤ Les sources endogènes

Se situent au niveau des chaînes respiratoire de la mitochondriales des cellules aérobies de l'organisme (NADH déshydrogénase) [69]. Les radicaux libres peuvent également être formés au niveau du réticulum endoplasmique. Dans le muscle, les sites de production sont aussi les lysosomes, les peroxysomes, le réticulum nucléaire et sarcoplasmique, le sarcolemme et le sarcoplasme.

➤ Les sources exogènes

Sont multiples : l'oxygène et les radiations (ultra-violets, rayons gamma) et certains toxiques comme la bléomycine, le benzopyrène, les polluants atmosphériques, pour n'en citer que quelques-uns [70].

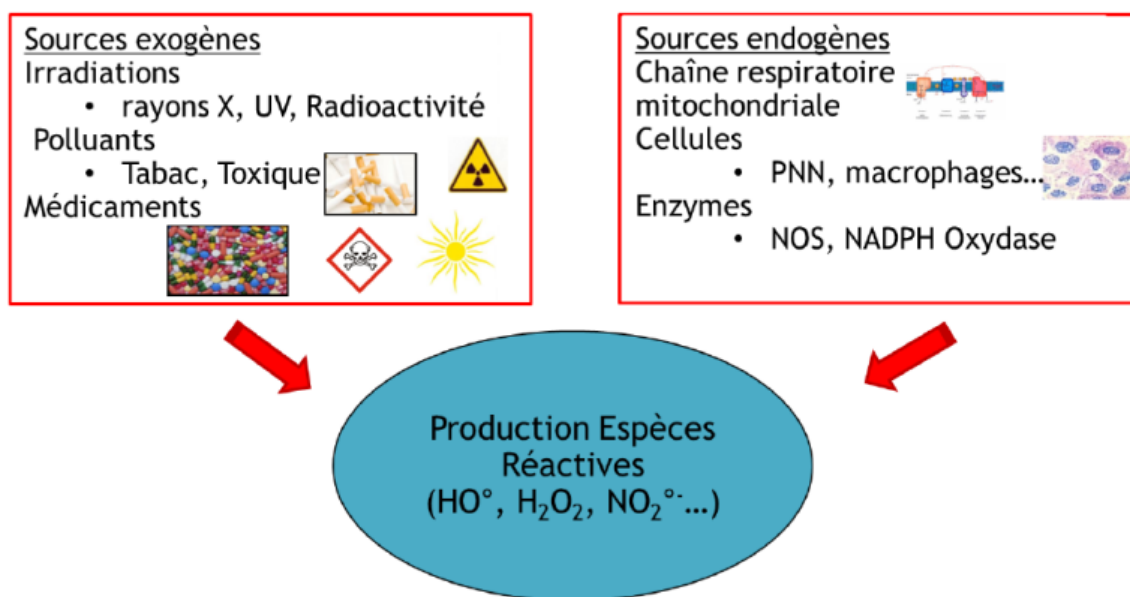


Figure III-02 : Les origines des espèces réactives à l'oxygène

III.3. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [71].

Il peut donc :

- prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles décrites ci-dessus.

Ou

- désactiver directement les ROS.

Les antioxydants sont classés en deux systèmes de défense différents en fonction de leur origine, le système de défense endogène et le système de défense exogène [72].

III.3.1. Origine

L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée. De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte antioxydante. Nous les trouvons dans les fruits (pommes, poires, fruits rouges...), les légumes (brocoli, oignon...), les boissons (café, thé, vin...) ainsi que dans les épices, le cacao ou encore les céréales. Ces antioxydants sont surtout connus pour leur capacité à

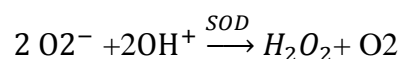
réagir directement réagir avec les radicaux libres en les « neutralisant » par réaction de réduction.

III.3.2. Les antioxydants enzymatiques (endogènes)

Le superoxydedismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), sont enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de l'O₂ et du H₂O₂, conduisant à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire [73].

III.3.2.1. Superoxydedismutase (SOD)

Comme son nom l'indique, la superoxydedismutase (SOD), qui existe sous différentes formes, est une enzyme qui accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :

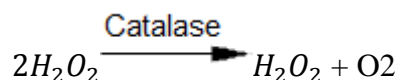


Cette enzyme existe en trois types:

- La SOD à cuivre et à zinc (Cu/Zn-SOD) ou (SOD1) localisée dans le cytosol des cellules eucaryotes et dans les globules rouges
- La SOD à manganèse (Mn SOD) ou (SOD2), située dans la membrane mitochondriale interne [26].
- La SOD à cuivre et à zinc extracellulaire (Cu Zn SOD) ou (SOD3) a été découverte chez l'homme dans le sérum, la lymphe et le liquide Synovial [74].

III.3.2.2. Les catalases

Les catalases sont des enzymes héminiques localisés dans les érythrocytes et les tissus à métabolisme élevé comme le foie, les reins et le cœur, mais ils existent en fortes concentrations dans les peroxysomes, elles agissent en synergie avec la SOD puisque leur rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction suivante [75]:



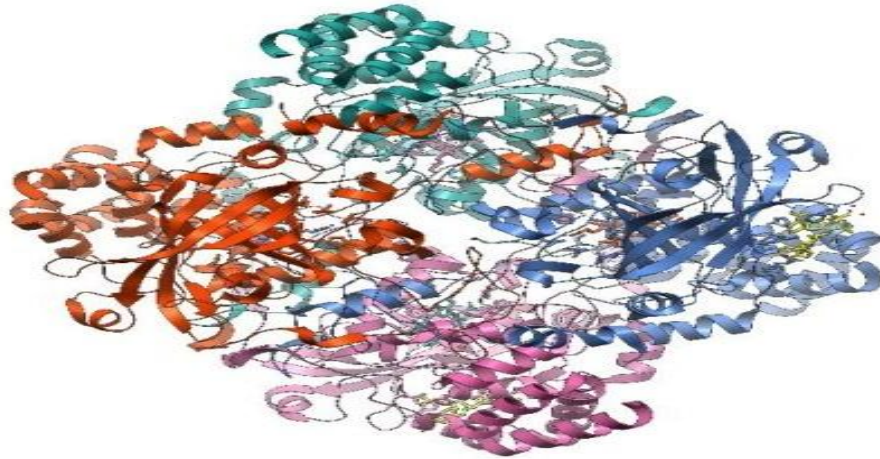


Figure III-3 : Structure tridimensionnelle de la catalase

III.3.2.3. Glutathion peroxydase et glutathion réductase

La glutathion peroxydase (GSH-Px) est une enzyme à sélénium ayant la propriété de pouvoir catalyser la réduction des hydrox peroxydes. Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries.

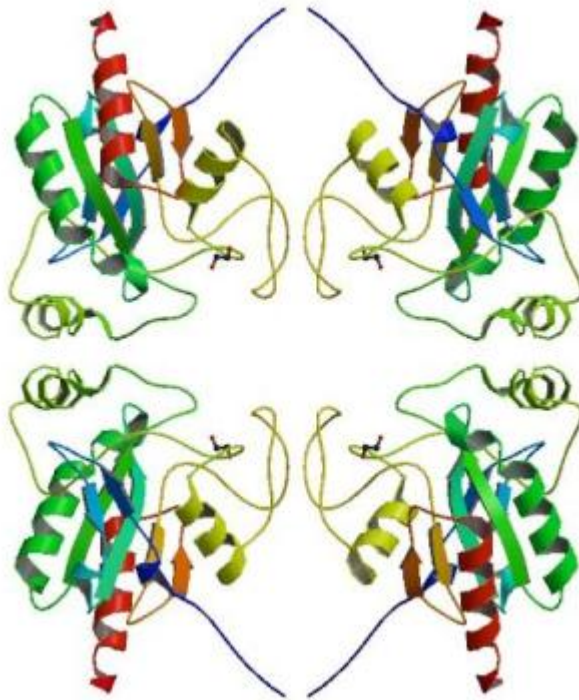


Figure III-4 : Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase

III.3.2.4 Thiorédoxine (TRX)

Cette enzyme à une structure proche de celle de la glutathion réductase. Elle consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement et joue un rôle protecteur contre une

grande variété de stress oxydatif grâce à ses propriétés de capture des radicaux libres (Figure III-5), [76].

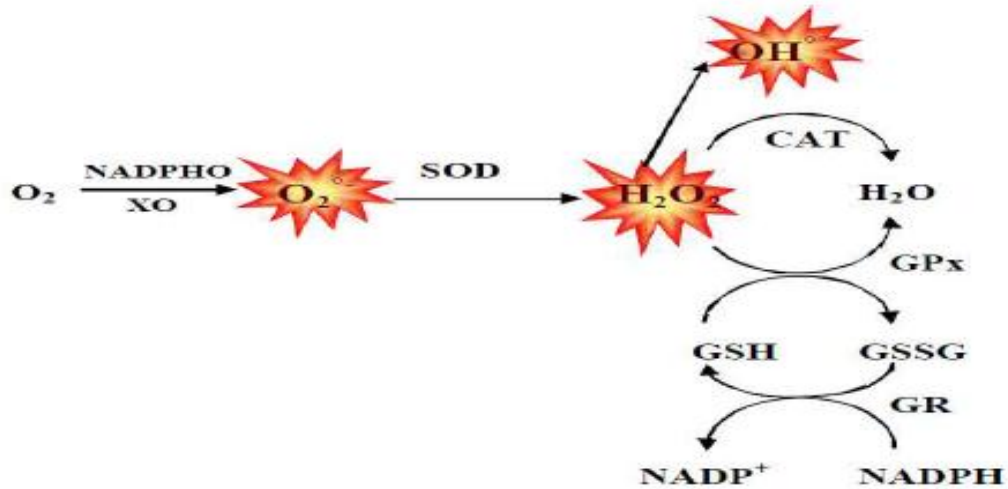


Figure III-5: Système antioxydant enzymatique

III.3.2.5. La bilirubine

La bilirubine est également considérée comme un membre de la famille antioxydant, contre des radicaux de peroxy. Dans le plasma, elle peut agir synergique avec la vitamine E de protéger des membranes contre la peroxydation lipidique, peut agir *in vivo* comme l'extracteur efficace du ROS et joue un rôle physiologique principal dans le cytoprotection contre des dommages oxydatifs [77].

III.3.3. Les antioxydants non enzymatiques (exogènes)

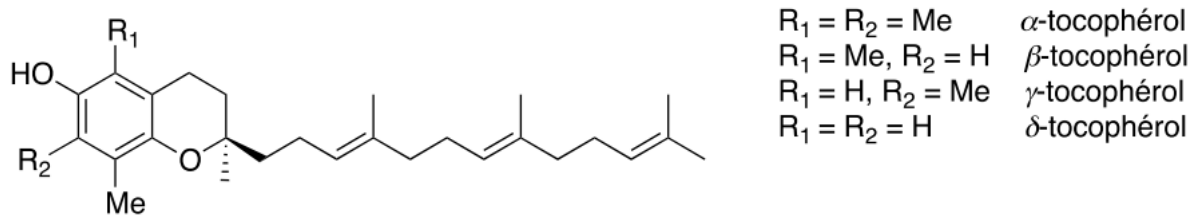
Un certain nombre de substances d'origine alimentaire telles que la vitamine E et C, les carotènes et les poly phénols s'opposent à la propagation des radicaux libres, très souvent en formant à partir d'un radical très réactif un autre radical beaucoup moins réactif. Elles sont capables de neutraliser un seul radical libre par molécule [78].

III.3.3.1. La vitamine E (alpha tocophérol)

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, qui comprend quatre Substances :

L' α -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol). Biologiquement, l' α -tocophérol est la forme la plus active et

la plusefficace [79].



FigureIII-6 : Structure chimiques des vitamines E

III.3.3.2.La vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C ou acide ascorbique à une structure apparentée à celle des sucres à six atomes de carbone [80].

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une molécule hydrophile que l'on retrouve dans de nombreux fruits comme les oranges, les citrons et les fraises. Son caractère hydrophile ne lui permet pas d'avoir une activité intracellulaire [81].

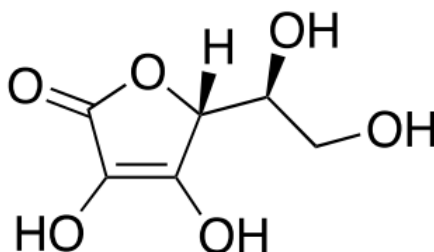


Figure III-7 : Structure chimique de la vitamine C

III.3.3.3.Les caroténoïdes

Les principaux caroténoïdes sont la α - et β -carotène, la lutéine, la zéaxanthine, la crypto xanthine et le lycopene. Certains caroténoïdes préviennent ou contrôlent efficacement.

La génération de radicaux libres notamment en captant l'oxygène singulet, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induit par les rayons ultraviolets de la lumière.

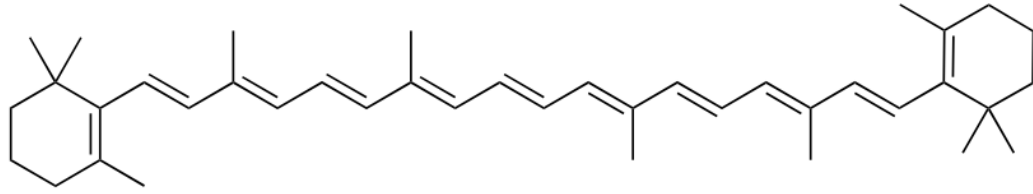


Figure III-8 : Structure chimique de la β -carotène

III.3.3.4 Les oligo-éléments

Les oligo-éléments se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme. L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial. En effet, ils n'agissent pas directement contre les ROS, mais ils sont nécessaires aux enzymes décrites précédemment. Un apport excessif en oligo-éléments peut entraîner de sérieux dysfonctionnements [82].

III.4 Mécanismes d'action des antioxydants

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des RL. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme "antioxydant". Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat, Ces systèmes peuvent être exogènes ou endogènes et sont réagis synergétiquement afin de protéger les cellules vis-à-vis aux ERO[83].

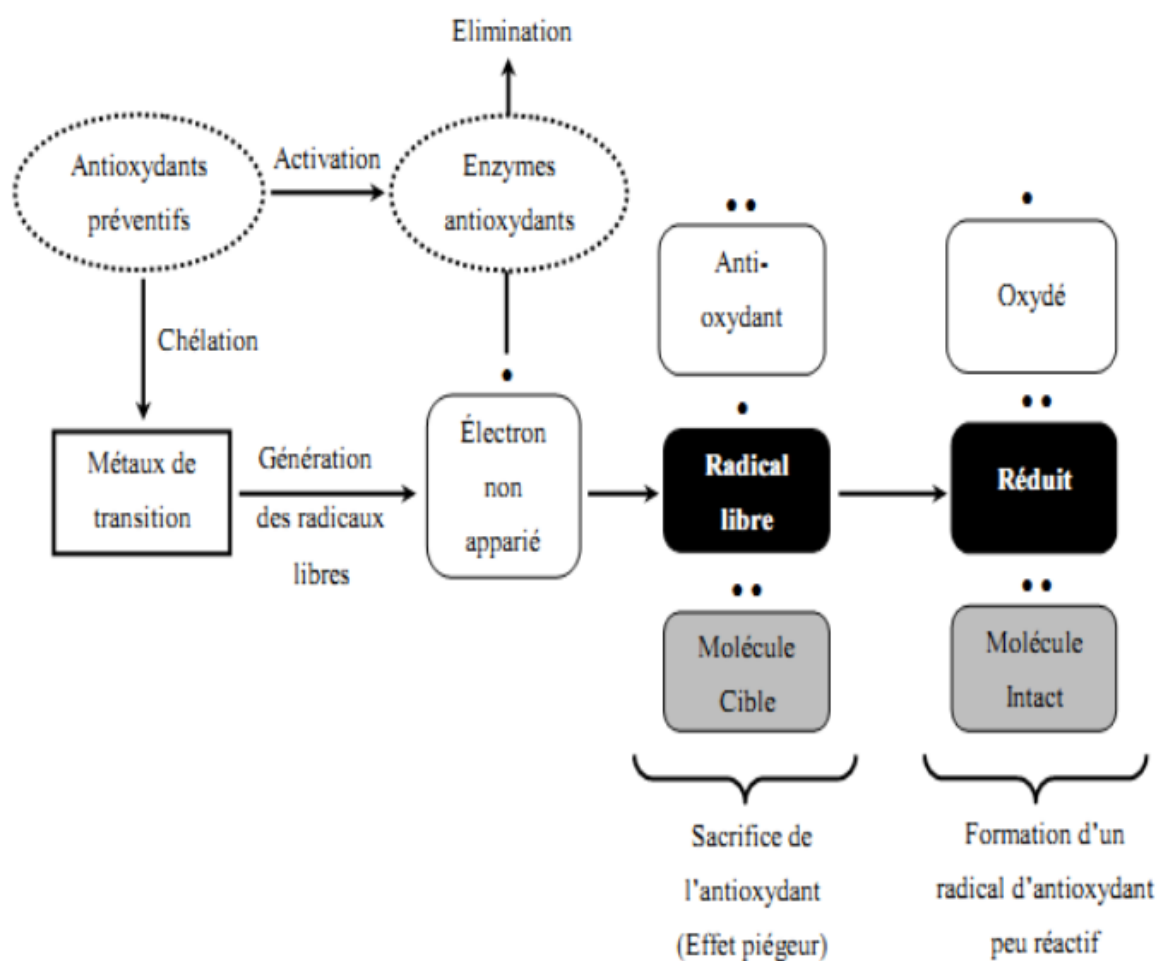


Figure III-9 : Mécanismes d'action des antioxydants

III.5. Tests expérimentaux de l'activité antioxydants

III.5.1. Piégeages du radical libre DPPH

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir anti-radicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle [84].

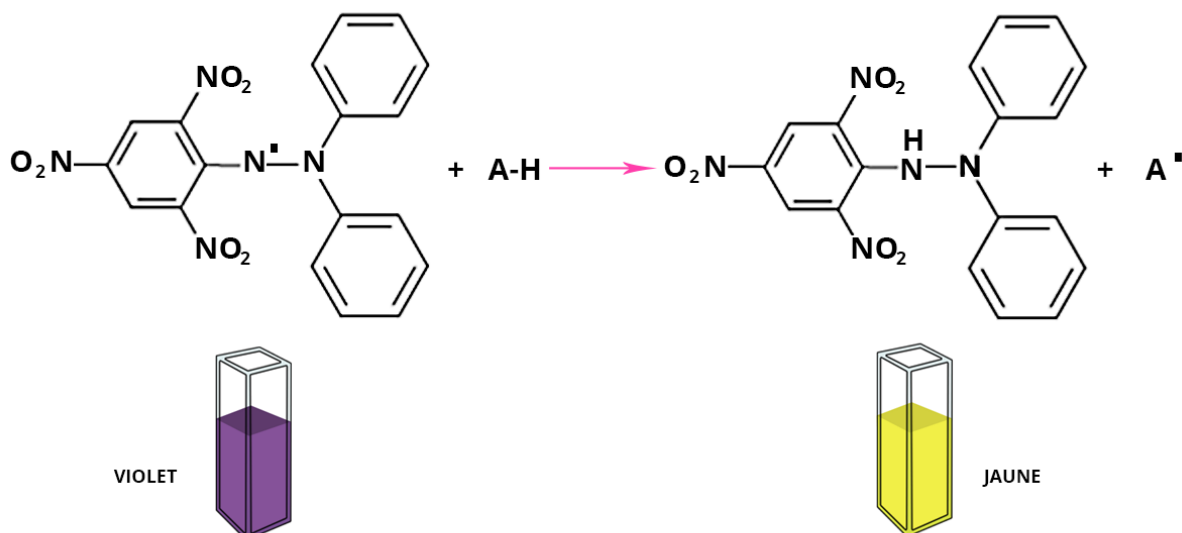


Figure III-10 : Réaction de test DPPH

La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515 nm (λ_{max} DPPH°). La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant [85].

III.5.1.1. Protocol expérimental

- Faire le zéro du spectrophotomètre avec de l'éthanol 96°.
- Dans une première cuve spectrophotométrique, placer 3 ml de la solution fille de DPPH° à $6 \cdot 10^{-5}$ mol/L. Ajouter 77 μL d'éthanol 96°. Mélanger par retournement. Déclencher le chronomètre et mesurer régulièrement l'absorbance à 515 nm (ex : chaque minute pendant 15 minutes puis toutes les 15 minutes). Cette cuve sera appelée cuve témoin et sera conservée à l'obscurité entre deux mesures [86].
- Dans une seconde cuve spectrophotométrique, placer 3 mL de la solution fille de DPPH° à $6 \cdot 10^{-5}$ mol/L. Ajouter 77 μL de solution contenant l'antioxydant (molécule pure ou extrait). Déclencher le chronomètre et mesurer régulièrement l'absorbance à 515 nm (ex : chaque minute pendant 15 minutes puis toutes les 15 minutes jusqu'à atteinte d'une valeur constante). Cette cuve sera appelée cuve échantillon et sera conservée à l'obscurité entre deux mesures.
- Préparer autant de cuves spectrophotométriques que d'échantillons antioxydants à tester (différentes concentrations, différents antioxydants) [87].

III.5.1.2.Méthode de dosage

Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole appliqué en 2007 par Kuramasamy et ses collaborateurs. Brièvement, 1 ml d'une solution méthanoïque de DPPH (0,2 mM) a été mélangé avec 1ml de différentes dilutions des extraits de plante (0-1 mg/ml). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 1ml de la solution de DPPH et de 1ml de méthanol. Les échantillons, les témoins (l'acide ascorbique, la quercétine, le BHA, le BHT, et le torolox) et le banc sont préparés dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\%PI = \frac{\text{Densité optique de blanc} - \text{Densité optique de alanda}}{\text{Densité optique de blanc}} \times 100$$

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC50); la valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC50 est exprimée en µg/ml (3 répétitions pour chaque concentration)[88].

III.5.1.3.Analyse des résultats

- Pour chaque concentration en antioxydant, tracer la courbe représentant l'évolution du DPPH° résiduel en fonction du temps et extraire la valeur atteinte au plateau
- Reporter ces valeurs sur un graphe en fonction de la concentration en antioxydant. Il s'agit de la "courbe effet-dose".
- Déterminer la valeur de "concentration efficace" CE₅₀, concentration en antioxydant nécessaire pour réduire 50% du DPPH° initial. Suivant le type d'antioxydant testé, on exprime la CE₅₀ en mol/L (antioxydant pur) ou en g/L (extraits végétaux) [89].

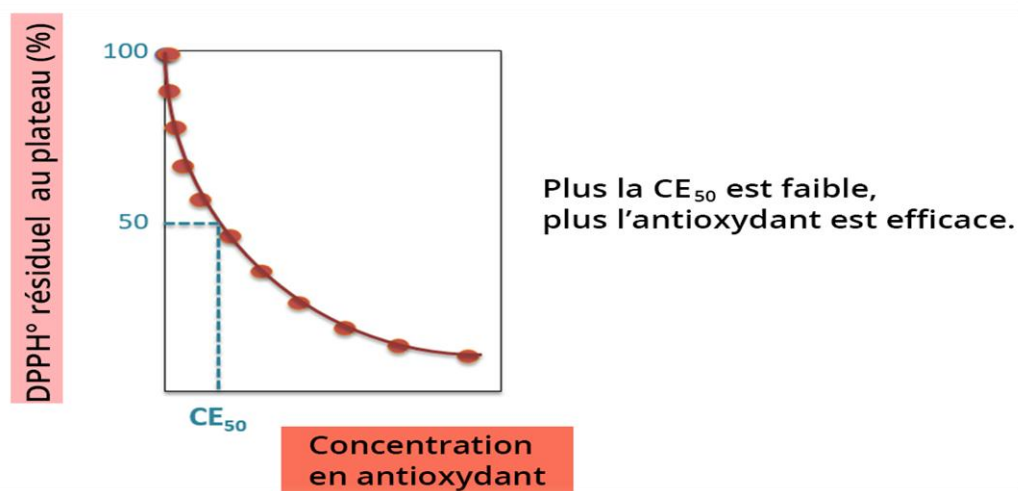


Figure III-11 : courbe représentant l'évolution du DPPH° résiduel en fonction du temps

III.5.2 Autres tests expérimentales de l'activité antioxydants

III.5.2.1. Test de la réduction du fer FRAP

Cette méthode est en tout point complémentaire aux autres tests comme l'ORAC, le TEAC ou le test DPPH.

Principe

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par OYAIZ (1986). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu selon la Figure III-12.

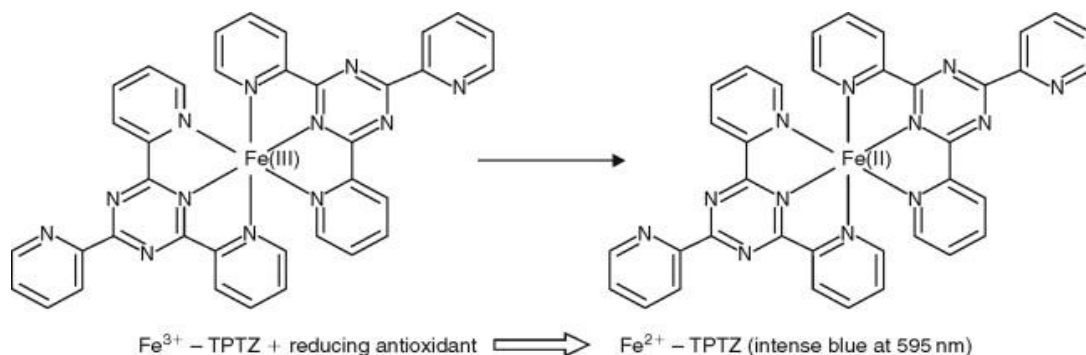


Figure III-12 : Schéma sur la réaction de test FRAP

TPTZ : ferric 2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

Fe²⁺: Ions ferreux.

Fe³⁺ : Ions ferriques [90].

III.5.2.1.1.Méthode de dosage

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer est calculé par la réaction suivant :

$$\text{Pouvoir réducteur de fer (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100.$$

A₀ : est l'absorbance de FeCl₃

A₁ : est l'absorbance de FeCl₃ solution en présence de l'extrait [91].

III.5.2.2.Les méthodes ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)

Principe

La mesure ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) permet de déterminer si une source organique possède un effet antioxydant en le comparant à un analogue de la vitamine E : le trolox. Dans cet essai, l'AAPH (2,2'-azobis-2-aminopropane dihydrochloride) est utilisé comme source génératrice de radicaux peroxy. L'addition de fluorescéine comme sonde fluorescente permet de quantifier, à l'aide d'une analyse spectrophotométrique, en fonction du temps, la perte de fluorescence associée à la réaction avec les radicaux libres fournis par l'AAPH par un mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène. La présence d'antioxydants empêche ou

ralenti la perte de fluorescence qui est calculée par l'aire sous la courbe en fonction du temps. Celle-ci peut être détectée à une longueur d'onde d'excitation de 485 nm et d'émission de 520 nm. Il s'agit donc d'une méthode permettant de mesurer la capacité antioxydant contre les radicaux peroxytes. Lorsqu'un capteur de radicaux libres est incorporé dans le milieu, les radicaux libres sont captés, et la fluorescence persiste, donnant ainsi une idée précise du pouvoir anti-radical libre, donc antioxydant de l'échantillon

(AUC échantillon- AUC blanc) x (molarité du standard)

Valeur relative ORAC =(AUC standard-AUC blanc) x (molarité de l'échantillon)

AUC = Aire sous la courbe

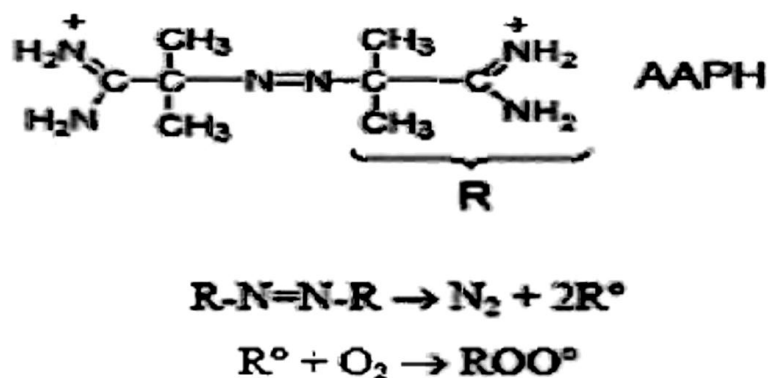


Figure III-13 : Génération de radicaux peroxytes à partir de l'AAPH.

Les méthodes ORAC font intervenir une mesure cinétique afin de déterminer la CA. Des courbes de la dégradation de la molécule cible en présence ou non d'un antioxydant sont tracées en fonction du temps, et l'aire située entre les deux courbes de décroissance est calculée

Les méthodes ORAC ont pour avantage d'être sensibles, standardisées et adaptées aux antioxydants hydrophiles et lipophiles. Elles peuvent aussi être applicables pour évaluer la CA des aliments y compris les extraits de fruits, légumes et les thés aussi que les solutions biologiques comme le plasma sanguin [92].

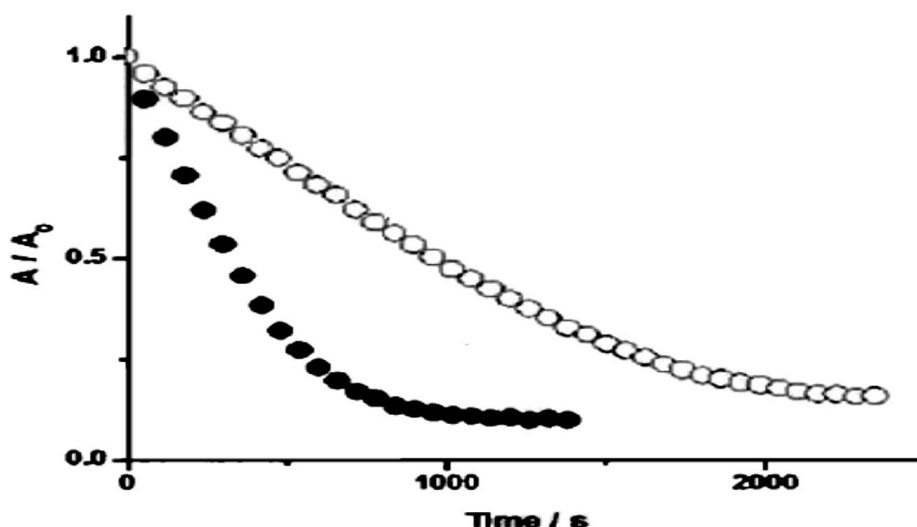


Figure III.14 :Exemple de courbes cinétiques de dégradation de RP en présence (○) et en absence (●) du vin rouge (A/A_0 : absorbance dans le temps/temps 0)

Cependant, les principaux inconvénients de l'utilisation de l'ORAC sont que ces réactions sont sensibles à la température, juste une faible différence de température peut diminuer la reproductibilité de la méthode. Notons aussi que le temps d'analyse est assez important

Malgré ces inconvénients, selon Huang et ses collaborateurs (2005) et United States Département of Agriculture USDA (2007), les méthodes ORAC sont les meilleures pour la mesure de CA, en raison de sa pertinence biologique aux antioxydants in vivo.

Il existe d'autres méthodes utilisant les mécanismes de transfert d'hydrogène (HAT) comme TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter), HORAC (Assay Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity), Chemiluminescence (CL) qui ne seront pas abordées dans cette maîtrise vue que leur réaction de base est similaire à celle d'ORAC. De plus, le temps d'analyse est beaucoup plus important que celui d'ORAC, C.-à-d. la réaction de TRAP est de 300 min [93].

III.5.2.2.1 Méthode de dosage

Ce dosage est basé sur la génération de radicaux libres en utilisant AAPH (2,2 -azo-bis-2 amidopropane dichlorhydrate) et mesure de la diminution de la fluorescence en présence des capteurs des radicaux. Dans cet essai, f3-phycoérythrine (f3 -PE) a été utilisé comme piègeages

des radicaux libres cible, AAPH comme un radical peroxyde générateur et Trolox comme un contrôle standard. après addition de AAPH à la solution d'essai, la fluorescence est enregistrée et l'activité antioxydant est exprimée en équivalent Trolox

Le dosage peut être effectué selon la PIRIOR et *al.* (2003) dans des plaques à 96 puits de fluorescence de polypropylène avec un volume finale de 200 uL. Les analyses sont effectuées à pH 7,0 avec de Trolox (6,25, 12,5, 25, et 50 umol/ L pour les dosages lipophiles ; 12,5, 25, 50 et 100 umol /L pour les dosages lipophiles hydrophile) et 75 mM / L du tampon phosphate comme le blanc. Après l'addition de l'AAPH, la plaque est placée immédiatement dans un compteur à Multilabel préchauffé à 37 C°. La plaque est agitée pendant 10 s et la fluorescence est lue à des intervalles de 1 min pour 35 min à la longueur d'onde d'excitation de 485 nm et une longueur d'onde d'émission de 520 nm. L'aire sous la courbe est calculée pour chaque échantillon en utilisant le logiciel Wallac Workout 1.5. Le calcul final des résultats a été déterminé dans la partie linéaire de la courbe du - désintégration entre blanc et de l'échantillon et / ou standard (Trolox). Les résultats sont exprimés en LM d'équivalents Trolox (TE) par g de poids sec de l'échantillon (IM TE / g) [94].

III.5.2.3.Réduction du radical- cation ABTS ou détermination du TEAC

Comme le test au DPPH, cette analyse simple dans son application est en tout point complémentaire au test ORAC. Elle apparaît toutefois moins sensible que les tests ORAC et DPPH.

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 - éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS^{•+}) :

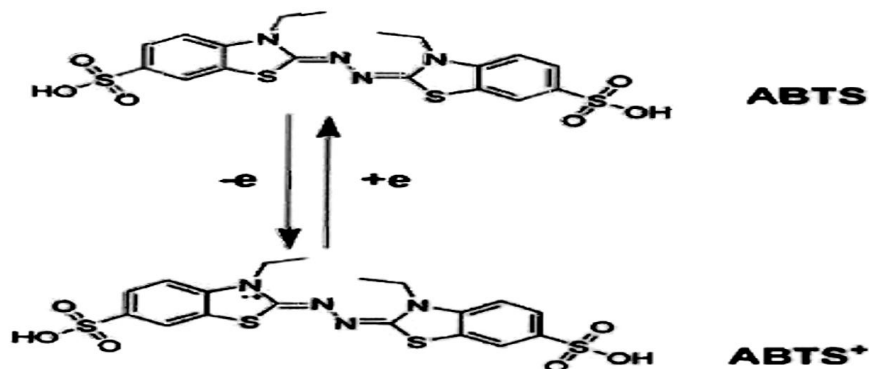
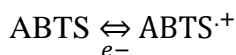


Figure III.15 :Oxydo-réduction de l'ABTS en ABTS^{·+}

Cependant, le principal inconvénient de la méthode TEAC avec l' ABTS est que la méthode est basée sur l'hypothèse que les réactions d'oxydo-réductions se déroulent rapidement, de sorte que toutes les réactions soient terminées entre 4 et 6 minutes. Toutefois, il existe des réactions d'oxydo-réductions plus lentes. Donc la méthode n'est pas adéquate pour toutes les réactions, ce qui peut donner des valeurs de CA erronées si on lit avant la fin de la réaction

Van den Berget et ses collaborateurs (1999) ont conclu que «l'évaluation quantitative de la CA en utilisant la méthode TEAC peut être difficile, voire impossible, mais elle peut être utilisée pour fournir un ordre de classement des antioxydants ».

III.5.2.3.1 Méthode de dosage

Le radical cation ABTS est généré en mélangeant à volume égal une solution de 3 mM de persulfate de potassium $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ et une solution stock d'ABTS à 8 mM, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 16 h avant utilisation (AWIKA et *al.*, 2004). La solution obtenue est diluée avec du tampon phosphate (0,2 M, pH 7,4) contenant 150 mM de NaCl pour obtenir une absorbance de 1,5 à 734 nm. 2,9 ml de cette solution fraîchement préparée sont ajoutés à 0,1 ml d'extrait et la lecture est faite à 734 nm après 30 min pour chaque série d'analyses. Le Trolox est utilisé comme standard et le résultat final est exprimé en micromoles d'équivalent Trolox par gramme de matière sèche.

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

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs blanc}) / (\text{Abs témoin})] \times 100$$

Abs témoin : l'absorbance du radical ABTS⁺ méthanol.

Abs blanc : l'absorbance de l'échantillon ABTS radical + Extrait / standard[95].

III.5.2.4 Capacité antioxydants total (TAC)

Principe

La capacité antioxydant totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

III.5.2.4.1.Méthode de dosage

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95C° pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydant totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS)[96].



Conclusion générale



La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. Elle présente de nombreux avantages qui expliqueraient le retour à son utilisation :

- Au niveau de la santé publique : la phytothérapie évite l'iatrogénie de façon générale, ne génère pas de dépendance médicamenteuse nécessitant un sevrage à l'arrêt du traitement.
- Au niveau écologique et environnemental : les plantes sont prélevées de la nature et retournent après métabolisation dans l'organisme. Au contraire des médicaments provenant de l'industrie chimique, qui accumulent dans l'environnement des substances médicamenteuses potentiellement toxiques.
- Au niveau économique : les produits de phytothérapie sont, en général, bien moins chers que les produits de médecine classique (en particulier les tisanes).

Les espèces du genre Ephédra sont parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité.

Ma-huang est le terme spécifique donné, par les chinoises, à la partie aérienne des espèces contenant de l'éphédrine. Ma-huang a été traditionnellement utilisé en Chine pour lutter contre l'asthme bronchiale, rhume, grippe, fièvre, frissons, rhinite, congestion nasale, œdème, maux de tête, arthralgies et comme diaphorétique, antiallergique.

Le pseudo éphédrine, une autre substance présente en quantité importante dans l'éphédra, est encore de nos jours utilisés pour la préparation de médicaments en vente libre destinés à combattre la congestion nasale.

L'utilisation des molécules antioxydants de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- 1-Amin A, «Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit.(Lamiaceae)».Thèse de doctorat,université de Lille 2, 2013.
- 2-Karaoui A, El -Heit Z ; «Valorisation des huiles de Pistacia Lentiscus et formulation de pommades antifongique et formulation du savon». Mémoire de master, université de Bouira, 2017.
- 3-Laid Z ; «Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits organiques des différentes parties de limonastrium Feei-Blombaginaceae-(MlefetKhadem)».Thèse doctorat, université de Tlemcen, 2016.
- 4- Brunton J ; «Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ; édition Technique et documentation Lavoisier», Paris, 1993.
- 5- Larry D; Hepatol J; « Hepatotoxicity of herbal remedies», pp: 47-51.1997. .
- 6-ANSM Plantes médicinale
«https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/db4888b0c367709470e4bb26a546fb46. PDF», consulté le (10.07.2020).
- 7-Vuthidao ; « Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez Datura innoxia Mill, Cultivé en condition hors sol , impact des facteurs biologiques et abiotiques ».Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine, 2008.
- 8- Donald P; « Medicinal plants and phytomedicines, linking plant biochemistry and physiology to human health, Briskin, American Society of Plant Physiologists», 2000.
- 9-Simon Y; «Mills, Evidence for the clinician - a pragmatic framework for phytotherapy, the European Phytojournal » ESCOP, Issue 2. 2001.
- 10-Bruneton J ; «Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales, éditions Tec & Doc, éditions médicales internationales», 1120 p. (ISBN 2- 7430-0315-4), 1999.
- 11-Anonym ; récolter, sécher et conserver les plantes aromatiques (PAM),« <https://www.bio-enligne.com/phytotherapie/349-secher.html> » 2018, consulté(11.10.2020).

- 12-Wikipedia, Bactérie" <http://lelivredessecrets.over-blog.com/article-26641049.html>"Consulté le (12.04.2020).
- 13- Pelt J ;"Les drogues. Leur histoire, leurs effets", ed. Doin, 1980.
- 14- Iserin P ; Masson M. ; Resselilin J ; Ybert E ;Ringunt J; Bloth J; Botrel A;
« "Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. », édition de VUEF, Hong Kong": 335. 2001.
- 15-Kunkele U et Lobmeyer TR. ; « Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois », editionparragon Books L tol:33. 318. 2007.
- 16- Kunkele U et Lobmeyer TR. ; « Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois », Editionparragon Books L tol:33. 318. 2007.
- 17-Wichtel M et Anton R. ; « Plantes thérapeutiques tradition, pratiqueofficinale, science et thérapeutique », editionLAVOISIR, Paris: 38. 41.2009.
- 18- Wichtel M et Anton R ; « Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique », édition LAVOISIR, Paris: 38. 41.2009.
- 19-Belguidoum M ; « Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre Zygothymus », mémoire de master, Université KasdiMerbahOurgla, 2012.
- 20- Habibi Y ; « Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie »Les polysaccharides pariétaux: caractérisation et modification chimique, 2004.
- 21-Dorosso S J ; «Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation», Université Ouagadougou. 2002.
- 22- Mulas M et Mulas G; «Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres atriplex et opuntia dans la lutte contre la desertification », 2004.
- 23-Schweizer M ; «Aloe Plantes et Beauté »,1997.

- 24-Narayana K ; Reddy M S; Chaluvadi M R et Krishna D R; « Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential», Indian journal of pharmacology , 33. 2.16, 2001.
- 25- Bremond R et Vuichard R ; « Paramètres de la qualité des eaux, Ministère de la protection de la nature et de l'environnement », SPEPE, Paris, 1973.
- 26- Ali-Dellile L ; « Les plantes médicinales d'Algérie Berti», édition Alger : 6.11. 2013.
- 27-Kochetova MV;Esemenistaya EN; Larionov OG; RevenaAA ; « Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques », Russian Chemical Reviews, 2007.
- 28-Ali-Dellile L ; « Les plantes médicinales d'Algérie. », Berti édition Alger 6.11. 2013.
- 29-Kunkele U et Lobmeyer TR ; « Plantes médicinales, identification, récolte, propriétés et emplois. », editionparragon Books L tol:33 .318. 2007.
- 30-Ali-Dellile L ; « Les plantes médicinales d'Algerie », Bertiédition Alger 6.11. 2013.
- 31-Wichtl M et Anton R ; « Plantes thérapeutiques tradition, pratiqueofficinale, science et thérapeutique, édition LAVOISIR, Paris: 38, 41. 2009.
- 32-PnordkvistE ;SalomoNnsson A C et amon ; « Distribution of insoluble bound phenolic acids in barley grain », Journal of the Science of Food and Agriculture 35, 657-661, 1984.
- 33- Kunkele U et Lobmeyer TR ; « Plantes médicinales, identification, récolte, Propriétés et emplois », editionparragon Books L tol:33 _ 318. 2007.
- 34- Kunkele U et Lobmeyer TR ; « Plantes médicinales, identification, récolte, propriétés et emplois », editionparragon Books L tol:33 _ 318. 2007.
- 35-Bonzi S ; « Efficacité de quatre plantes contre les champignons transmis parles semences de sorgho (Sorghombicolor (L.) Moench) : Cas particulier deColletotrichumgraminicola(CES.) Wilson et Phomasorghina(SACc.) », Diplôméd'études approfondies en gestion intégrées des ressources naturelles. Burkina Faso : Universitépolytechnique de Bobo Dioulasso, 62 p.

- 36- Letendre M ; lutte contre les organismes nuisibles : contexte et enjeux montréal : Colloque pesticides et santé. 93p, Disponibles in : <
http://www.cirano.qc.ca/realisations/grandes_conferences/risques_techenv/19-11-03/Letendre-Samuel.pdf/>, Consulté le 8.07. 2020 ,2003.
- 37- Hostettman K O, Poteratte et All 1998 ; « the potential of higher plants as a Source of New Drugs, Un savoir empirique pour une pharmacopée savates ».
- 38- Amieur A F ; « Les plantes aromatiques et les antioxydants ». Université des Frères Mentouri Constantine, p : 3-5.2018.
- 39- Wichtl et Anton ; « plantes thérapeutique -tradition pratique officinale science et thérapeutique », 2003.
- 40- Wichtl et Anton ; « Plantes thérapeutique -tradition pratique officinale science et thérapeutique. », 2008.
- 41- Franswoth N R, Akerele O, Bingel A S, Soejarto D et Guo Z ; « places des plantes médicinales dans la thérapeutique ». Bulletin de l'organisation mondiale de la santé 64(2) :82. 1986.
- 42- Agouazi O, Bouchenak O, Yahiaoui K, et Arab K ; « criblage phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des flavonoïdes de la vigne rouge de la variété ahmarbouamar » « Université mouloud mammeri de tizi-ouzou », 15000, Algérie.
- 43- Abbes A ; étude evaluation de l'activité Antioxydants jize, huile essentielle d'ammoides verticalité « Noukha » de la région de Tlemcen ; « Université Abou Baker Belkaid », 25 Juin 2014.
- 44- Dr Jesus Cardenas, Directeur médical Doctissimo, « <https://www.doctissimo.fr/sante/aromatherapie/guide-d-achat/composition-huiles-essentielles> », consulté (15.07.2020).
- 45- Belgacemi, Mberkeat, Dou A ; « étude des effets secondaires au cours d'un traitement ethnobotanique par éphédra alata dc » « université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued », p : 5-52, 2018/2019.

- 46- Dr Jesus C ; Directeur médical de Doctissimo, 28 janvier 2016.
- 47-Afssaps ; « Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé », Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles 2008.
- 48- Baudoux D, Breda M, Zhiri A ; « Aromathérapie scientifique : Huiles essentielles chémotypées. », 1^{er} éd. Belgique : J.O.M, 98 pages. 2012.
- 49-Bruneton J ; « Pharmacognosie : Phytochimie Plantes médicinales. », 4^e éd. Paris : Tec et Doc, 1269 pages. 2009.
- 50- Cu JQ, Ziouani H, Maretel JP et Perineau F ; « Production d'huile essentielle de Badiane de Chine par turbo-distillateur, Parfums, Cosmétiques, Arômes », 93, p: 67-74. 1999.
- 51- Skaria BP, et Al; aromatic plants, ed: New India Publishing Agency, p: 37-43. 2007. (Conseils pratiques en aromathérapie).
- 52- Vele H ; « Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments », Université Angers 2015.
- 53- Huang, De Giannasi, Ra Price; "Molecular Phylogenetics and Evolution" 2005, Elsevier.
- 54- Abbas A ; « étude évaluation de l'activité antioxydante, huiles essentielles d'*Ammodendron verticillata* « Noukha », de la région de Tlemcen ; « Université Abou Baker Belkaid », 25 Juin 2014.
- 55- Limberger, Ozenda et Abourashed ; Unité de recherche en Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie. (2) Société Extral Bio des huiles essentielles, route de Chiffa, Blida.
- 56-Mr Lee; « The history of Ephedra (ma-huang) », journal of the royal college of physicians of edinburgh, vol, 41. P: 78-84 2011.
- 57-Bell A et Bachman S, ephedra sinica. The IUCN Red List of Threatened Species 2011, downloaded on 05 September 2018.
- 58-Journal article on the primary vascular system and the nodal anatomy of ephedra murgery p. F. Marsden and Taylor a Steeves journal of the Arnold Arboretum vol. 36, no. 2/3, pp. 241-258, april-july 1955.

- 59-Abdulaziz A, Al'Qarawi; Vegetation analysis in the Rawdhat Om Al-Khefas, Central Saudi Arabia Australian Journal of Basic and Applied Sciences” 5(12): 3264-3269, 2011 ISSN 1991-8178.
- 60-Jean Y D, bscpharmnational Library of Medicine (Ed),Pubmed, NCBI. consultè le (15.07.2020).
- 61-Jinling H, Robert A. Pricemolecular biology and evolution, volume 20, issue 3, march 2003, pages 435–440,https://doi.org/10.1093/molbev/msg049.
- 62-PinmailJ, Karine B, Karine C et Defraigne J O ;« Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrition clinique et métabolisme », 16, 233–239. Doi:10.1016/S0985-0562(02)00166-8,2002.
- 63-Pinmail J, Meurisse M, Limet R et Defraigne J ; « L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin » Vaisseaux, Coeur, Poumons, 4 (5). En ligne « http://www.probiox.com/uk/pdf/realite_generaliste46.pdf », (1999), consulte le (20.07.2020).
- 64- Tessier F et Marrconet P ; « Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & Sports » 10(1), 1-13. doi: 10.1016/0765-1597(96)89350-6, 1995.
- 65- Poortmans J R et Boisseau N ; ed 2003.Biochimie des activités physiques. Paris : Bruxelles.
- 66-WichtlM, Anton R ; « Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, édition LAVOISIR, Paris: 2009.
- 67- Tessier F et Marconnet P ; « Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & Sports », 10(1), 1-13. doi: 10.1016/0765-1597(96)89350-6, 1995.
- 68- Thiabould C.M et SprumontP ; « L'enfant et le sport: Introduction à un traité de médecine du sport chez l'enfant » Paris : Bruxelles, 1998.
- 69- Moussard C, (ED) ; « Biochimie structurale et métabolique » Paris : Bruxelles ,2006.
- 70-Borel J-P et Randoux A, (ED) ; « Biochimie dynamique » Paris : Bruxelles, 1997.
- 71- Jadot G, (ED.) ; « Antioxydants et vieillissement »,Paris: John LibbeyEurotext ,1994.

- 72- Vergely C et Rochette L; “Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. Médecine thérapeutique Cardiologie » 1,3 :131-139 ,2003.
- 73- Crini G, Badot, P-M ; «Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: procédés membranaires »bioadsorption et oxydation chimique. France : Presses Univ. FrancheComt ,2007.
- 74-Lacollry P, BabutyD, Boulanger C, Chaler B, Loirand C, Pinet F et Samuel J-L. (EDS.) ; « Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux » Paris : John LibbeyEurotext.2007.
- 75-Serteyn D, Mouithys –M A , Franck T , Grulke S , Lamy M , Deby C et Deby-Dubont G ;‘La nature chimique et la réactivité de l’oxygène’ Ann. Méd. Vét, 146,137-153.En ligne: ‘http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2002_146_3_01.pdf’ 2002, consulté le (20.07.2020).
- 76-Besnier E,DelileE,Coquerel D et Tamion F ;« Les voies du monoxyde d’azote dans le sepsis. Réanimation », 24(2), 191-200. doi 10.1007/s13546-015-1044-8. 2015.
- 77-Haleng J, Pinsmail J,Defraigne JO, Charlier C et Chapelle J.P ; « Le stressoxydant ». Med, 62(10), 628-638. Enligne ,2007.
- 78- Hennen J, (ED.) ;Endocrinologie. Paris :Bruxelles 2001.
- 79- Fatmah A, Siti B, Zariyanety A, Nasar A et JamalddunM ,The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Complications. REVIEW, 12(1,5-18. En ligne: « <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3286717/pdf/squmj-12-5.pdf> », 2012, consulté (25.07.2020).
- 80- Bonnefont –R D ; « Obésité et stress oxydant. Obésité » 9, 8-13. Springer-Verlag .doi 10.1007/s11690-013-0408-3, 2014.
- 81-Aurousseau B ; « Les radicaux libres dans l’organisme des animaux d’élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits » INRA Prod. Anim., 15(1), 67-82. En ligne: « <http://www6.inra.fr/productions-animales>» ,2002, consulté (25.07.2020).
- 82- Thiebault CM, Sprumont P. (EDS.); « L’enfant et le sport: Introduction à un traité de médecine du sport chez l’enfant », Paris: Bruxelles 1998.

83- NafissaZ , Ferhat A ; « University of SetifContribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des extraits de PistaciaatlanticaDesf de la réserve nationale d'El-Mergueb », M'sila–Algérie.

84- Comhair S.A et Erzurum S.C ;« Antioxidant responses to oxidant-mediated »lung diseases. Am. J. Physiol. 283: 246-255 , 2002.

85-Lehucher-Michel M.P, Lesgards J.F, Delubac O, Stocker P ; Durand P et Prost M ;« Stress oxydant et pathologies humaines », La Presse médicale. 30:1076-1081 , 2001.

86-Marfak A ; « Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec lesradicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat »« Université deLimoges P: 7-62. », (2003).

87-Pincemail J, Meurisse M, Limit R et Defraigne J O ; « Fumée decigarette: une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées », MediSphere. P: 1-3 , 1998.

88-Jungbluth G ; « Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principalesimplications dans la phosphopathologie canine » Thèse de Doctorat a l'universitéClaude-Bernard-Lyon I, 2008.

89- Clause F ; « Radicaux libre et molécules à activité antioxydant. Thèse dedoctorat vétérinaire », Faculté de médecine, Créteil,2001.

90-Marfak A ; « Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec lesradicaux issus des alcools formation des depsides », Thèse de doctorat. Université deLimoges P: 7-62, 2003.

91-Garait B ; « Le stress oxydant induit par voie métabolique ou par voie gazeuseet effet de la GliSODin », Thèse doctorat, université Joseph Fourier, P: 22-23, 2006.

92-Goudable J et Favier A ; « Radicaux libres oxygénés et antioxydants.Nutrition Clinique Métabolisme. », 11: 115-20 ,1997.

93-Soares, A.F. « Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes :

Adiponectne et prostaglandines »« Thèse de doctorat de l'institut nationl des sciencesappliqués de Lyon. », 2005.

94-Massod AK ,Faicel SM, Mushahid MK ,Nadeem A, Siddiqui MU, Owais M ; “Binding of bilirubin with albumin-coupled liposomes: implications in the treatment of jaundice ; Biochimica et Biophysica Acta, 1564: 219– 226 , 2002.

95-Annabi AB , Nehdi A , Hajjaji N, Gharbi N, El-Fazaa S; “Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. C. Biologies 330 :581–588. » , 2007.

96-Servais S ; « Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à L’ozone : Effets de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3, » « Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1, France. pp. 19-35. », 2004.

ملخص:

يمكن أن يتسبب الأوكسجين، وهو جزيء ضروري للحياة، في تلف خلوي كبير من خلال توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS). لقد أثبتت العديد من الدراسات الوبائية والسرييرية دور أنواع الأوكسجين التفاعلية في تطوير العديد من العمليات المرضية مثل تصلب الشرايين والتسرطن.

الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على الفائدة البيولوجية، وكذلك الفوائد العلاجية الدوائية للإفيدرا سينيك، وهو نوع من النباتات الصحراوية من شمال إفريقيا. ولفهم آليات إنتاج ROS وفعالية مضادات الأوكسدة والتقييم التجريبي لقدرة مضادات الأوكسدة.

الكلمات المفتاح: طب الأعشاب، الزيوت الأساسية، الإفيدرا سينيك، النشاط المضاد للأوكسدة.

Abstract:

Oxygen, a molecule essential for life, can cause significant cellular damage through the generation of reactive oxygen species (ROS). Numerous epidemiological and clinical studies have demonstrated the role of ROS in the development of several pathological processes such as atherosclerosis and carcinogenesis.

The objective of this study would be to identify the biological interest, as well as the pharmaco-therapeutic virtues of *ephedra sinica*, a Saharan plant species from North Africa. And to understand the production mechanisms of ROS, the effectiveness of antioxidants and the experimental evaluation of antioxidant capacity.

Keywords: herbal medicine, essential oils, *ephedra sinica*, antioxidant activity.

Résumé :

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, peut entraîner des dommages cellulaires importants par génération d'espèces réactives oxygénés (ERO). De nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont démontré le rôle des ERO dans le développement de plusieurs processus pathologiques comme l'athérosclérose et la cancérogenèse.

L'objectif de cette étude serait d'identifier l'intérêt biologique, ainsi que les vertus pharmaco-thérapeutiques l'*éphédرا sinica* espèce végétales saharienne du nord-africaines. Et de comprendre les mécanismes de production des ERO, l'efficacité des antioxydants et l'évaluation expérimentale de la capacité antioxydante.

Mots clés : phytothérapie, huiles essentiels, *éphédرا sinica*, activité antioxydant.