



Mémoire MASTER ACADEMIQUE / PROFESSIONNEL

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par : **AYEB Mounia, AIT IZEM Faiza et RAHIM Amina**

Thème

**Etude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur le teneur en composés phénoliques et l'effet antioxydant de l'extrait de plante médicinale**

Devant le jury :

Président :	Mme Djemil R.	MCB	Université de Khenchela
Encadreur :	Mme Kara Ali W.	MCB	Université de Khenchela
Examineur :	Mme boutarfa S.	MAA	Université de Khenchela

**Année 2021/2022**

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH tout puissant donné la patience , la santé et pour nous avoir accordé la volonté et courag élaborer ce travail . Car sans lui rien n'est possible .*

*Nous tenons à remercier vivement M KARA ALI W maître assistante à l'université Abbes Laghrour - Khenchela , pour avoir encadré et dirigé cemail ave la plus grande rigueur scientifique. son aide et sa très gentille durant tout le long de notre mémoire Sa compétence et la qualité de ses cons Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude to vous témoignant notre respect .*

*Nous vifs remerciements s'adressent aux membres de jury ; d'avoir accepté d'évalet ce travail*

*Mme DjemilRanda un grand honneur d'être présidente du jury de soutenance , et exprimer notre gratitude d'avoir apporté une attention particulière à ce trav Un grand merci à M Boutarfa S qu'il trouve ici l'expression de profonde reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail .*

*Nous adressons notre profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire pédagogique de Biochimie de l'institutue de Biologie à l'université de Khenchela surtout les ingénieurs Abd - Eennour et Bahia pour l'aide qu'ils ont donné et les efforts déployés pour faciliter notre travail*

*Merci à toute la promotion 2 année Biochimie appliquée. Enfin, nous remercions tous les enseignants , nous leurs adressons no remerciements pour leurs patience et pour tout ce qu'il nous avons offert co enseignements et conseils durant ce long cycle de formation et tous ceux qui ont participe de prés ou de loin pour la réalisation de ce travail . Mounia, Amina et Faiza*

# Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*A Dieu : qui m'a aidé et m'a guidé vers le droit chemin*

*A Mes parents*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritent pour tous les sacrifices que vous n'ont cessé de me donner depuis ma naissance , durant mon enfance et même à l'âge adulte votre prières et votre bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Ma mère Aicha : la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi . Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour . Puisse Dieu , le tout puissant , te préserver et t'accorder santé , longue vie et Bonheur.*

*Mon père Tayeb : rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être . Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation . Que dieu te gardes et te protège et t'accorder santé , longue vie et bonheur .*

*A mon très cher professeur : Docteur Kara Ali Wahiba mon encadreur ; tu représentes pour moi le symbole*

*de la bonté par excellence , la source de tendresse et l'exemple du dévouement et de la patience je dédie ce*

*travaille pour toi sans oublier de te dire merci pour tous.*

*A mes Chers frères*

*Farok, Samir, Yassin et Hakim*

*Et surtout à mes adorables sœurs*

*Fahima et Nesrine et Leurs enfants*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin. Tous ceux que j'aime et qui m'aiment.*

*AYEB Mounia*

# Dédicace

*À l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que*

*je dédie*

*À mes très chers parents : Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux, Qu'Allah leur prête santé.*

*À toute ma famille adorée, mes sœurs, HIND et sa famille et ma petite sœur Wafa, mes frères IBRAHIM, YOUNES et ALI, mon époux CHAKIB et sa famille. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours*

*À ma mère proche AYEUB Mounia et mon père RAHIM Amina Pour leur travail acharné et leur persévérance tout au long de cette étude.*

*À tout le personnel du laboratoire de notre université pour leur aide dans la réalisation de cette étude.*

*À tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès. À tous ceux que j'aime.*

**FAIZA**

# Dédicace

*Je dédie ce travail tous d'abord à mes parents pour la qualité de l'éducation qu'ils m'ont donnée et les vertus qu'ils ont essayé de cultiver en moi. Je suis ici pour leur exprimer toute mon affection, tout mon amour et toute ma gratitude pour m'avoir encouragé et soutenu tout au long de mes études et encore à ce jour, Puissent - ils voir les fruits de leurs efforts dans ce travail.*

*A l'homme, non précieux offre du dieu qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect mon cher père:  
Zoubir.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit mon âmes exigences et qui n'ai épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère: Zakia*

*A mes cher sœurs Basmala et sadjida et mon frère Mohamed amine qui n'ont pas cessée de me conseiller et encourager puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.*

*A ma grande mérezahra et mes tantes . Que dieu leurs donne une longue et joyeuse vie.*

*RAHIM Amina*

## Liste des abréviations

**A:** Absorbance

**AB:** Absorbance du blanc

**AC:** Acéton chaud

**ADN:** Acide désoxyribo nucléique

**AE:** Absorbance de l'extrait

**AF:** Acéton froid

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

**AVC:** Accident cardio-vasculaire

**Car:** Caroténoïdes

**CAT:** Catalase

**CCM:** Chromatographie sur Couche Mince

**ClO<sup>-</sup>:** Hypochlorite

**DPPH•:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**E :** Extrait

**EC:** Éthanol chaud

**EF:** Éthanol froid

**ERO:** Espèces réactives de l'oxygène

**EQ:** Equivalents de Quercétine

**FeCl<sub>3</sub>:** Chlorure de fer

**GPx:** Glutathion peroxydase

**GR:** la glutathion réductase

**GSH:** Glutathion

**HCl :** Acide chlorhydrique

**HHDP:** Acide hexahydroxydiphénique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: le peroxyde d'hydrogène

**HOO•**: Radical hydroperoxyde

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**: Acide phosphotungstique

**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**: Acide phosphomolybdique

**IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice de 50%

**LOX**: Les lipoxygénase

**MC**: Méthanol chaud

**MF**: Méthanol froid

**MgEAG/gE**: milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait

**MgEQ/gE**: milligramme Equivalent de quercétine par grammes du poids d'extrait

**NAD**: Nicotinamide adénine dinucléotide

**NADH**: Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

**NADPH**: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

**NH<sub>4</sub>OH**: Ammonium Hydroxide

**NO•**: Radical oxydenitrique

**ONOO•**: Peroxynitrite

**O<sub>2</sub>•-** : Le radical superoxyde

**•OH**: le radical hydroxyle

**ONOO-**: le peroxyde nitrite

**O<sub>2</sub>•-**: Anion radical superoxyde

**O<sub>3</sub>**: Trioxygène moléculaire

**•O<sub>2</sub>**: Oxygène singulet

**OH•**: Radical hydroxyle

**Pd**: poids

**%PI**: Pourcentage d'Inhibition

**Rf**: Rapport fronta

**RPE:** Résonance Paramagnétique Électronique

**ROO•:** Radical peroxy

**ROOR et ROOH:** Peroxide ethydroperoxyde

**RO•:** Radical alkoxy

**ROS:** Reactive Oxygen Species (Les espèces réactives de l'oxygène)

**SOD:** Superoxyde dismutase

**UV :**Ultra Violet.

## Table des matières

### Remerciement

### Dédicaces

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Introduction

## Chapitre I. Revue bibliographique

<b>I. La phytothérapie</b>	3
I.2. Forme d'administration des plantes médicinales se forme des tisanes	3
I.3. Les métabolites primaires	5
I.4. Les métabolites secondaires	5
I.4.1. Les alcaloïdes	5
I.4.2. Les tanins	6
I.4.3. Les flavonoïdes	7
I.4.4. Saponines	7
I.4.5. Les phénols simples	8
<b>II. La plante médicinale</b>	9
II.1. Description de la plante mentha piperita	10
II.2. Répartition géographique de la <i>mentha piperita</i>	10
II.3. Classification de <i>Mentha piperita</i>	10
II.4. La composition chimique de <i>Mentha piperita</i>	11
II.5. Utilisation de la <i>mentha piperita</i> en médecine traditionnelle	11
II.6. L'activité biologique de l'espèce <i>mentha piperita</i>	12
<b>III. Les Polyphénols</b>	14
III.1. Définition	14
III.2. Classification des polyphénols	14
III.2.1. Tannins	16
III.2.2. Acides phénoliques	17
III.2.3. Les flavonoïdes	19
III.2.4. Les propriétés biologiques des polyphénols	21

III.3.L'activité anti oxydant des polyphénols	24
III.3.1.L'activité anti oxydant des flavonoides	24
III.3.2.Les tanins	26
III.3.3.Les acidesphénoliques	26
<b>IV. les radicaux libres, stress oxydant et antioxydant</b>	27
IV.1. les radicauxlibres	27
IV.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	27
IV.1.2.Source et formation des ERO	28
IV.1.2.1.Les sources endogène	28
IV.1.2.2.Les sources exogène	30
IV.1.3. Rôles physiologique des ERO	31
IV.2. Stress oxydant	31
III.2.1. Conséquences de stress oxydant	31
IV.2.1.1. Effetssur les lipides	31
IV.2.1.2.Oxydation de l'ADN	32
IV.2.1.3.Effets sur les protéines	33
IV.2.2. Les maladies liées au stress oxydant	34
IV.3. Antioxydants	35
IV.3.1. Classification des antioxydants	35
IV.3.1.1. Antioxydantsendogènes	35
IV.3.1.2. Antioxydantsexogènes	37
<b>Chapiter II .Matériel et méthodes</b>	
<b>I. Matériels</b>	38
I.1.Matériel végétal plante medicinal <i>Mentha piperata</i>	38
I.2.Réactifs chimiques et solvants	38
I.3.Les équipements	38
<b>II.Méthodes</b>	39
II.1. Préparation des extraits de <i>Mentha piperita</i>	39
II.1.1.Extraction par décoction	39
II.1.2. Extraction par macération	39
II.2. Le Rendement des extraits de <i>R.montana</i>	39
II.3. Etude qualitative	40

II.3.1. Screening phytochimique	40
II.3.2. Chromatographique sur couche mince (CCM)	43
II.4. Etude quantitative	44
II.4.1. Dosage des flavonoïdes	44
II.4.2. Dosage de polyphénols	45
II.5. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH*	46
II.5.1. Principe de la méthode	46
II.5.2. Les étapes de la méthode	47
II.5.3. Expression des résultats	48
II.6. Analyse statistique	48

## **Chapiter III .Résultats et Discussion**

<b>I.Résultats</b>	49
I.Rendement de l'extraction	49
II.Les tests pytochimique	50
III.Dosage des flavonoides	53
IV.Dosage des polyphénoles	54
V.Les résultats de l'étude qualitative par CCM	55
VI.Résultats et discussion de l'activitéantioxydant	65
<b>Conclusion et perspective</b>	68
<b>Références bibliographiques</b>	70
<b>Résumés</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Structure chimique de quelque type des alcaloïdes	6
<b>Figure 02</b> : Structure de l'acide ellagique et flavan-3-ol	7
<b>Figure 03</b> : Structure des quelque flavonoïdes	7
<b>Figure 04</b> : Structure de quelques phénols et acides phénoliques	8
<b>Figure 05</b> : Photo représente les caractéristiques de la menthe piperata	9
<b>Figure 06</b> : Distribution géographique de la Menthapiperata	10
<b>Figure 07</b> : Structure chimique du phénole simple	14
<b>Figure 08</b> : les différentes classes des composésphénoliques	15
<b>Figure 09</b> : Unité structurelle de base des tannins condensés	17
<b>Figure 10</b> : Acide hydroxybenzoïque	18
<b>Figure 11</b> : Acide hydroxycinnamique	19
<b>Figure 12</b> : Structure de base des flavonoides	19
<b>Figure 13</b> : Effet scavengersur les radicaux libres	24
<b>Figure 14</b> : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoides	25
<b>Figure 15</b> : Sites proposés pour la chelation des ions métallique	25
<b>Figure 16</b> : Source endogène des espècesréactive de l'oxygène	29
<b>Figure 17</b> : Origine et formation des différents radicaux libres oxygénés et espècesréactives de l'oxygèneimpliqués en biologie	30
<b>Figure 18</b> : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acidesgrasPolyinsaturés	32
<b>Figure 19</b> : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire	33
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage de quercétine (mg EQ/g extrait)	45
<b>Figure 21</b> : Courbe d'étalonnage d'acide gallique (mg EAG / g E)	46
<b>Figure 22</b> : La réduction du DPPH• en DPPH-H par un agent antioxydant	47
<b>Figure 23</b> : Teneur en flavonoides (mgEQ/gE) dans déffirents extraits de <i>Mentha pipérata</i>	53
<b>Figure 24</b> : Teneur en polyphénol dans déffirents extraits de <i>Mentha pipérata</i> ....	54
<b>Figure 25</b> : Photo de chromatogramme resultant de l'analyse d'extrait sur gel de silice par le système solvant: 1 et longure 365 nm	55
<b>Figure 26</b> : Photo de chromatogramme resultant de l'analyse d'extrait sur gel de silice par le système solvant: 2 et longure 365 nm	56
<b>Figure 27</b> : Photo de chromatogramme resultant de l'analyse d'extrait sur gel de silice par le système solvant: 3 et longure 365 nm	56

**Figure 28** : Photo de chromatogramme resultant de l'analyse d'extrait sur gel de silice 57  
par le système solvant: 4 et longure 365 nm

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Des exemples de plantes médicinales	3
<b>Tableau 02</b> : Représente listes des plantes médicinales recensées	4
<b>Tableau 03</b> : La classification de menthapiperata	10
<b>Tableau 04</b> : Présente les études antérieures de menthe piperata	12
<b>Tableau 05</b> : Quelques exemples des composés phénoliques	15
<b>Tableau 06</b> : Principales classes des flavonoïdes et leurs sources	20
<b>Tableau 07</b> : Propriétés biologiques de quelques polyphénols	21
<b>Tableau 08</b> : les principales espèces réactives de l'oxygène	27
<b>Tableau 09</b> : Quelques maladies liées au stress oxydant	34
<b>Tableau 10</b> : Les réactifs chimiques et les solvants utilisés	38
<b>Tableau 11</b> : les différents tests de screening phytochimique	40
<b>Tableau 12</b> : Systèmes de solvants utilisés pour CCM sur gel de silice	43
<b>Tableau 13</b> : Rendement, couleur et aspect des extraits de <i>Mentha piperata</i>	49
<b>Tableau 14</b> : Les résultats des tests phytochimiques	51
<b>Tableau 15</b> : les R <sub>f</sub> et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le méthanol froid	57
<b>Tableau 16</b> : les R <sub>f</sub> et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le méthanol chaud	58
<b>Tableau 17</b> : les R <sub>f</sub> et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le éthanol froid	60
<b>Tableau 18</b> : les R <sub>f</sub> et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le éthanol chaud	61
<b>Tableau 19</b> : les R <sub>f</sub> et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le acétone froid	63
<b>Tableau 20</b> : les R <sub>f</sub> et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le acétone chaud	64
<b>Tableau 21</b> : Valeurs d'IC <sub>50</sub> des extraits	66

## INTRODUCTION

L'utilisation des plantes en thérapeutique est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès de la population et cela malgré les progrès de la médecine moderne. Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), plus de 80 % de la population mondiale a recours à la médecine dite traditionnelle (OMS, 2008). Cet engouement s'explique par le fait que de nombreuses maladies sont traitées de manière satisfaisante et à moindre coût par les plantes et aussi par le fait que l'utilisation des médicaments préparés par synthèse chimique est souvent associée à des effets indésirables. (Tyihák et al ; 2007)

Selon des études antérieures, un grand nombre de plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans le domaine thérapeutique à savoir les propriétés, anti-inflammatoire, anti-microbienne, antiperytique, ....

Cependant, les propriétés anti-oxydantes, contre le stress oxydatif (facteur déclenchant de plusieurs pathologie comme le cancer, le diabète et l'athérosclérose...), demeurent une tâche très intéressante pour le fait que la majorité des antioxydants synthétiques utilisés actuellement, tels que le 2,3-ter-butyl-4-methoxyphenol (BHA), 2,6-di-terbutyl-4-methyl phenol (BHT), le tert-butyl hydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG), sont accompagnés toujours des effets secondaires indésirables dans le foie et peut provoquer des cancers (Tawaha et al ; 2007). Néanmoins, l'utilisation de composés phytochimiques à base des plantes médicinales s'avèrent utile et sans effets indésirables.

La valeur antioxydant de ces plantes est due à des métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques (principalement flavonoïdes et acides phénoliques).

L'extraction des composées phénoliques, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification. Plusieurs facteurs peuvent influencés l'opération de l'extraction de ces composé son savoir leur diversité structurale et leur solubilité qui est affectée par la polarité du solvant utilisé (Bonnaillie et al ; 2012 , Jokić et al ; 2010).

Dans ce contexte, La présente étude a été réalisée afin d'évaluer l'effet de deux méthodes d'extraction à savoir la décoction (extraction à froid) et la macération (extraction à chaud) de la plante médicinale *Mentha piperita* (largement utilisée en médecine traditionnelle pour ces propriétés antioxydante, stimulatrice, anesthésique, antalgique,...)par trois solvants

organiques (méthanol, éthanol et acétone) sur l'effet anti-oxydant et la teneur en polyphénol et en flavonoïdes. Pour ce faire nous avons fixé les objectifs suivants:

- Préparation de l'extrait de décoction et l'extrait de macération par trois solvants différents (méthanol, éthanol et acétone) ;
- Des tests de screening phytochimique pour avoir quelques informations Concernant la constituant en métabolite secondaire dans les deux extraits ;
- Une étude qualitative et quantitative des flavonoïdes et des polyphénols afin d'estimer les types et la quantité des flavonoïdes et des polyphénols, dans la décoction et macération ;
- L'estimation de l'activité anti-oxydante *in vitro* des deux extraits par la méthode de radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

## I. La phytothérapie

### I.1. Définition

Le mot phytothérapie se compose de deux racines grecques : phuton qui signifient respectivement plante et thérapiea qui signifie traitement.

Est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels ou certains états pathologiques au moyen de plante, de parties de plantes ou de préparation à base de plante (Wichti M et al ; 2003) et est une technique de soins qui utilise les plantes pour venir a bout des causes et symptômes de diverses maladies c'est l'une des plus anciennes thérapeutiques (Gayet ; 2013) le tableau fait desous présente quelque exemple des plante médicinale.

**Tableau 01:** Quelque plante utilisés dans la médecine traditionnel des exemples de plantes médicinales se présente dans le tableau ci de sous (Bensalek ; 2018).

Non scientifique	Non français	Non vernaculaire
<i>Pimpinellaanisum</i>	Anis	Naffa
<i>Cuminum cuminum</i>	Cumin	Kamoun
<i>Apium graveolens vardulce</i>	Céleri	Krafs
<i>Carun carvi</i>	Carvi ou cumin des prés	Karwia
<i>Glycine max</i>	Haricot oléagineux	Soja
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym	Zaitra
<i>Verbena officinalis</i>	Verveine	Louiza
<i>Znjiber ofcinalis</i>	Gingembre	Skinjbir

### I.2. Forme d'adménistration de la plante médicinale se forme des tisanes:

Les plante médicinale sont adménistré par l'on se forme des tisanes à savoir:

**A. l'infusion:** la préparation de l'infusion est basé sur la macération de la plante dans l'eau bouillant pendant 10 min. elle est réservée au thé, aux fleurs et à de rares feuilles ( reine- des – prés) ou racines ( guimauve). La préparation de l'infisversez de l'eau préalablement bouillie sur la plante puis laissez reposer 10 minutes à couvert avant de filtrer et boire.

**B. La décoction:** Elle est préparé par ébullition de mélange d'eau (à froid) et la plante pendant 2 min pour les feuilles, et 5 min pour les racines. Enfin d'obtenir le maximum des principe active, après ébullition le mélange est les fait infusion pendant 10 min avant de filtrer et boire.

**Tableau 02 :** Modes de préparation des extraits de quelque plante médicinale pour usages thérapeutique en médecine traditionnelle. (Hamel T., et al ; 2018)

Famille	Taxons	Partie utilisée	Usage thérapeutique	Mode de préparation
Lamiaceae	<i>Lavandula stoechas</i>	Feuilles et fleurs	Traitement de la grippe, bronchite, et douleurs d'estomac	Décoction
Lamiaceae	<i>Mentha suaveolens</i>	Feuilles	Traitement des douleurs gastriques et des diarrhées	H.essentielle, infusion
Lamiaceae	<i>Prunella vulgarisation. L</i>	Feuilles	Anti-inflammatoires et digestif	_ Décoction
Rosaceae	<i>Carataegus monogyma</i>	Fruits	Régulatrice le rythmecardiaque	_ fruits
Malvaceae	<i>Malva sylvestres subsp. Sylvestres L</i>	Feuilles et fleurs	Contre les douleurs dorsales et les branchits aigüés	Décoction infusion
Urticaceae	<i>Urticapilulifera L</i>	Feuilles	Astringent et diurétique	_ infusion, décoction
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus labill</i>	Feuilles	Anti-infectieux et antiseptide	Huile essentielle

### **I.3. Les métabolites premières**

Le métabolisme primaire fait référence au processus de production d'acides carboxyliques, d'acides  $\alpha$ -aminés, de glucides, d'acides gras, de protéines et d'acides nucléiques dans le cycle de Kreb qui sont nécessaires à la survie des micro-organismes. Tous les organismes ont les mêmes voies métaboliques par lesquelles ces composés sont synthétisés et utilisés (Trossel K. B. G. ; 1997).

### **I.4. Les métabolites secondaire**

Se sont des composés de faible masse moléculaire (<1000 Da généralement) qui ne jouent pas un rôle fondamental pour les plantes comme les métabolites primaires, mais qui sont impliqués dans l'adaptation des plantes à leur environnement, notamment dans les interactions biotiques.

-Les métabolites secondaire des plantes se répartit en 3 groupes chimiques : les

Alcaloïdes, les terpénoïdes et les composé phénoliques. (Hoang- nan Pham ; 2017).

#### **I.4.1. Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes, sont des substances très hétérogènes et incolores, peu solubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Bien sûr, Ils sont généralement présents en faible quantité dans la plante d'origine végétale.( Francesco ., et al ; 2013) forment une très grande famille de substances azotées présentes dans le règne végétal. Ils possèdent des structures hétérocycliques et se retrouvent dans 20% de toutes les espèces de plantes ils sont connus comme doués de propriétés antimicrobiennes. Le mécanisme d'action des alcaloïdes est attribué à leur capacité à s'intercaler avec l'ADN. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine), ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine). Ils sont utilisés comme inhibiteurs des pompes à efflux afin de lutter contre l'antibio-résistances (Toure Daouda ; 2015 ).

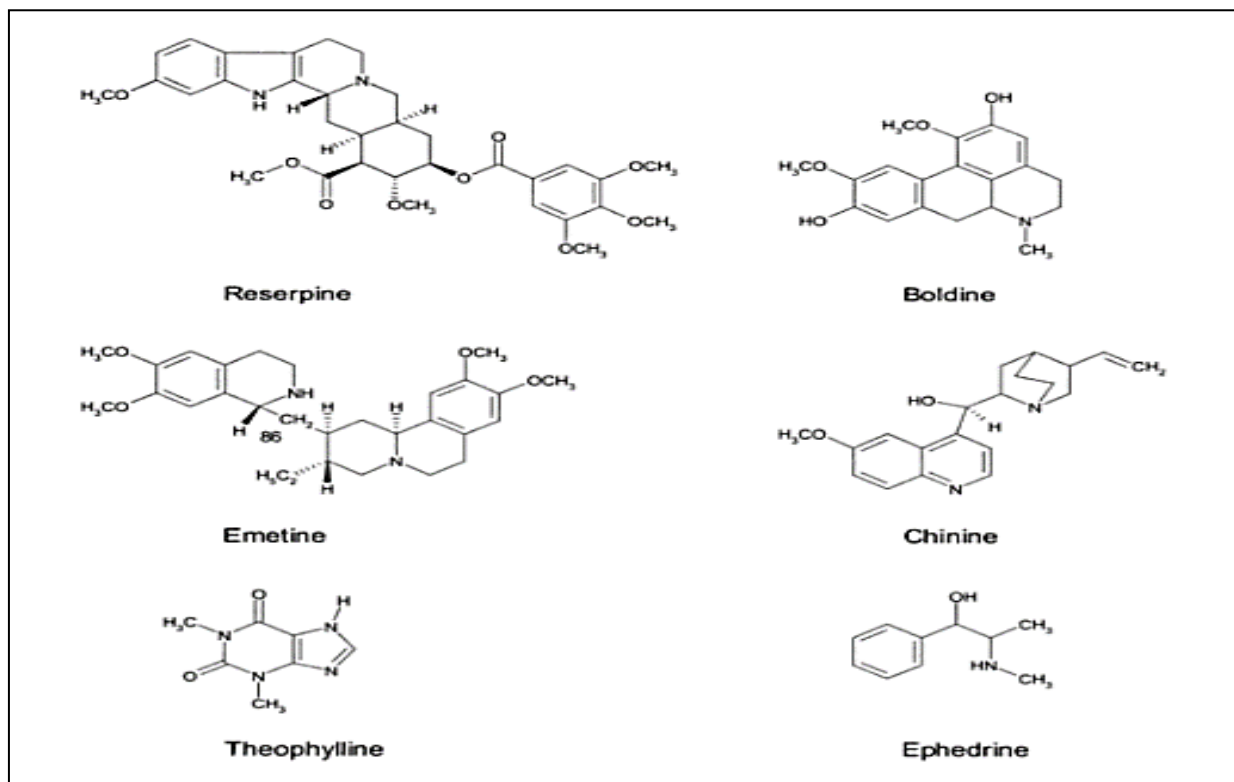


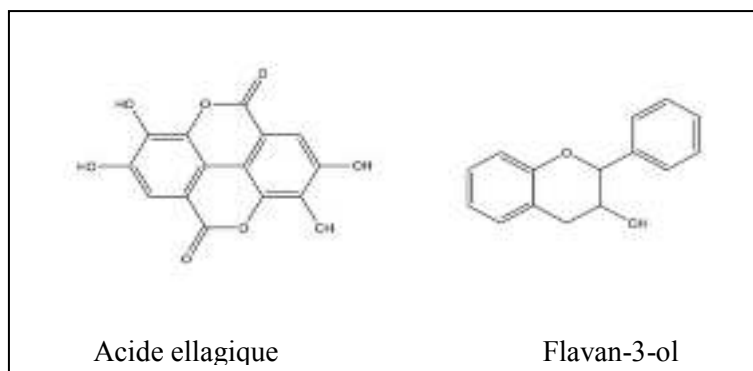
Figure 01: Les différents types des alcaloïdes

#### I.4.2. Les tanins

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base. Leurs structures chimiques sont en effet variées et rassemblées en famille en fonction d'activités communes. Les tanins sont classés en deux types :

**A. les tanins hydrolysables**, esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et de l'acide gallique 3 ou de l'acide ellagique. (Becker et al, 1978)

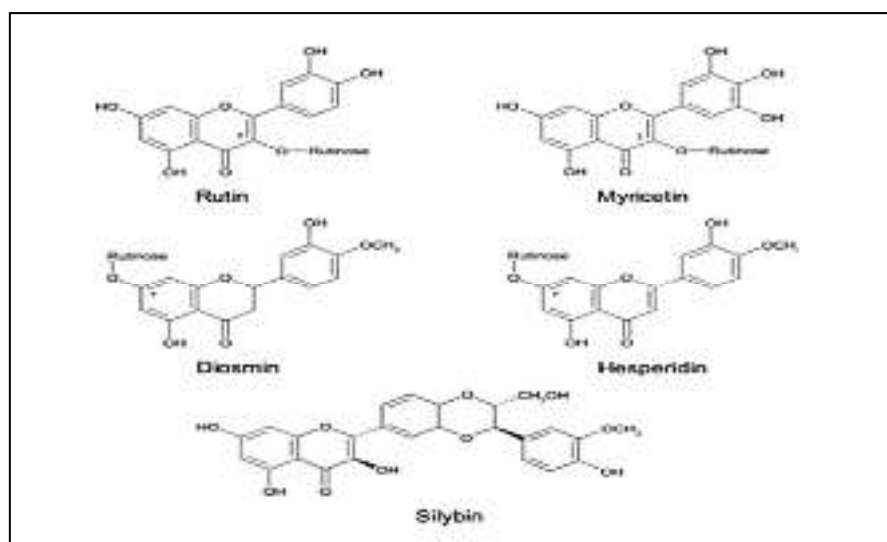
**B. les tanins condensés**, ou proanthocyanidols, non hydrolysables résultant de la polymérisation des unités flavan-3-ols. Ils forment dans les vacuoles des solutions pseudo-colloïdales et peuvent aussi se fixer au niveau des lignines, renforçant encore l'imputrescibilité du bois de cœur. (Belkhdar ; 1991)



**Figure 02 : structure de l'acide ellagique et flavan-3-ol** (Becker et al,1978. Belkhdar ; 1991)

### I.4.3.Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés jaunes, très communs dans la nature. Les agrumes, tels que *Citrus medica* (citrons), *Citrus aurantium* (oranges) dans leurs variétés amères et douces, et certains fruits sauvages comme *Rosa canina* sont très riches en flavonoïdes. (Francesco., et al ; 2003)



**Figure 03 : structure des quelque flavonoïdes**

### I.4.4.Saponines

Les saponines sont un groupe de glycosides naturels formant des solutions colloïdales avec de l'eau qui moussent lorsqu'on les secoue - d'où leur nom. Les sucres et les aglycones (qui sont séparés en stéroïdes et terpènes selon leur structure chimique) sont libérés de ces glycosides par hydrolyse acide. Ils sont dépourvus d'azote, généralement inodores et au goût amer (hors glycyrrhizine). Pharmacologiquement, les saponines possèdent une action expectorante et

antitussive. Lorsqu'elles sont administrées à petites doses, les saponines stimulent la sécrétion de mucus liquide facilitant ainsi l'expectoration. Cet effet est dû à une irritation du mucus gastrique par action réflexe (Francesco., et al ; 2003).

#### I.4.5. Les phénols simple

Sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucinol...). Se sont des dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide phénolique.

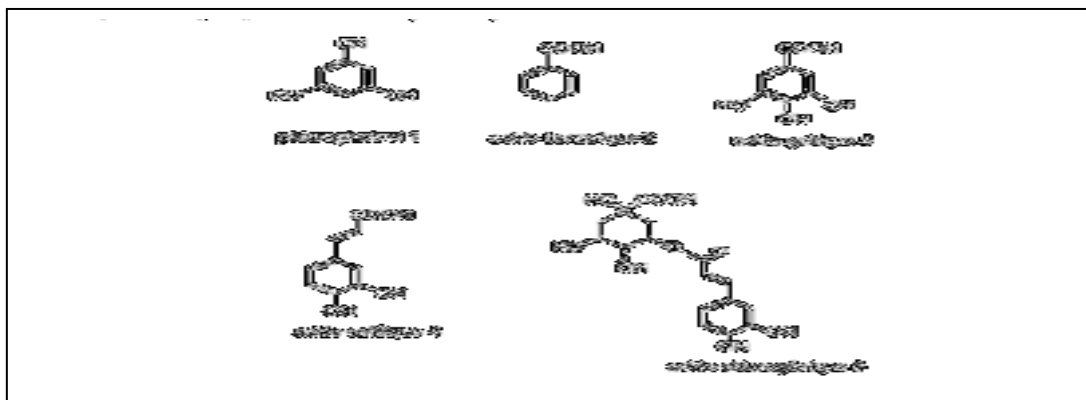


Figure 04: Structure des quelques phénols et acides phénoliques.(krief Sabrina ; 2003)

## II. La plante

### II.1. Description de la plante *mentha piperita*

La mentha poivrée (*Mentha piperita*) une membre de la famille des labiatae (Isadiyan et al; 2015) qui comprend plus de 200 genres et quelques 6000 espèces différentes réparties sur tout le globe.(Berceau et al ; 2016), elle est originaire du Moyen-Orient.

la menthe poivrée est le résultat de l'hybridation entre la menthe aquatique ( *Mentha equatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*) ( Mohamed., et al ; 2015) .

Elle est Une plante vivace, 30-90 cm de hauteur. Les tiges dressées carré ou ascendante, ramifiée, la partie supérieure toujours quadrangulaire. Feuilles opposées, pétiole, ovales oblongues à oblongues - lancéolées, dentelées, pointu ; vert foncé sur la surface supérieure. Fleurs violacé, se produisent en grappes épaisses, de terminaux, de spicoid verticilles, chaque fleur montre un calice tubulaire avec 5 tranchants, des dents velues, une violacée, irrégulières, 4 - corolle fente, 4 étamines courtes, 4 - ovaire unicellulaire et un style en saillie se terminant par un stigmate bifide. Fruit se compose de 4 ellipsoïdales nucules ( Geneva ; 2002)



**Figure 05 : photo représente les caractéristiques de la menthe piperata.**

Le nom de la plante en Arabe : Nânâfoufouli

Le nom de la plante en Français : La Menthe poivrée

Le nom de la plante en Anglais : Peppermint

## II.2. Répartition géographique de la *mentha piperita*.

La *Mentha piperita* est originaire d'Europe, et s'est répandue en Chine, en Inde, aux états UNIS, en Afrique. Elle est particulièrement présente dans les régions températures élevé et surtout méditerranéenne, dans les zones fraiches et humide (likibi., et al ; 1997-5902).

Ce genre et largement cultivé au Sahara de l'Algérie où on trouve six épices plus dominé dont: *M. Aquatic*, *M. Spicata*, *M. Rotundifolia*, *M. Longifolia*, *M. Pulegium* et *M. Piperita* (Mohamed., et al ; 2015)

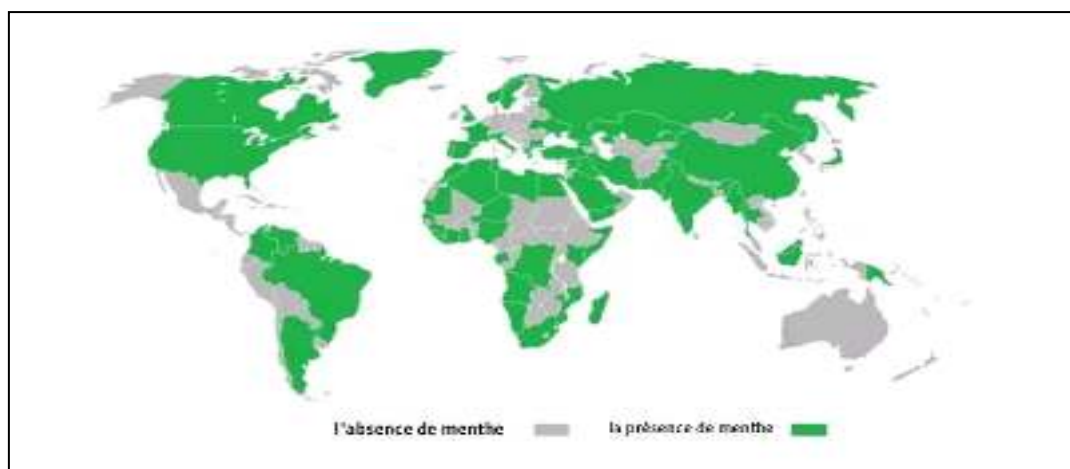


Figure 06 : Distribution géographique de la *Menthe piperita*

## II.3. Classification de *Mentha piperita* (barlier ; 2013/2014)

Tableau 03 :La classification de *Mentha piperita* est présentée dans le tableau ci de sous:-

Règen	<i>Planta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>

<b>Sous classe</b>	<i>Astérides</i>
<b>Ordre</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lamiacées (labiacées)</i>
<b>Genre</b>	<i>Mentha</i>
<b>Espèce</b>	<i>Mentha Piperita</i>

#### II.4. La composition chimique de *Mentha piperita*

Les études entérieures de l'espèce *mentha piperita* ont montré la diversité et la richesse de cette plante en plusieurs constituants l'huile essentielle (1,5% au maximum), dont le menthol (entre 35 et 55%) et la menthone (entre 10 et 40%), flavonoïdes (lutéolme, menthoside) et le menthol se présente principalement sous forme d'alcool libre, avec de petites quantités sous forme d'esters d'acétate (3 à 5%) et de valérate. Les phénols, acide phénols: acide caféique, acide rosmarinique (page 2 sur 4 - monographie menthe  $\times$  piperita\_L-version 200515), les terpènes (Larouss; p116), comme (monoterpènes présents comprennent l'isomenthone (2-10%) le 1,8-cinéole (6-14%), l' $\alpha$ -pinène (1,0-1,5%), le B-pinène (1-2%), le limonène (1-5%), néomenthol (2,5-3,5%) et menthofurane (1-9%) (Geneva ; 2002), Triterpènes (acide ursolique) cire), ainsi que les caroténoïdes (Bruneton ; 2009) et le isomenthone, console et le cis-carone (Benabdallah A ; 2016/2017). La menthe reforme également, pinène, thymol, trace d'aldéhydes et acides acétique et valérique, mais aussi les substances amères, comme les Tanis (Schmid J ; 2010).

#### II.5. Utilisation de *la mentha piperita* en médecine traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle la *Mentha piperita* est largement utilisée contre : les troubles digestifs, la menthe poivrée est excellente pour le système digestif elle stimule la sécrétion des sucs digestifs et de la bile, et décontracte les muscles intestinaux. Douleur, appliquée sur la peau la menthe poivrée calme la douleur elle soulage aussi les maux de tête liés à une mauvaise digestion. Les infections l'huile essentielle diluée de la *Mentha piperita* peut être utilisée par inhalation en cas d'infection bronchique. (Andrew Chevallier; 2001). Les feuilles de *Mentha piperita* L sont utilisées pour soulager l'inflammation des muqueuses de l'estomac, soulager la nausée et calmer la douleur (Ndzeli ; 1997). En utilise également

dans l'affection du tube digestif, l'affection neurologique et l'affection respiratoire.(Chraibi., et al ; 2017)

*La Mentha piperita* est utilisé dans les vois interne et externe pour traité les symptômes du catarrhe et de la toux, non étayés par des donnés expérimentales ou cliniques traitement de la dysménorrhée, des fièvres, de la jaunisse et des infection urinaires (Geneva ; 2002)., elle est utilisé aussi depuis fort longtemps pour ses propriétés diurétique et leur capacité à faire tomber la fièvre, les font recommander contre l'ensemble des maladies d'origine infectieuses (Brahmi., et al ; 2008)

## II.6.L'activité biologique de l'espèce *mentha piperita*

**Tableaux 04** : Présente les études antérieures de *mentha piperita* :

Activité biologique	Référence
Activités anti oxydante	Iran Rasooli ; 2010. Benabdllah .A ; 2016/2017. Mohamed Bilal Goudjil., et al ; 2015. Chraibi .M., et al ; 2017.
Activités antifoaming	Geneva ; 2002.
Antispasmodique	Mohamed., et al ; 2015. SalimaBennadja., et al ; 2007. Geneva ; 2002.
Activitésantibactérienne	Mohamed., et al ; 2015. Brahmi et al ; 2008. Geneva ; 2002. Chraibi .M ; 2017.
Antiseptique	Mohamed., et al ; 2015. Bennadja ; 2007.

Antivirales	Mohamed., et al ; 2015.
Activités anticancer	Ferreira ; 2014.
Antimicrobiel	Ferreira ; 2014.
Activité anti-inflammatoires	Ferreira ; 2014. Chraibi .M ; 2017.
Activités anti fongique	Chraibi .M et al ; 2017.

### III. Polyphénols

#### III.1. Définition

Les polyphénols constituent l'un des métabolites secondaires les plus répandus chez les plantes. C'est une famille de molécules hydrosolubles complexes généralement de haut poids moléculaire. Ils sont produits naturellement par les plantes pour se défendre contre diverses agressions. Ils sont caractérisés, comme l'indique leur nom, par la présence d'au moins deux phénols, composés d'au moins un groupe hydroxyle OH. (Fleuriet., et al ; 2005).

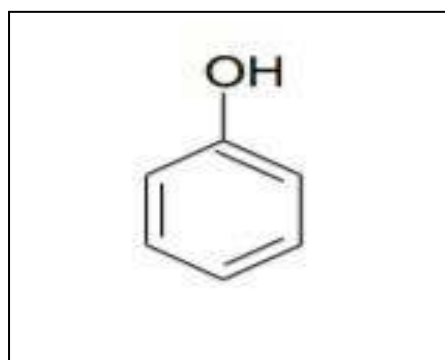


Figure 07: structure chimique du phénol simple

#### III.2. Classification des polyphénols

Les polyphénols sont communément subdivisés en flavonoïdes (flavones, flavonols, anthocyanidines, isoflavones, flavonones, catéchines) ou non-flavonoïde (resvératrol, les acides phénoliques, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols.etc. Les plus importants sont : les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

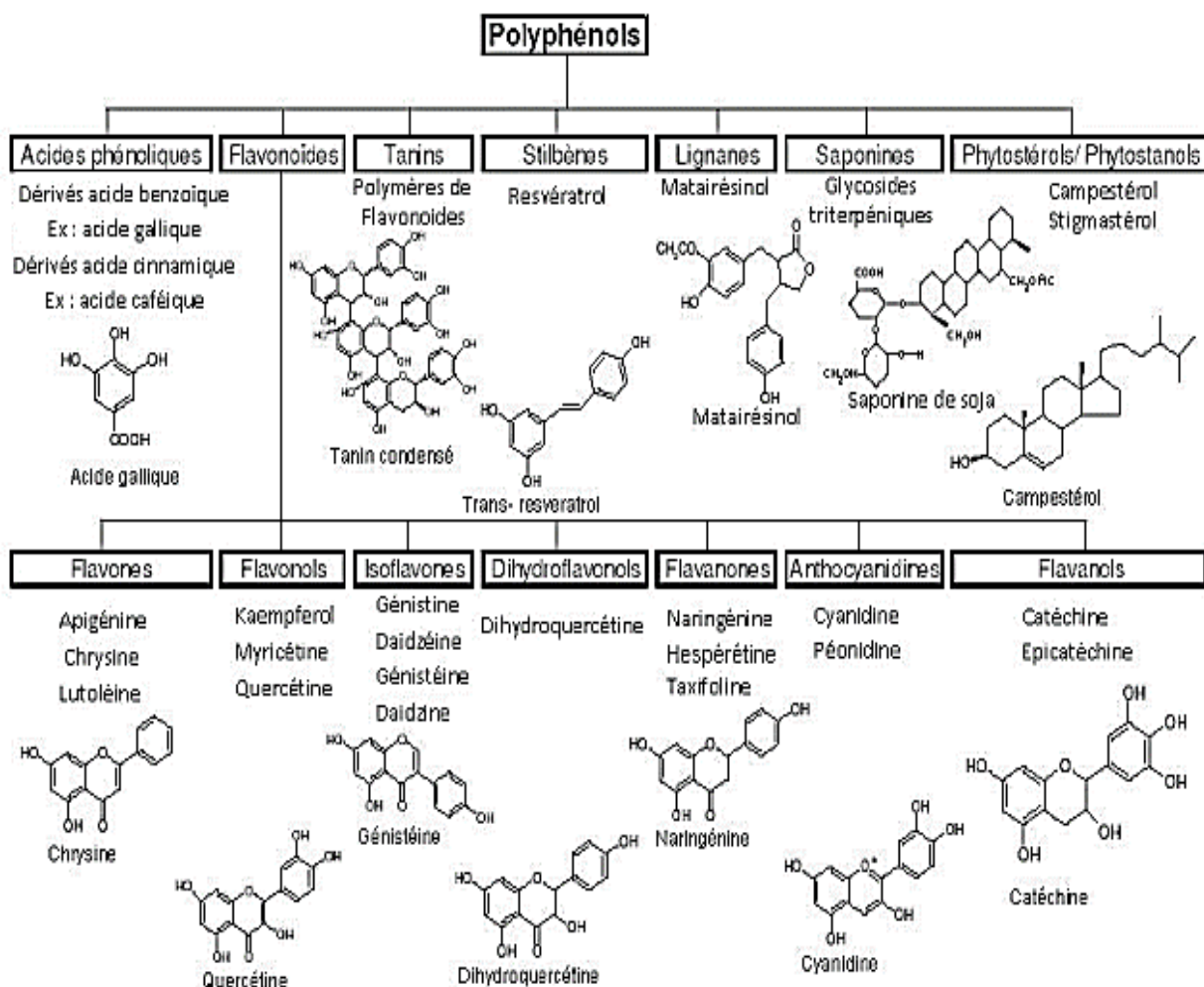


Figure 08: Les différentes classes des composés phénoliques

Tableau 05: Quelques exemples des composés phénoliques et leurs origines (Harborne ; 1980),(Macheix., et al ; 1990)

Squellette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïques	Epices, fraise
C6-	Acides	Acides caféique,	Citrus

<b>C3</b>	hydroxycinnamique coumarines	férulique Scopolétine	
<b>C6-C4</b>	Naphtoquinones	Juglone	Noix
<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènes	Resvératol	Vigne
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes	Kaempférol, quercétine	-Fruits, légumes, fleurs
	Flavonols	Cyanidine, pélagonidine	
	Anthocyanes		-Fleurs,
	Flavanols	Catéchine, épicatechine	fruits rouge
	Flavanones	Naringénine	-Pomme, raisin
	Isoflavonoïdes	Déidzène	-Citrus
			-Soja, pois
<b>(C6-C3)2</b>	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
<b>(C6-C3)n</b>	Lignines	/	Bois, noyau des fruits
<b>(C15)n</b>	Tannins	/	Raisin rouge, Kaki

### III.2.1. Tannins

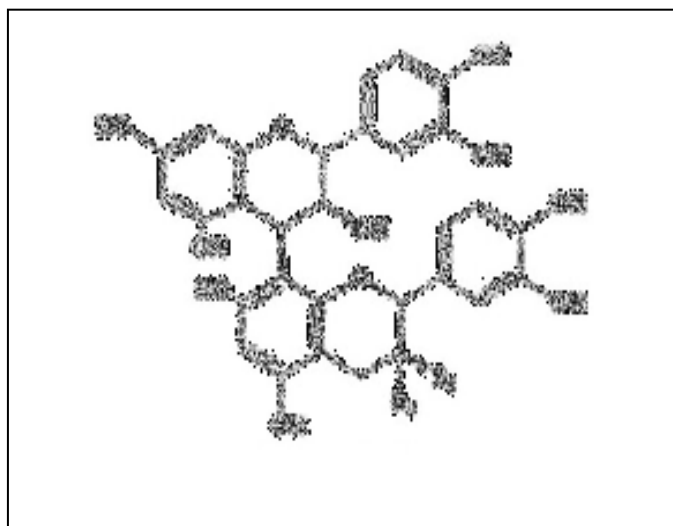
Les tanins sont des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Haslam ; 1996) ,(Cowan ; 1999).

Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Scalbert ; 1991).

On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

1- Tannins hydrolysables: sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique (acide gallique ou acide hexahydroxydiphénique (HHDP) ).(Bruneton .J ; 1999). Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique. (Edwin ; 1996).

2- Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. (Bruneton ; 1999).Ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). (Edwin ; 1996)



**Figure 09 : Unité structurale de base des tanins condensés** (Garrido et Borges ; 2013).

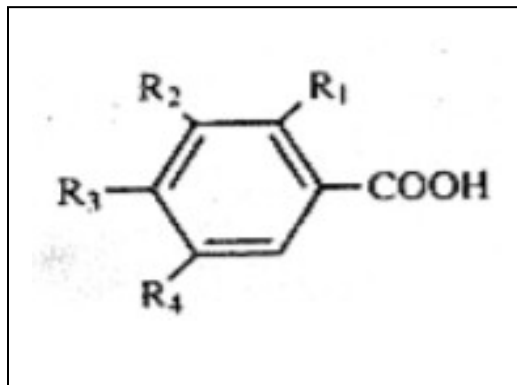
- Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués :

### III.2.2.Acides phénoliques

**A. Acides hydroxybenzoïques :** dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6 - C1. Ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes.

Incluse plusieurs molécules et les plus fréquentes sont; (p- hydroxybenzoïques, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique, salicyclique, gentisique, etc.) (Guignard ; 1974)(Guignard., et al ; 1985).

Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (Bruneton ; 1993), (Macheix et al ; 2005).

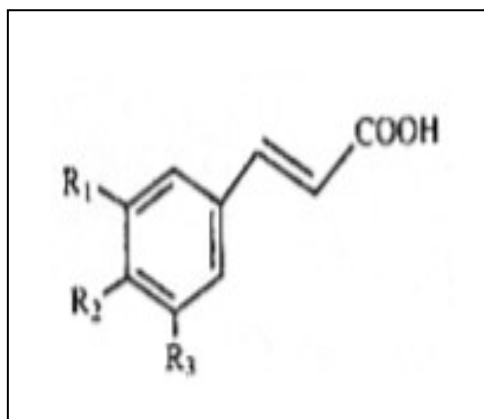


**Figure 10 : Acides hydroxybenzoïques**

R1=R2=R3=R4=H.	acide benzoïque (non phénolique)
R1=R2=R4=H, R3=OH.	Acide p-hydroxybenzoïque
R1=R4=H, R2=R3=OH.	Acide protocatéchique
R1=R4=H, R2=OCH3, R3=OH.	Acide vanillique
R1=H, R2=R3=R4=OH.	Acide gallique
R1=H, R2=R4=OCH3, R3=OH.	Acide syringique
R1=OH, R2=R3=R4=H.	Acide salicylique
R1=R4=OH, R2=R3=H.	Acide gentisique

**B. Acides hydroxycinnamiques :** Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6 – C3) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique (Richeter ; 1993 , Guignard ; 1974 , Psotova., et al ; 2003).

Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques l'acide p-coumarique (et ses isomères, les acides o- et m-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique (Macheix., et al ; 2005).

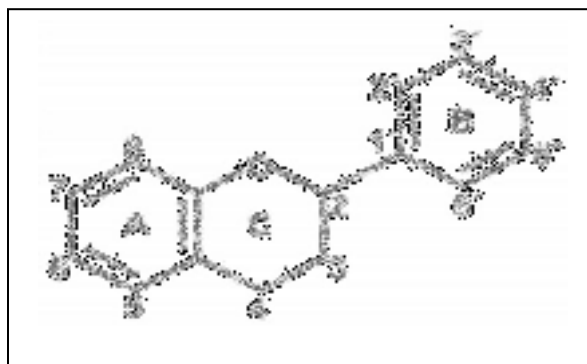


**Figure 11: Acides hydroxycinnamiques « phénylpropanoïdes »**

R1=R2=R3=H.	Acide cinnamique (non phénolique)
R1=R3=H, R2=OH.	Acide p-coumarique
R1=R2=OH, R3=H.	Acide caféique
R1= OCH3, R2=OH, R3=H.	Acide férulique
R1=R3=OCH3, R2=OH.	Acide sinapique

### III.2.3. Les flavonoïdes

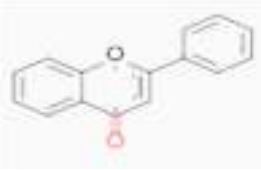
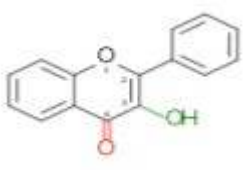
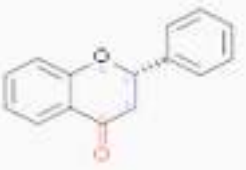
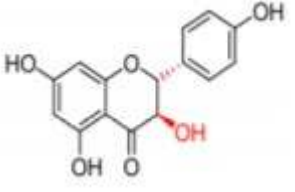
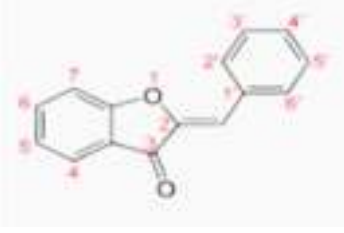
Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes qui ont une origine biosynthétique commune, ce qui explique qu'ils partagent la même structure de base (Grotewold E, 2006), qui est constitué d'un squelette de phényl-2-benzopyrane que désigne le noyau FLAVONE à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), conformé de deux noyaux aromatiques en C6 (noyaux A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné de trois carbones qui dit cycle pyrone C (Erlund ; 2004),(Yao., et al ; 2004).

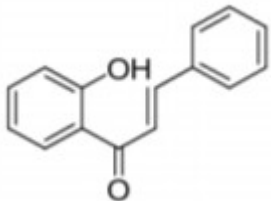
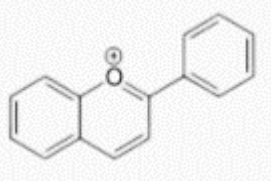
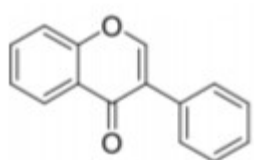


**Figure 12: Structure de base des flavonoïdes (Bravo ; 1998).**

Peau des fruits, persil, et céleri

**Tableau 06** : Principales classes des flavonoïdes et leurs sources alimentaires (Moon ; 2006).

Classe	Squelette	Exemples	Source alimentaires
Flavone		Apigénine, Lutéoline, Chrysin	Peau des fruits, persil, et céleri
Flavonol		Quercétine, Kaempférol Myricétine	Poireau, radis, thé noir, oignon, pomme, olive et brocolis
Flavanone		Naringénine, Eriodictyol , Taxifoline	Poireau, radis, thé noir, oignon, pomme, olive, brocolis, et vin rouge
Dihydroflavonols		Dihydrokaempférol	Fruits de genre citrus
Aurone		Hispidol, Aureusidine, Sulfurétine, Maritimetine.	/

Chalcone		Butéine et phlorétine	/
Anthocyanidol		Cyanidol, malvidol et apigénidol	Raisin, fraise et framboise
Isoflavones		Genisteine, Daidzeine	Légumineuses (soja, et pois chiches verts), et graines de tourne sol

### III.2.4. Les propriétés biologiques des polyphénols

Le tableau ci de sous résume quelque propriété biologique des polyphénols :

**Tableau 07:** propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme

Composant phénolique	Activité biologique	Référence
Acide phénolique	Antibactériennes Antifongiques Antioxydants	(Badereddine., et al ; 2014).
	antiulcéreuses antiparasitaires	(Nsemi Muanda ; 2010).

Flavonoïdes	-Antitumorales -Antiparasitaires -Antibactériennes	(Nsemi Muanda ; 2010).
	-Anti-inflammatoires analgésiques hypotenseurs -Antivirales diurétiques antioxydants -Antithrombotique	(Yezza., et al ; 2014).
	-Anti-allergique anticarcinogène -Anti-ulcère -Antispasmodiques -Anti-hépatotoxique	(Hamza., et al ; 2015).
	-Activité hypocholestérolémian te -Activité antidiabétique -Activité antimitotique -Activité anxiolytique	(Zoughlache ; 2009).

	-Activités estrogéniques -Anti-estrogéniques -Activité sur les maladies-neuro-dégénératives -Activité insecticide	(Morel ; 2011).
	-Anti-influenza	(Khaldi ; 2015).
	Vasodilatateur	(Tigrine ; 2014).
Coumarine	Protectrices vasculaires, anti- inflammatoires, anti Inductrice de l'apoptose ,Anti diarrhéique parasitaires analgésiques  -Anti œdémateuses	(Nsemi Muanda ; 2010).
Tanin	-Anticoagulant antioxydant  -Antitumorales Immunostimulant  -Antimutagène	(Biaye ; 2002).
	-Anti hypertensive Antiinflammatoire  -Antivirale -Antibactérienne  -Antifongique  -Antiulcéreuse stabilisation du collagène cicatrisant	(Hamza., et al., 2015).  (Aissous ., et al ; 2016).

Lignine	Antiviral, anticancéreux, antimicrobienantio xydant	(Aissous., et al ; 2016).
---------	--	------------------------------

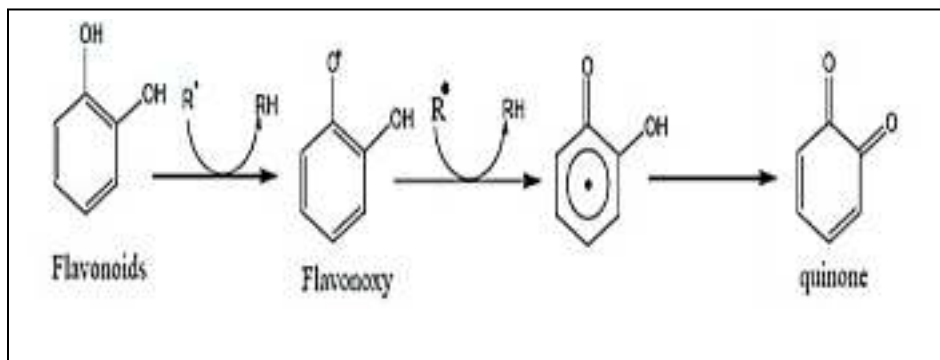
L'activité anti oxydant des principaux polyphénols (flavonoïde, Acide phénolique, les tanins)

### III.3. L'activité anti oxydant des polyphénols

#### III.3.1. L'activité anti oxydant des flavonoïdes

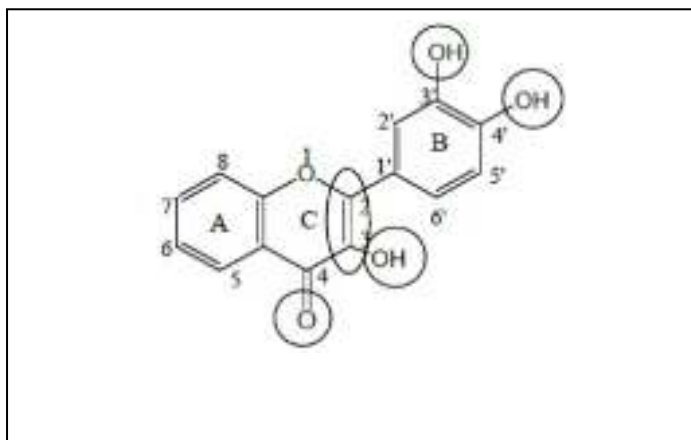
De nombreuses études ont établi que les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules par différentes actions (Van Acker. ; et al ; 1995).

**A. Effet scavenger des radicaux libres :** les flavonoïdes (Fl-OH) sont capables de réduire les radicaux libres par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy (Fl-O) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure stable.(Jovanovic., et al ; 1994). (Figure 15 ).



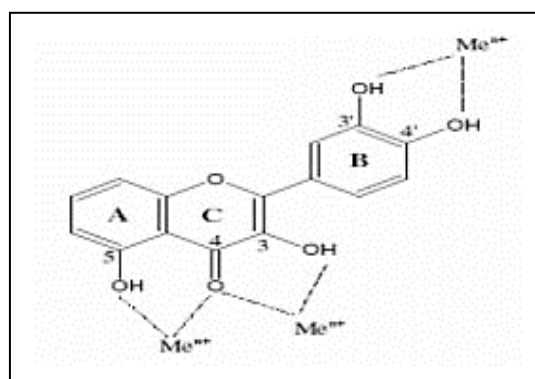
**Figure 13: Effet scavenger sur les radicaux libres (R•) par les flavonoïdes** (Jovanovic., et al ; 1994).

- La capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres est due à la présence de la structure ortho-dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol), la double liaison insaturée entre C2 et C3 adjacente à la fonction 4-oxo et la présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3 (Rice-Evans., et al ; 1996). (Figure 16).



**Figure 14 : Éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes** (Rice-Evans., et al ; 1996).

**B. La chélation d'ions métalliques** de transition comme les ions du fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) et du cuivre ( $\text{Cu}^{+}$ ) qui sont responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène (empêchant ainsi la réaction de Fenton) (Ahmad, 1995; Dacosta, 2003; Ferrali et al., 1997), Les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques sont le noyau catéchol sur le cycle B, les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C et les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles C et A (Moridani., et al ; 2003). (Figure17).



**Figure 15: Sites proposés pour la chélation des ions métalliques** (Van Acker., et al ; 1996).

- la protection des systèmes de

**C. défense antioxydants** par la régénération des antioxydants liés aux membranes comme l' $\alpha$ -tocophérol (Chebil ; 2006).

**D. Inhibition ou neutralisation** de l'activité de certaines enzymes oxydantes responsables de la production d'ERO comme l'oxygénase et la xanthine oxydase(Cotelle ; 2001),(Chebil ; 2006).

### **III.3.2. Les tanins**

La capacité des tanins à créer des complexes avec les protéines par des liaisons hydrogènes, des liaisons hydrophobes ou des liaisons covalentes, leur permet alors de désactiver les adhésions microbiennes, enzymatiques et les enveloppes cellulaires transportant les protéines des microorganismes (Cowan ; 1999). Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres (Rahman., et al ; 2006), ils inhibent les ions  $\text{Cu}^{2+}$  qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages in vitro (Yoshida., et al ; 1999).

### **III.3.3. Les acides phénoliques**

Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont les acides cinnamiques et caféiques, On les retrouve présents dans le thym et la téragone .l'acide gallique et l'acide chlorogénique. (Cheng.,et al ; 2008). .Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Cowan ; 1999). Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris in vitro et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (Kawada.,et al ; 2001) ,(Rangkadilok., et al ; 2007). Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux (Lee., et al ; 2005).

## IV. les radicaux libres, stress oxydant et antioxydant

### IV.1. les radicaux libres

Le radical libre est une espèce chimique (molécule ou atome) qui possède un ou plusieurs électrons célibataires dans la couche externe. Cette espèce est très instable et réagit rapidement avec d'autres molécules. Il est un composant, tentant de capturer l'électron nécessaire à la stabilité. Lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche, une réaction en chaîne commence. En libérant son électron, la molécule atteinte se transforme en radical libre.

#### IV.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont des molécules qui dérivent de la molécule d'oxygène, ils sont constitués des radicaux libres comme: Le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), le monoxyde d'azote ( $NO\bullet$ ). et dérivés oxygénés non radicalaires à forte toxicité, comme: le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxyde nitrite ( $ONOO^-$ ) sont les espèces réactives de l'oxygène les plus courantes.

**Tableau 08:** les principales espèces réactives de l'oxygène (Sebastien F; 2006).

ERO	Formule chimique
Anion radical superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Trioxygène moléculaire	$O_3$
Oxygène singulet	$^1O_2$
Radical hydroxyle	$OH\bullet$
Radical hydroperoxyde	$HOO\bullet$
Radical peroxyde	$ROO\bullet$
Peroxyde et hydroperoxyde	$ROOR$ et $ROOH$
Radical alkoxyde	$RO\bullet$
Radical oxyde nitrique	$NO\bullet$

Peroxynitrite	ONOO•
Hypochlorite	ClO-

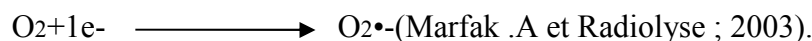
#### IV.1.2.Source et formation des ERO

On distingue deux types de sources soit endogènes ou exogènes

##### IV.1.2.1. Les sources endogènes

###### A. La mitochondrie

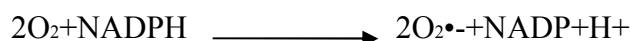
90% des ERO seraient produits par la mitochondrie lors du transfert d'électrons dans sa chaîne respiratoire au cours du métabolisme énergétique cellulaire (Balaban et al ; 2005 , Milane ; 2004 , Haton ; 2005 , Borg & Reeber ; 2008). Ils s'agit de l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  et du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  (Chatre; 2017).



###### B. L'inflammation et NADPH oxydase

L'inflammation est une source importante d'espèces réactives de l'oxygène, qui sont produites directement par le complexe enzymatique NADPH oxydase qui joue un rôle important dans la réponse immunitaire (Nadji B ; 2010), dans les cellules phagocytaires actives telles que les neutrophiles, (Rahman ; 2007). Les éosinophiles et les macrophages. Lors de l'activation, les macrophages provoquent une augmentation de l'absorption d'oxygène, entraînant une variété de ERO, notamment l'anion superoxyde, l'oxygène nitrite et le peroxyde d'hydrogène (Conneret Grisham ; 1996).

###### NADPHoxydase



(Alain .M ; 2011) , (Guillaume .J ; 2008) , (Servais.S ; 2004) , (Caroline.J ; 2003).

###### C. Le système xanthine/xanthine oxydase

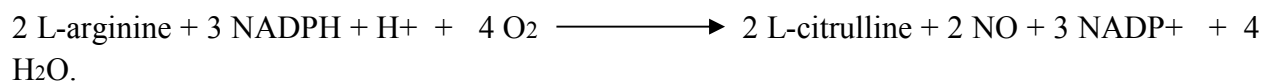
De plus, le système xanthine/xanthine oxydase permet la formation de l'anion superoxyde par la réaction suivante.

###### Xanthine oxydase



### D. Le NO-synthase

Cette enzyme produit du monoxyde d'azote, ou oxyde nitrique, un radical libre de formule chimique  $\bullet\text{N}=\text{O}$  présente dans la circulation sanguine (Huiying Li, C.S. ; 1999). Ces enzyme catalysent l'oxydation de l'acide amine L-arginine pour produire de la L-citrulline et du NO par la réaction suivantes:



### E. Le Peroxysome

Les peroxysomes sont une importante source de production d' $\text{H}_2\text{O}_2$  cellulaire (Boveris et al, 1972). Toute fois, l' $\text{H}_2\text{O}_2$  est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein (Balaban., et al ; 2005).

### F. Le lipoxygénase

Les lipoxygénase ou LOX font partie de la famille des oxydoréductases. Chez les plantes, sont généralement classés selon la position spécifique d'oxygénation de l'acide linoléique: 9-lipoxygénase ou 13-lipoxygénase (Gilabert., et al ; 2002) ,(Yokota., et al ; 2003).

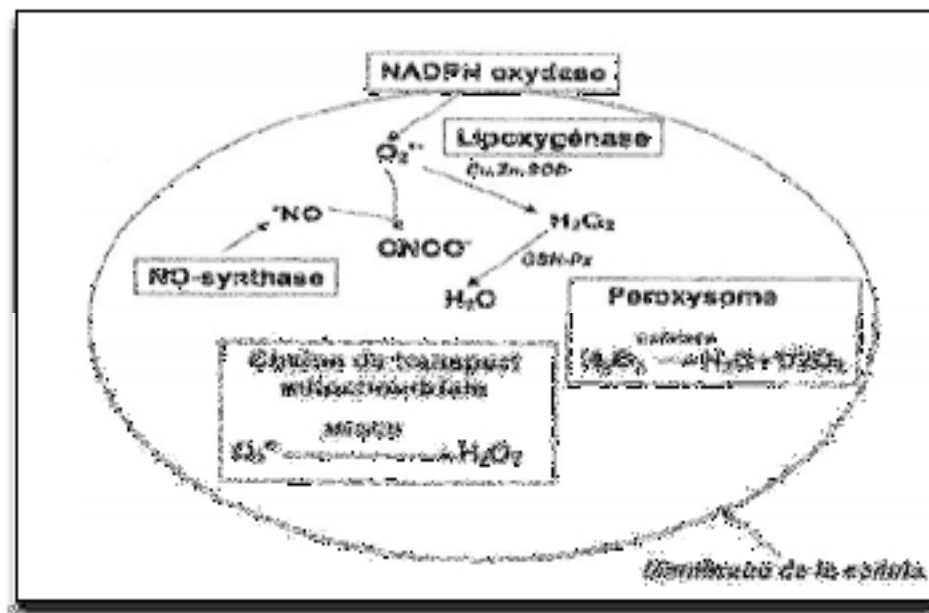


Figure 16: Source endogène des espèces réactives de l'oxygène.

### IV.1.2.2. Les sources exogène

Le corps humain est soumis à une variété de substances capables de provoquer des ERO, n'y compris des toxines environnementales telles que l'azote (NO) et le dioxyde (NO<sub>2</sub>), peuvent aussi réagir avec le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires et donner naissance à des radical OH (Kohen & Nyska ; 2002). des médicaments anticancéreux tels que les anthracyclines, (Peinetal ; 1995) , (Sinhaetal ; 1989), des xénobiotiques tels que des herbicides, (Kohen & Nyska ; 2002), la consommation d'alcool, la contamination par des métaux lourds et des composés chlorés (Priyadarsini, 2005). Rayonnements ionisants (rayons X et gamma) (Kohen & Nyska ; 2002), (Schrder & Krutmann ; 2005), (Sasaki ; 2006), (Sinhaetal ; 1989), et non ionisants (rayons UV), (Sinhaetal ; 1989), (Chenetal ; 2012). Une alimentation raffinée riche en graisses saturées, sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres (Menaetal ; 2009) et l'alimentation déséquilibrée car en ces envitamins etoligo-éléments (Zerargui ; 2015).

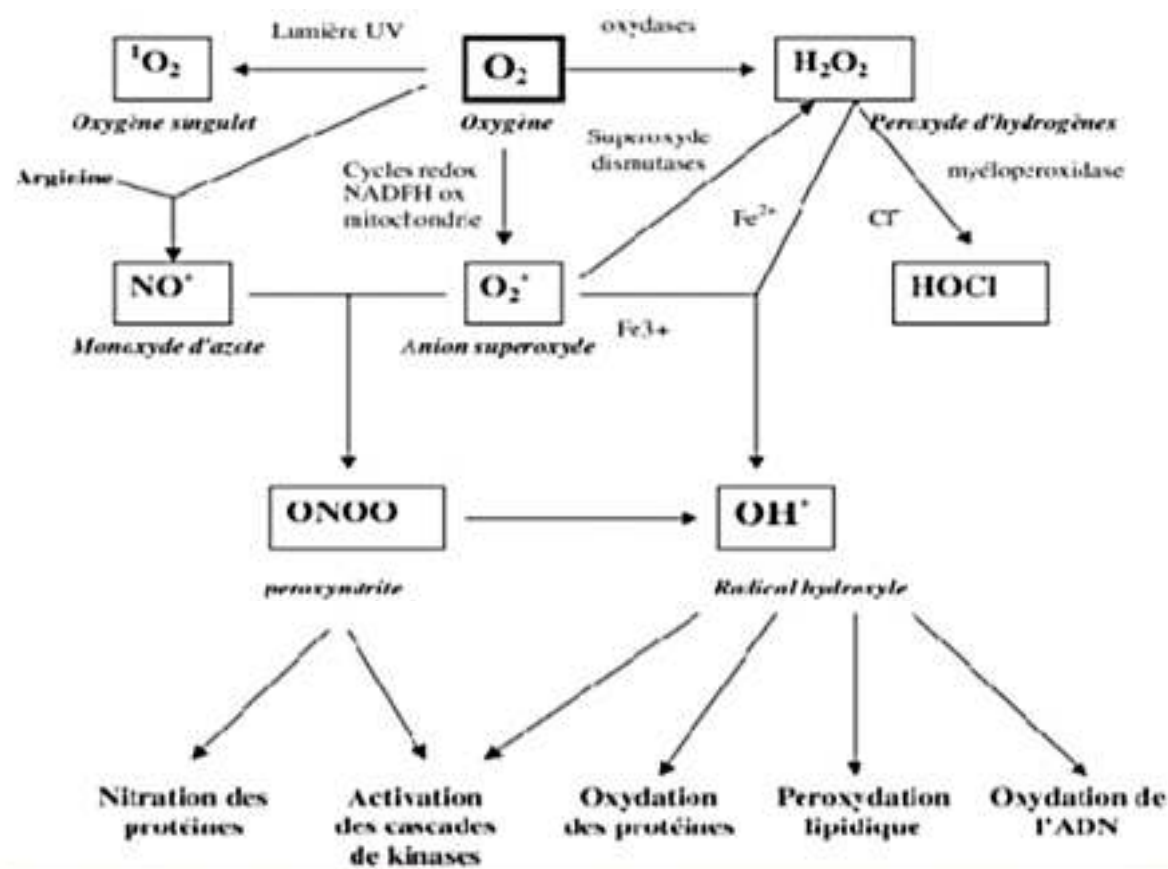


Figure 17: Origine et formation des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier .A; 2003;108-15).

### **IV.1.3. Rôles physiologique des ERO**

ERO remplissent une variété de fonctions physiologique utiles qui, à part la phagocytose, n'ont été découvertes que récemment. La fonction de certaines enzymes, la transduction des signaux cellulaires, la défense immunitaire contre les pathogènes, l'apoptose des cellules tumorales, la régulation de la dilatation capillaire, la fonction de certains neurones, notamment ceux impliqués dans la mémoire, la fécondation de l'ovule, la régulation des gènes, régulation de la croissance cellulaire et mort cellulaire.

### **IV.2. Stress oxydant**

Le stress oxydant est une circonstance anormale. Est défini comme un déséquilibre dans la balance entre les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) et les systèmes de défenses antioxydants, que se soit par déficit en antioxydants, par suite d'une surproduction de radicaux libres ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece., et al ; 2007). L'évaluation du stress oxydant peut se faire directement par la méthode de Résonance Paramagnétique Électronique (RPE) ou indirectement par la mesure des métabolites issus des réactions radicalaires (peroxydation lipidique, oxydation des protéines, oxydation de l'ADN), ou encore par l'évaluation des défenses anti-oxydantes.

Les molécules responsables de cette oxydation sont les radicaux libres. Ils proviennent de l'oxygène contenu dans l'air que nous respirons.

### **III.2.1. Conséquences de stress oxydant**

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes sur différentes molécule biologique (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides) pouvant affecter considérablement les mécanismes cellulaires.

#### **IV.2.1.1. Effets sur les lipides**

Les acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée d'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés sur deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde (Favier ; 2003). Cette réaction appelée peroxydation lipidique, dans cette réactions le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras.

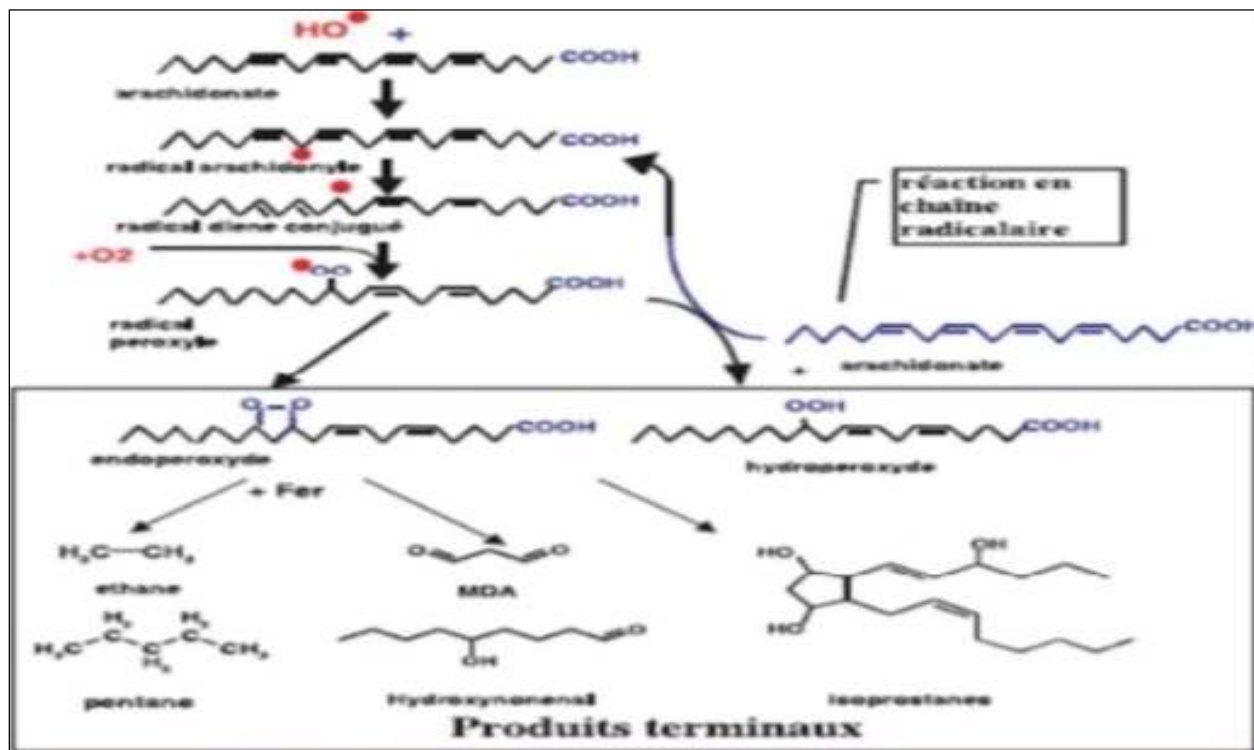


Figure 18 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras Polyinsaturés

#### IV.2.1.2. Oxydation de l'ADN

L'ADN est une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux libres, cette attaque pourrait être directe et entraîner l'oxydation des bases. Cela peut aussi se produire au niveau de la liaison entre la base et le désoxyribose entraîne **la formation de site abasique**. L'attaque des radicaux libres aux niveaux des sucres provoque l'hydrolyse de la liaison phosphodiester entre le groupement phosphate et le sucre entrant ainsi le **coupage simple ou double brin**. Les radicaux libres peuvent aussi attaquer les protéines qui sont très nombreuses à entrer en contact avec l'ADN pour le protéger (histones) ou pour le lire (enzyme et facteurs de la réplication ou de la transcription), entraîne des **pontages des protéines** (figure 4). Toutes ces attaques ont le potentiel de perturber le mécanisme de réplication de l'ADN (Hélène ; 2013), (Rehman .A ; 1999), (Favier .A ; 2003).

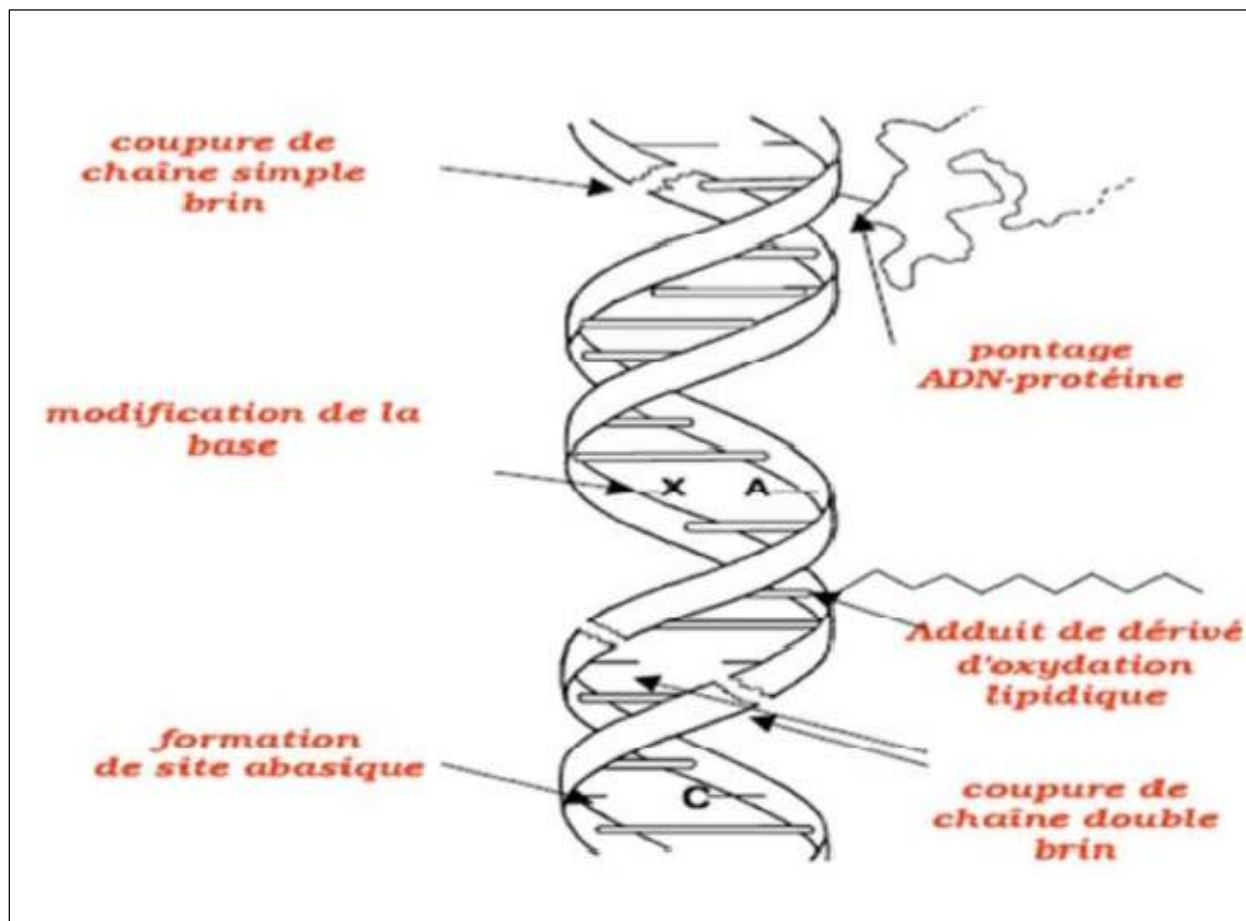


Figure 19 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire (Halliwell; 2007).

#### IV.2.1.3. Effets sur les protéines

Les protéines sont une cible majeure pour ERO en raison de leur abondance dans l'organisme. On pense que les protéines sont capables d'absorber la majorité des ERO produits ( 50 à 75 % )(Alain .M ; 2013). Les protéines les plus vulnérables aux attaques radicalaires sont celles qui ont un groupement shtol (-SH) (Alain .F ; 2003),(Jessica .T; 2011).Les protéines qui ont été oxydées perdent leurs propriétés biologiques et deviennent plus sensibles aux bactéries.(Jessica .T; 2011),(Ronald S.L.M; 2011).

Les radicaux libres sont également responsables de la production de ponts disulfure, qui altèrent la structure des protéines et altèrent leur activité biologique (activité enzymatique, transduction du signal ou système de transport).

### IV.2.2. Les maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydatif et la cause de nombreuses maladies le tableau fait desous représent les different pathologie et issus de stress oxydant:

**Tableau 09:** quelque maladie liée au stress oxydant

La maladies	La référence
<b>Alzheimer</b>	<b>Souàd A ; 2007.</b>
<b>Maladiesde Parkinson</b>	<b>Halliwell .B et Gutteridge J.M.C; 1999.</b> <b>Atawodi S.E; 2005.</b>
<b>L'infertilité masculine</b>	<b>Carin Daum-B; 2006.</b>
<b>L'ischémie reperfusion</b>	<b>Mitchinson M.J et Ball R.Y ; 1987.</b>
<b>Cardiovasculaires</b>	<b>Yokada .M et Kitta .T; 1988.</b>
<b>Cancer</b>	<b>Pullerits .R et Bokarewa .M ; 2005.</b>
<b>Cataracte</b>	<b>Pastre et priymenko ; 2007 , Surveswaran et al ; 2007.</b>
<b>L'asthme</b>	<b>Cavin ; 1999.</b>
<b>La cancérogenèse</b>	<b>Klaunig et Kamendulis ; 2004.</b>
<b>Parkinson</b>	<b>Carney &amp; Carney ; 1994</b>
<b>Viellissement accéléré</b>	<b>Sohal R.S et Mockett R.J ;2002.</b>
<b>Arthrose</b>	<b>Pastre et priymenko ; 2007.</b>
<b>Rhumatisme</b>	<b>Montagnier .L et Olivier .R ; 1998.</b>
<b>L'athérosclérose</b>	<b>Ko et al ; 1998 , Harrison et al ; 2003.</b>
<b>Le daibète.</b>	<b>Zou et all ; 2008.</b>

### IV.3. Antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. ils servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif.

#### IV.3.1. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés en antioxydants endogène et exogène.

##### IV.3.1.1. Antioxydants endogènes

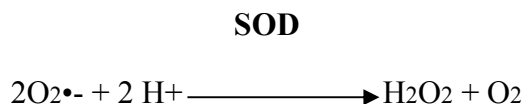
Les antioxydants endogènes sont à la fois enzymatique et non enzymatique.

#### A. Antioxydants enzymatiques

##### • Superoxyde dismutase (SOD)

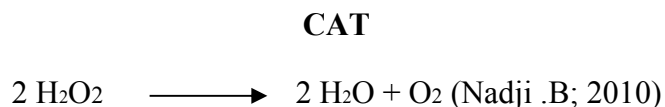
Le superoxyde dismutase (SOD) est le plus puissant antioxydant enzymatique. Il agit comme le premier système de défense contre les espèces réactives de l'oxygène dans la cellule. Elle catalyse la dismutation de deux molécules d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) au peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et de l'oxygène moléculaire  $O_2$ , rendant par conséquent l'anion superoxyde moins potentiellement dangereux (Hamadi .N ; 2010).

Il catalyse selon la réaction suivante (Hamadi .N; 2010).



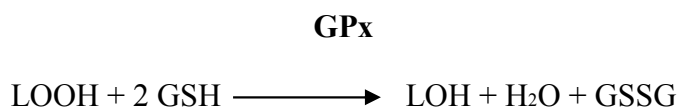
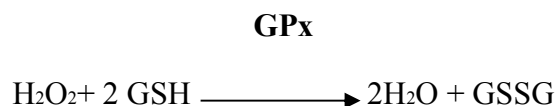
##### • Catalase

La catalase est l'une des enzymes antioxydantes les plus importantes comme le SOD. Elle est présente dans presque tous les organismes aérobies. Elle décompose deux molécules de peroxyde d'hydrogène en une molécule d'oxygène (Hamadi .N ; 2010). et deux molécules d'eau selon la réaction suivante.



• **Glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR).**

La GPx catalyse la transformation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et des hydroperoxydes de type lipidique (LOOH). (Hamadi .N; 2010).



Le (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la GR en utilisant le NADPH comme donneur d'électron selon la réaction suivante. (Ahmad .S; 1995), (Mates J.M; 1999), (Hamadi N; 2010).



## B. Antioxydants non enzymatiques

Ce groupe d'antioxydants est constitué de plusieurs composés capables de réagir directement ou réfléchis avec les ERO. Certains composés reproduisent en piégeant les radicaux libres et en captant l'électron célibataire. Le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, la coenzyme Q, les œstrogènes, la mélanine, la mélatonine et l'acide lipoïque ne sont que quelques-uns des réducteurs ERO endogènes.

• **Glutathion (GSH)**

Le GSH est plus largement impliqué dans la détoxification cellulaire, il permet également la réduction du peroxyde d'hydrogène dans l'eau via une réaction catalysée par la glutathion peroxydase.

• **L'acide urique**

C'est un piègeur puissant des radicaux •OH, ROO• et NOO•, produisant le stable du fait de la délocalisation des électrons dans le noyau purique.

### IV.3.1.2. Antioxydants exogènes

#### A. Antioxydants phénoliques

Les composés phénoliques sont les composés phytochimiques antioxydants les plus importants présents dans les plantes (Beta T; 2005). Pour les flavonoïdes, la propriété antioxydante la plus connue est la capacité à absorber les radicaux libres tels que  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$  et  $\text{LOO}\cdot$ . En raison de son groupement hydroxyle ( $\text{C}_3\text{OH}$ ) hautement réactif (Ghedira K ; 2005), les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres. Ils peuvent également protéger les membranes cellulaires en agissant à différents niveaux sur la peroxydation des lipides. (Macheix J.J; 2005).

#### B. Vitamines

Les vitamines sont des microéléments nécessaires à divers processus biochimiques et physiologiques dans le corps. Il est bien connu que la plupart des vitamines ne peuvent pas être synthétisées par la cellule (vitamine C, D, E, B12).

##### • Vitamine E

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, proposée pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs. C'est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans les végétaux (par exemple, l'huile de palme, d'olive et de tournesol) reconnue comme antioxydante.

La vitamine E, elle, s'occupera de la régénération des cellules. De par son action anti-âge, elle bloquera les effets des radicaux libres tout en maintenant l'élasticité et l'hydratation de la peau. Elle est un antioxydant puissant qui réduit les dommages causés par les rayons UV sur la peau. La vitamine E est facilement trouvable dans les fruits oléagineux, comme la noisette ou les amandes, ainsi que dans les céréales complètes et les huiles végétales (huile de blé, huile de tournesol...).

##### • Vitamine C

C'est l'un des antioxydants hydrosolubles les plus courants trouvés dans les fluides intracellulaires et extracellulaires. Les ERO tels que  $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$  peuvent réagir directement avec la vitamine C. Elle a la capacité de recycler l' $\alpha$ -tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides. (Hamadi .N; 2010).

#### C. Caroténoïdes (Car)

Les carotènes et xanthophylles sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène unique (Valko., et al ; 2006).

## Chapitre II. Matériels et méthodes

Le but de la présente étude est l'évaluation de l'effet de différentes méthodes d'extraction des composés phénoliques (la décoction et la macération) de la partie aérienne de la plante médicinale *Mentha piperata* par différents solvants (méthanol, acétone et éthanol) sur la teneur en composés phénolique set l'effet antioxydants.

### Chapitre II. Matériels et méthodes

#### I. Matériels :

##### I.1. Matériel végétal plante médicinale *Menthapiperata*-

L'espèce *Mentha piperata* à été récolté dans la région de Khenchela en mars 2022 et identifié par Mm Kara Ali. W, Docteur à l'université Abbes Laghrour de Khenchela et membre dans l'équipe de recherche physiopathologie cellulaire et plantes médicinales dans le laboratoire de biologie et de l'environnement à l'Université des frères Mentourie, Constantine 1. Les feuilles et les tiges de la plante récoltée ont été ensuite bien nettoyées et séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière du soleil pendant 15 jours puis broyée en poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

##### I.2. Réactif schimiques et solvants

Les réactifs chimiques et les solvants utilisés dont la présente étude sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 10 : Réactif schimiques et solvants

Solvants	Réactifs chimiques
- Méthanol	- DPPH* (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyl)
- Éthanol	-Réactif de Fehling
- Acétone	-Réactif de Wagner
- Acétate d'éthyle	- Réactif de Folin-Ciocalteu
- Butanol	- Carbonate de sodium
- Chloroforme	- Acétate de sodium

##### I.3. Les équipements

- Agitateur
- Rotavapeur
- Spectrophotomètre
- Bain-marie
- Vortex
- Balance

## II. Méthodes

### II.1. Préparation des extraits de *Mentha piperita*

Le présent travail a été effectué par deux méthodes d'extraction (macération (à froid) et décoction (à chaud), et par l'utilisation de trois types de solvants (méthanol, éthanol et acétone).

#### II.1.1.Extraction par décoction

L'extraction des composés phénoliques par décoction (l'extraction à chaud) a été effectuée selon la méthode décrite par Chavane et al (Chavane et *al.*,2001) en y apportant quelques modifications: Brièvement, 50 g de la poudre de *Mentha piperita* ont été ajoutés à 100 ml de solvant d'extraction (méthanol, éthanol ou acétone à 70 % v/v dans l'eau). Chaque mélange a été porté à ébullition dans un bain Marie durant 30 min puis filtré sur un tissu compresse et un coton. Ce procédé a été réalisé 2 fois, suivie chaque fois d'une filtration et soumis à une évaporation rotative à 50 °C afin d'obtenir l'extrait brut méthanolique, éthanolique ou acétonique à chaud.

#### II.1.2. Extraction par macération

Le protocole décrit par Romani (Romani et *al.*, 2006) a été apporté afin de pratiquer l'extraction des polyphénols de *Mentha piperita* par macération (l'extraction à froid), en y apportant quelques modifications: 50 g de la poudre de la plante ont été macérés à température ambiante pendant 24 h (deux fois) avec 100ml de solutions aqueuses des solvants : méthanol, éthanol, acétone, à 70 % v/v). Après filtration sur un tissu compresse et un coton, les filtrats ont été concentrés dans un Rotavapeur à 50°C afin d'obtenir les extraits brut méthanolique, éthanolique et acétonique à froid.(Romani, 2006. pp.221-225).

### II.2. Le Rendement des extraits de *R.montana*

Le rendement des différents extraits de la partie aérienne de *Mentha piperita* a été calculé selon l'équation suivante :

$$R(\%) = (P1/P2) \times 100$$

**P1** : poids de l'extrait

**P2** : poids de la poudre végétale de départ

### II.3. Etude qualitative

#### II.3.1. Screening phytochimique

Le but de screening phytochimique est basé sur la recherche et la détection des différentes classes des métabolites secondaires contenues dans notre plante.

**Tableau 11 :** Dans la page suivante montre les différents tests de screening phytochimique.

Métabolites	Méthode	Résultats attendues	Références
<b>Flavonoïdes</b>	5 ml extrait +quelques gouttes d'AlCl <sub>3</sub> (1%)	Apparition d'une couleur jaune	(Edeaga H.O, Okwu D. E, Mbaebie BO, 2005)
<b>Polyphénols</b>	2 ml extrait + quelques gouttes de FeCl <sub>3</sub> à 2%	Apparition d'une couleur bleue- noirâtre ou vert foncé	(Bourmada et Chaabana, 2020-2021).
<b>Alcaloïdes</b>	Extrait + 5 ml d'HCl (2N) au résidu.  -chauffer dans un bain marie –filtrer le mélange -Ajouter leréactif de Wagner (2g de KI et 1.27 d'I <sub>2</sub> solubilisé dans 100 ml d'eau distillée)	La présence de turbidité ou de précipitation	(Benmahdi A., 2001)

<b>Tanins totaux</b>	2 ml de la solution d'extrait + 2à3 gouttes de la solution de FeCl <sub>3</sub> à 2%	Apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité après quelques minutes	(Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO, 2004)
<b>Tanins galliques</b>	5 ml de l'extrait + 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl <sub>3</sub>	Apparition d'une coloration Bleu foncé.	(Edeaga H.O, Okwu D. E, Mbaebie BO., 2005)
<b>Saponosides</b>	Test 1 : 5 ml d'extrait ont été bien mélange avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min Test 2 : 5 ml de l'extrait ont été mélange avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré	La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides.	(Bourmada et Chaabana, 2020-2021).
<b>Composés réducteurs</b>	1 ml de l'extrait + 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl <sub>3</sub> + 5 ml d'acide	La formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en	(Edeaga H.O, Okwu D. E, Mbaebie BO., 2005)

	sulfurique contenant des traces de FeCl <sub>3</sub>	bleu-vert (acide sulfurique).	
<b>Anthocyanes</b>	5 ml de l'extrait +quelques gouttes de HCl	Apparition d'une couleur rouge	Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO., 2004
<b>Irridoides</b>	2 ml de l'extrait + quelques gouttes d'HCL Chauffer sur plaque chauffante quelques minutes	Apparition d'une couleur bleu	Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO., 2004
<b>Mucilages</b>	1 ml d'infusé + 5 ml d'alcool absolu pendant 10 min	Formation d'un précipité	Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO., 2004
<b>Sucres réducteurs</b>	5 ml d'extrait + 5 ml de réactif de Fehling Le mélange a été chauffé dans un bain-Marie pendant 3 min	Formation d'un précipité rouge brique	(Edeaga H.O, Okwu D. E, Mbaebie BO., 2005)
<b>Caroténoïdes</b>	10 ml d'extrait + 3 ml d'HCl et 3 ml de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Apparition d'une couleur Vert bleu	(Edeaga H.O, Okwu D. E, Mbaebie BO.,2005)

<b>Coumarines</b>	Introduire 5 ml d'extrait dans un tube, ajouter 0.5 ml de NH <sub>4</sub> OH à 10%, mélanger et observer sous UV à 366nm.	Apparition une fluorescence intense indique la présence des coumarines.
-------------------	---	---

### II.3.2. Chromatographique sur couche mince (CCM)

La Chromatographie sur Couche Mince-CCM- repose sur la séparation des différents métabolites d'un extrait selon leur force de migration dans une phase mobile (mélange de solvant) adapté au type de séparation rechercher, et leur affinité vis-à-vis une phase stationnaire (papier, gel de silice ou de polyamide). La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des informations (Rapport frontal - R<sub>f</sub> - et coloration) susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structure.

Les analyses par CCM dans la présente étude ont été effectuées avec des plaques de silica gel, sur support rigide en aluminium 10x10cm. L'extrait est déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1 cm du bord inférieur de la plaque. Ensuite, les plaques ont été placées dans les cuves de développement dans les Différents systèmes de solvants ont été utilisés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations (Tableau 02).

**Tableau 12:** Systèmes de solvants utilisés pour CCM sur gel de silice

Systèmes solvants	Pourcentage
<b>Acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique/eau distille</b>	(100/11/11/26)
<b>Toluène/acide acétique/méthanol</b>	(50/30/10)
<b>Acétone/eau distillée</b>	(50/50)
<b>Chloroforme/méthanol/eau distille</b>	(85/10/5)

Après développement dans une cuve en verre, les plaques ont été séchées, puis visualisées séparément par une lampe UV à 365 nm dans une chambre noire. Les couleurs des spots ont été enregistrées ainsi de même pour les Rf. Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention selon la formule suivante :

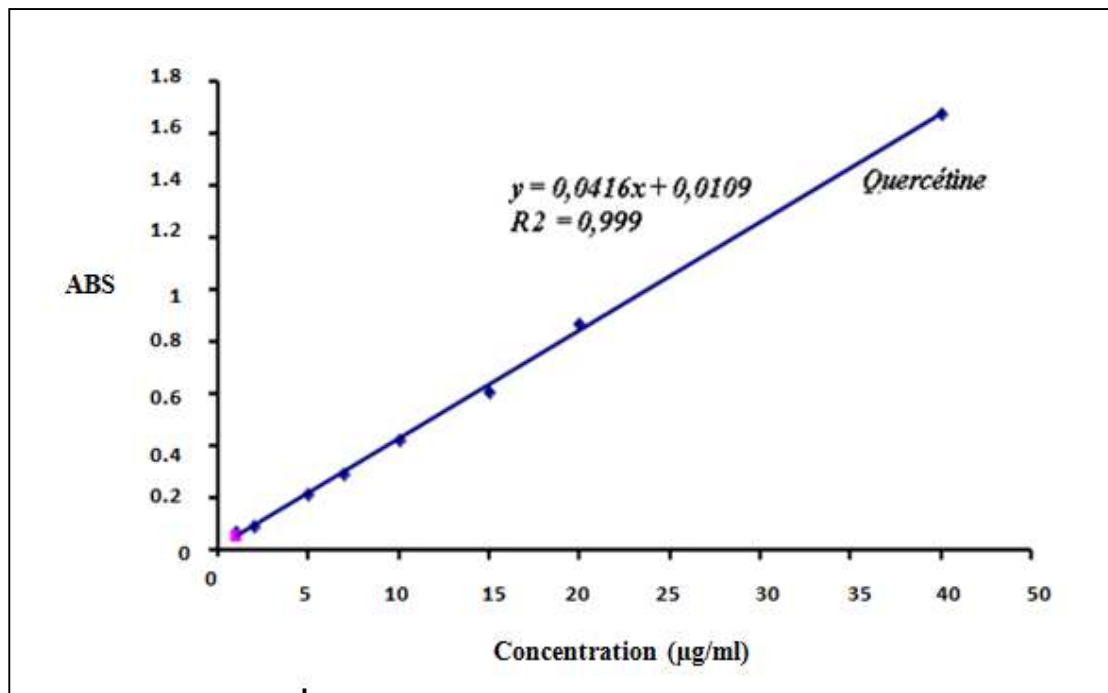
$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{la distance parcourue par le solvant.}}$$

Ce facteur permet de mentionner une information préliminaire sur la structure des composés phénoliques Séparés.

## II.4. Etude quantitative

### II.4.1. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait de la décoction (extraction à froid) et de la macération (extraction à chaud) de la plante *Mentha piperita* La été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium de (Boharun et al ., 1996) . Le principe de dosage est basé sur la formation d'un complexe entre trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et les flavonoïdes. 1 ml de chaque extrait (préparés dans l'eau distillé a été ajouté à 1 ml de la solution d' $AlCl_3$  (2 %, dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant  $AlCl_3$  par le méthanol (1 ml extrait + 1ml méthanol). La concentration des flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage  $y = ax + b$  établie avec la quercétine à différentes concentrations (0-40  $\mu g / ml$ , chacune a été préparée dans le méthanol) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les extraits servira à la quantification des flavonoïdes (figure 07). La teneur en flavonoïdes à été exprimé en milligrammes équivalent de quercétine par gramme du poids d'extrait (mg EQ / g E).



**Figure 20:** Courbe d'étalonnage de quercétine (mg EQ/g extrait).

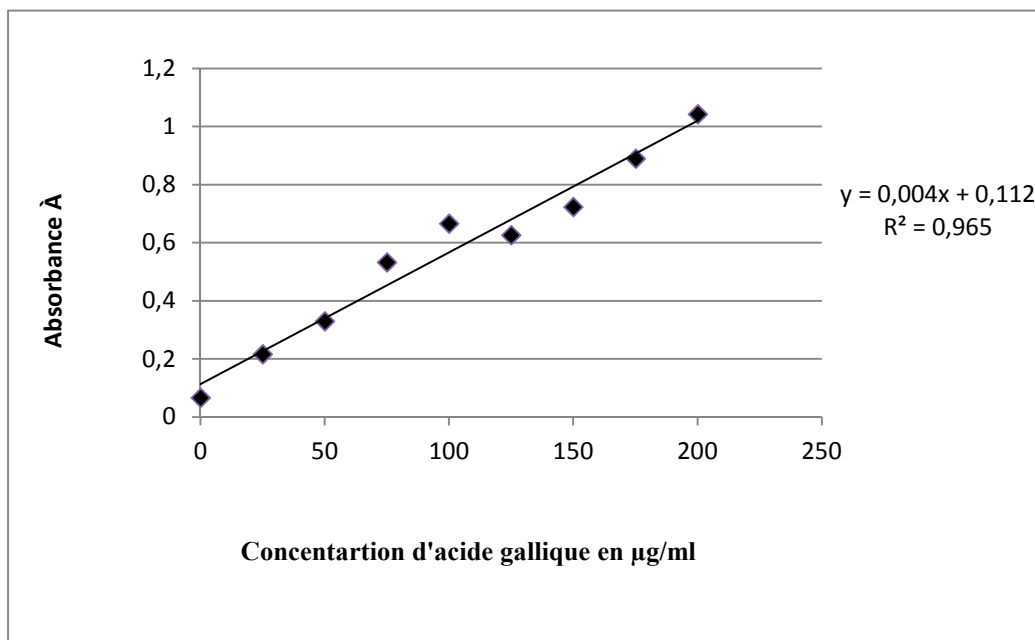
(Boharun T, (1996).

#### II.4.2. Dosage de polyphénols

L'estimation de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait de la décoction et de la macération de la plante de *Mentha piperita L* ont été réalisés en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) par une méthode de dosage spectrophotométrique (Singleton et Rossi, 1965). Cette technique est basée sur le principe de réduction de Folin-Ciocalteu, lors de l'oxydation des phénols. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum à 760 nm.

Brièvement, 0.3 ml de chaque extrait (dilués dans l'eau distillée) a été ajouté à 1.5 ml de Folin-Ciocalteu dilué (1 :10) et 1.13 ml de carbonate de sodium (7,5%) . Après 90 min d'incubation dans l'obscurité minutes et à température ambiante et, l'absorbance a été lue à 760 nm. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0-0.2 mg / ml)

Figure 08 et exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes du poids d'extrait.



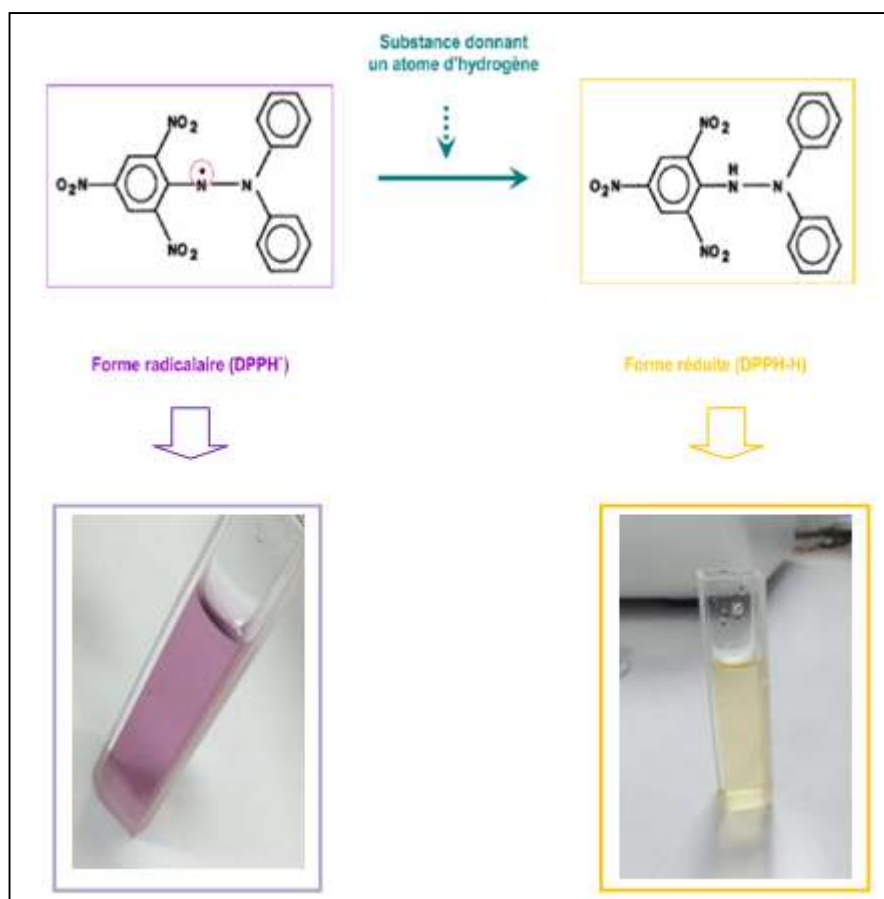
**Figure 21:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique (mg EAG / g E)

## II.5. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH•

L'activité antioxydante des extraits à piéger les radicaux libres a été déterminé par la méthode de Koleva (Koleva et al. 2002) qui utilise le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). (Koleva II, 2002. 13: 8-17).

### II.5.1. Principe de la méthode

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction du radical DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) de couleur violet foncée par un agent antioxydant (extrait de la plante) en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune pâle (**Figure 3**).



**Figure 22: La réduction du DPPH• en DPPH-H par un agent antioxydant**  
(Molyneux, 2004)

### II.5.2. Les étapes de la méthode

**A. Préparation de DPPH• :** Le DPPH<sup>•</sup> 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>) a été solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution de 100µM qui a été gardé à -20°C et à l'abri de la lumière ;

**B. Préparation des dilutions des extraits :** A partir d'une solution méthanolique mère de concentration C<sub>1</sub>=3 mg/ml de chaque extrait, les dilutions suivantes ont été préparées : C<sub>2</sub>:2mg/ml, C<sub>3</sub>:1mg/ml, C<sub>4</sub>: 0.5mg/ml, C<sub>5</sub>:0.25mg/ml ;

**C. Procédure :** A chaque volume de 3 ml de la solution méthanolique du DPPH<sup>•</sup>, un volume de 30 µl de chaque concentration préparée de l'extrait a été ajouté. Après agitation et incubation à une température ambiante pendant 15 min, les densités optiques des mélanges réactionnels ont été mesurée par le spectrophotomètre à 517 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol.L'activité antioxydante est comparée à celle d'un flavonoïde commercial qui est laquercetine .

**II.5.3. Expression des résultats** Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (% PI) du DPPH\* selon la formule suivante :

$$\% \text{ PI du DPPH}^* = [(A_B - A_E) / A_B] \times 100$$

$A_B$  et  $A_E$  sont les valeurs de l'absorbance du blanc et de l'extrait respectivement à 517 nm

A partir d'équations de régression linéaire des graphes :  $Y = aX + b$

la concentration de l'extrait essentiel pour balayer 50 % des radicaux libres ou  $CI_{50}$  a été calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, (pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des différents extraits de *Mentha piperita L*) selon l'équation suivante :

$$CI_{50} = (Y - b) / a$$

## II.6. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été faites en triple, Les résultats ont été exprimés en moyenne avec son écart type ( $n = 3$ ) pour chaque cas.

## Chapitre III .Résultats et discussion

### I. Rendement l'extraction

L'extraction par décoction (extraction a chaud) et par macération (extraction à froid) par les différents solvants (méthanol, éthanol et acétone) à permis d'obtenir des résidus secs des extraits bruts qui ont été caractérisé par leurs couleur, leurs aspect et leurs rendement par rapport à la poudre végétale sèche ( tableau 1)

**Tableau 13:** Rendement, couleur et aspect des extraits de *Mentha piperita*.

Methode de l'extraction	Les extraits	Poids du matériel végétal en (g)	Poids des extraits en (g)	Rendement en (%)	Aspect	Couleur
Extraction par macération	Méthanol Froid	50 g	10.65	21.3	Gelée	Vert foncé
	Éthanol Froid	50 g	8.99	17.98	Pouder	Vert foncé
	Acéton Froid	50 g	9.373	18.74	Gelée	Vert
Extraction par décoction	Méthanol chaud	50 g	8.65	17.29	Gelée	Vert foncé
	Éthanol chaud	50 g	8.58	17.16	Pouder	Vert foncé
	Acéton chaud	50 g	8.74	17.17	Gelée	Vert

L'opération de l'extraction de *Mentha piperita* à l'aide des deux méthodes d'extraction montre que la méthode d'extraction par macération (extraction à froid) a été révélé des rendements de 21,3 %, 17,98 % et 18,74% pour les extraits méthanolique, éthanolique et acétonique respectivement; tandis que la méthode d'extraction par décoction (extraction à chaud) a été montré des rendements de 17,29, 17,16 et 17,17 respectivement pour les trois extraits méthanolique, éthanolique et acétonique.

D'après ces résultats et selon la méthode d'extraction, on note que, le rendement de l'extrait méthanolique froid (21.3 %) est supérieur au rendement de l'extrait méthanoïque chaud

(17.29 %) alors que les deux extraits éthanoliques froid et chaud possèdent presque le même rendement (17.98 % et 17.16 %) respectivement. On remarque aussi la même chose pour les deux extraits acétoniques (18,74% pour l'extrait chaud et 17,17 pour l'extrait froid)

Il ressort à travers l'observation des rendements et selon le solvant utilisé pour l'extraction, que dans la méthode de décoction le méthanol donne le meilleur rendement d'extraction suivi par l'éthanol et l'acétone qui donnent presque des valeurs très proches. Tandis que, on ne remarque pas une grande différence dans le rendement après l'utilisation des trois solvants par la méthode de macération.

(Mahmoudi et al ; 2012) dans leurs étude sur l'espèce *Cynara scolymus* L.) Ont trouvé également que le méthanol par la méthode de décoction donne le meilleur rendement d'extraction avec une valeur de 20.13 %.

En revanche, les résultats des rendements obtenus par macération après l'utilisation des trois solvant sont différentes à ceux trouvés par ( Ozsoy et al ; 2008) sur *Smilax excelsa*.

Brièvement, l'extraction est une méthode discontinue dans laquelle le solvant doit être remplacé jusqu'à épuisement du matériel végétal, il est donc difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie en général. En effet, le rendement n'est pas relatif, il dépend des conditions de séchage (lieu de séchage, la température et la durée de séchage) est le stade de croissance de la plante avant la récolte (Su Y.C., Ho C.L; 2006),(Gazi M. R ; 2004)(Lee et al., 2003; Fellah, 2006).

## II. Les tests phytochimiques

Afin d'identifier les différents composés chimiques dans les trois extraits (méthanolique, éthanolique et acétonique) par la méthode de décoction et de la macération nous avons réalisé un criblage phytochimique en mettant en place un ensemble des réactions de caractérisation des métabolites secondaires à savoir : les flavonoïdes, les polyphénol, les alcaloïdes, les tanins Totaux, les tanins gallique, les saponoside, ...etc

Les résultats présentés dans le tableau 2.

Tableau 14: Les résultats des tests phytochimiques.

Méthabolites Secondaires	Les extraits						Observation
	Méthanolique		Ethanolique		Acétonique		
	M	D	M	D	M	D	
Flavonoïdes	+++	+	+++	+	++	+	Apparition d'une couleur jaune
Polyphénol	+++	+++	+++	+	+++	+	Apparition d'une couleur bleu-Noiratre
Alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	Absent de turbidité Ou de précipitation
Tanins Totaux	+++	+++	+++	+++	+++	+	Présence d'une coloration bleu-noir et précipité après quelques minutes
Tanins gallique	+++	+++	++	+	+++	+	Apparition d'une coloration bleu foncé
Saponoside	+++	+++	+++	++	+	+++	La formation d'une mousse persistante après 15 min
Composés réducteur	+	+	-	-	+	-	Formation d'une seul phase rouge brune
Anthocyanines	-	-	-	-	-	-	Absence de la couleur rouge
Iridoïde	-	-	-	-	-	-	Absence de la couleur Bleu.
Mucillages	-	-	-	-	-	-	Absence d'un précipité

Sucres réducteur	+++	+++	-	-	-	-	Formation d'un précipité rouge brique
Caroténoïdes	-	-	+	++	++	++	Formation d'une couleur vert-bleu.

Note : (M): Macération; (D): Décoction; (-): test négative ; (+) : test faiblement positif ; (++) : test positif ; (+++): test fortement positif.

Le screening phytochimique des différents extraits de la partie aérienne de la plante *Mentha Piperita* montre une richesse relative en métabolites secondaires.

L'extrait méthanolique, par les deux méthodes d'extraction, montre la présence des flavonoïdes, des polyphénols, des saponoside, des tanins totaux et gallique, des composés réducteurs et des sucres réducteurs et l'absence des alcaloïdes, des anthocyanines des caroténoïdes, des mucillages et des Irridoïde.

On note aussi les même résultats pour l'extrait éthanolique par les deux méthodes d'extraction sauf on remarque la détection des caroténoïdes et l'absence des composés réducteur et des sucres réducteurs en comparaison avec l'extrait méthanolique.

Les résultats de screening dans l'extrait acétonique obtenus par les deux méthodes d'extraction sont comparables à ceux obtenus par l'extrait éthanolique à l'exception on remarque la présence des composés réducteur dans l'extrait préparés par macération.

Les résultats présentées dans le tableau2, ne révèle pas une différence dans la composition chimique des extraits par rapport aux méthodes d'extraction. Alors que ces résultats montrent que le solvant utilisé dans l'extraction peut affecter les types des métabolites secondaires détectés dans les différents extraits.

Ainsi selon la littérature plusieurs paramètres que ce soit géographiques, physicochimiques ou biologiques peuvent affecter les types des métabolites secondaires dans les extraits à savoir : différence dans le site de récolte, l'environnement de la plante, la lumière, la saison, le type de sols, la période de récolte, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction utilisée, la partie de la plante étudiée ou leurs produits phytochimiques (Malik F ; 2012 , Sujana, P ; 2013 , N Akhtar ; 2015).

### III. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué au moyen des dosages spectrophotométriques, selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Une courbe d'étalonnage (Figure 23) a été tracée pour cet objectif, établie avec la quercétine à différentes concentration. Des mesures de densité pour chaque extrait ont été réalisées à 430 nm. Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent milligramme de quercétine par gramme d'extrait (Figure 23) et déterminés par l'équation de type :  $y = 0.0416x + 0.0109$

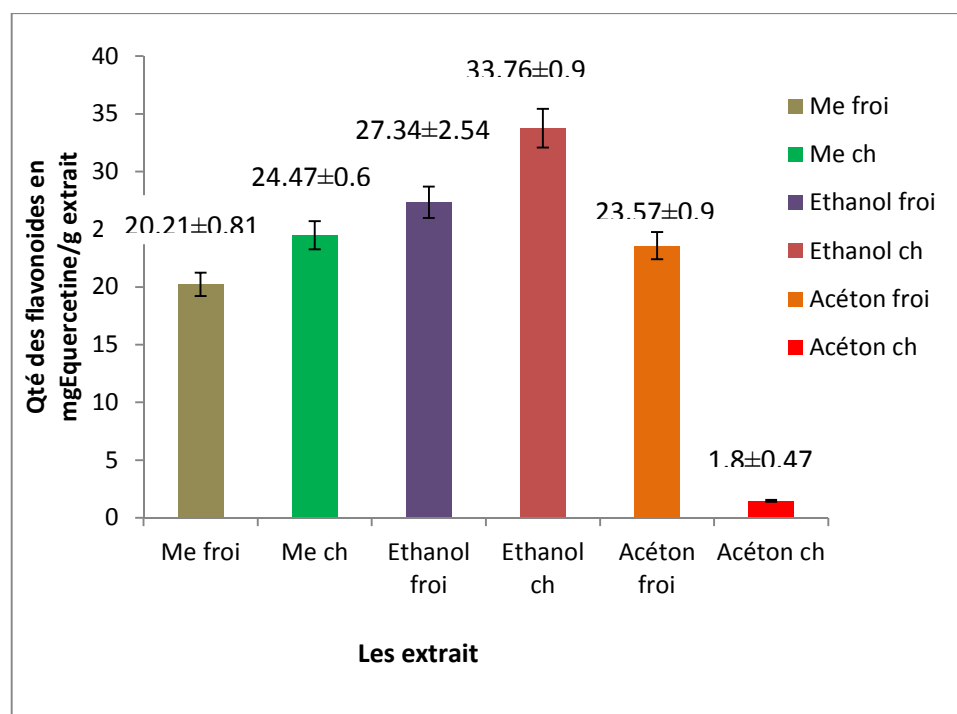
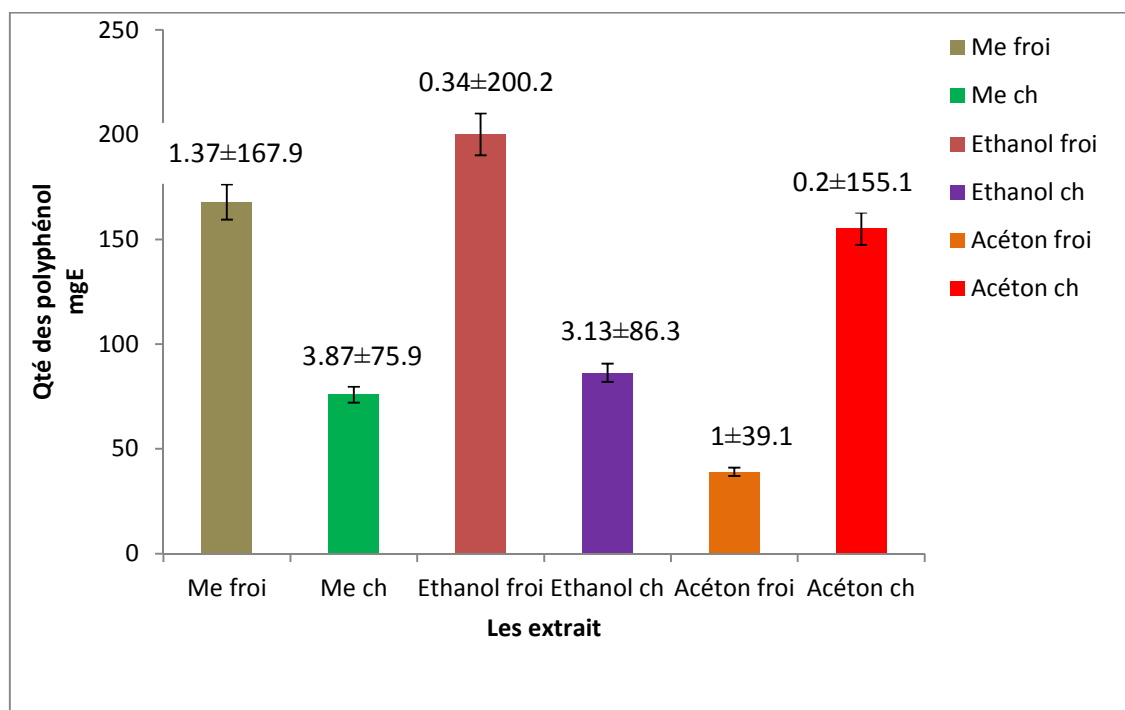


Figure 23 : Teneur en flavonoïdes (mgEQ/gE) dans différents extraits de *Mentha piperata*.

La figure ci-dessus, montre que la teneur en flavonoïdes dans *Mentha piperita* par l'utilisation des trois solvants (méthanol, éthanol et acétone) exprimés en mg équivalent quercétine par g extrait, dans les décoctés est supérieur a celui de macérâtes, à savoir une moyenne de 24.47, 76.33 et 23.57 dans les extraits préparés par décoction respectivement contre 20.21, 27.34 et 1.8mg EGA/g E pour les trois extrais préparés par macération.

#### IV. Dosage des polyphénol

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait (méthanol, éthanol et acétone) dans la plante a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu's. Une courbe d'étalonnage (Figure 24) a été tracée pour cet objectif, établie avec l'acide gallique comme standard à différentes concentration. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 760 nm. Les quantités des polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait (Figure 16) et déterminés par l'équation de type:  $y=0.0686x+0.113$ . Les résultats sont présentés dans la figure ci dessous.



**Figure 24: Teneur en polyphénol dans différents extraits de *Mentha piperita*.**

Selon les résultats obtenus dans la figure Les teneurs en polyphénols totaux obtenus par les deux méthodes d'extraction, révèlent que la macération semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux soit dans les extraits méthanolique, éthaolique ou acétonique en moyenne

de 167.9, 200.2 et 155.1 mg EAG/gE respectivement contre 75.9, 86.3 et 39.1 mg EAG/gE pour la décoction.

## V. Les résultats de l'étude qualitative par CCM

L'analyse qualitative du contenu phénolique par l'utilisation de CCM (dans des plaques de gel de silice) pour les trois extraits (méthanolique, éthanolique et acétonique) préparés par décoction et macération a été réalisée par l'utilisation de quatre système de solvants :

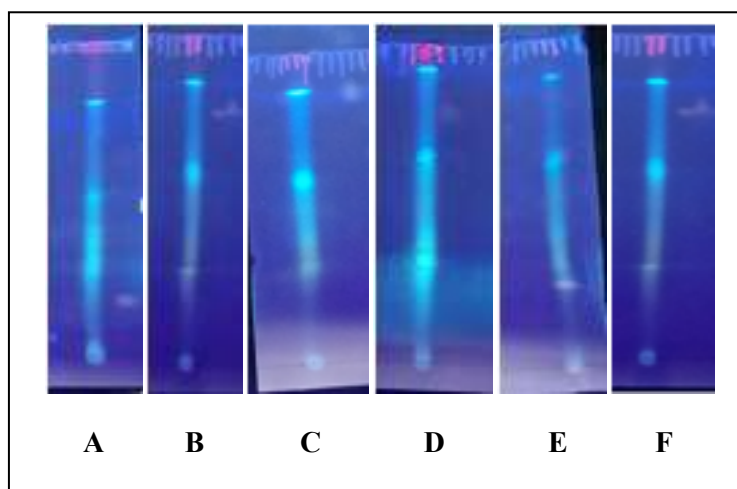
**Système 1** : Acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique/eau distille (100/11/11/26) ;

**Système 2** : Toluène/acide acétique/méthanol (50/30/10) ;

**Système 3** : Acétone/eau distillée (50/50) ;

**Système 4** : Chloroforme/méthanol/eau distille (85/10/5)

Les résultats obtenus sont représentés dans les figures et les tableaux .



**Figure 25:** photo de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait sur gel de silice par le système solvant 1 ( 365 nm).

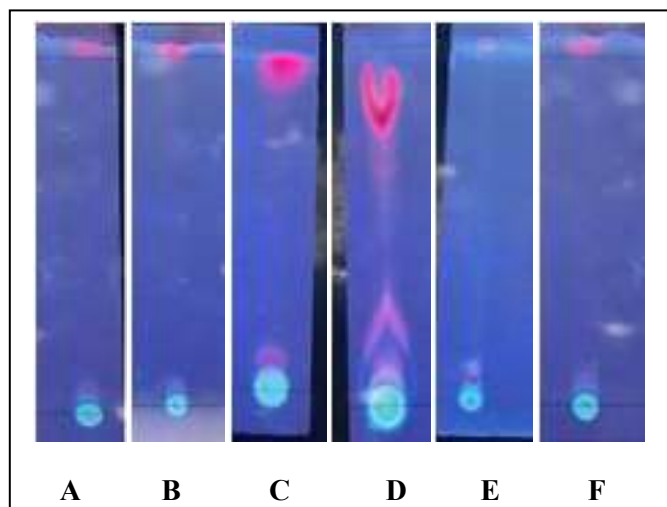


Figure 26:Photo de chromatogramme résultant de l’analyse d’extrait sur gel de silice par le système solvant 2 à 365 nm.

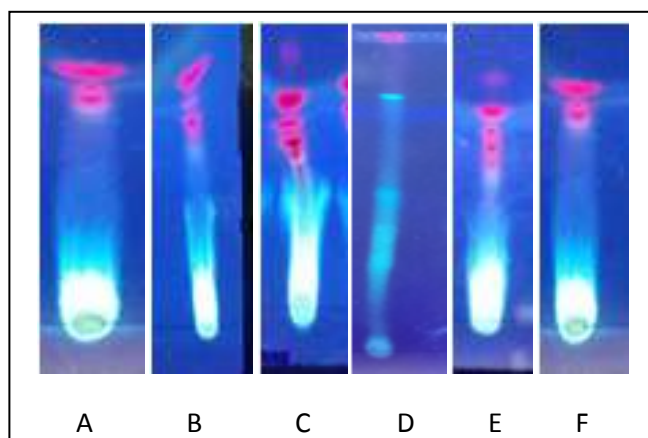
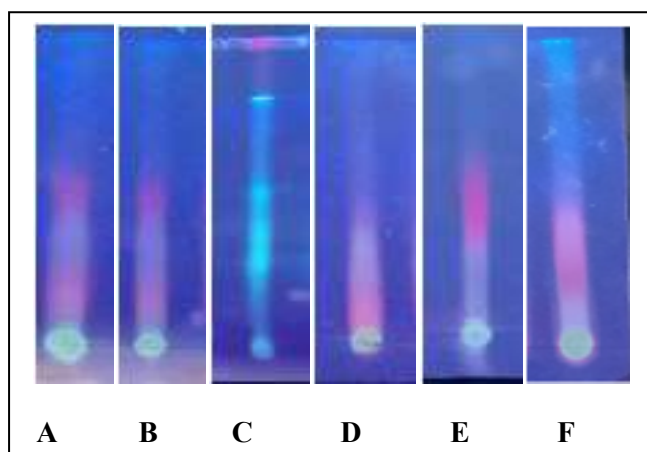


Figure 27 : photo de chromatogramme résultant de l’analyse d’extrait sur gel de silice par le système solvant: 3 à 365 nm.



**Figure 28 :** photo de chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait sur gel de silice par le système solvant: 4 et à 365 nm.

**Tableau 15 :** Les Rf et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le méthanol froid

Systèmes	Longueur d'onde (nm)	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure	Références
Système 1	365	Jaune	0.29	- Flavones	6(A)	Madjour ; 2014
		Bleu	0.61	- Flavonols, flavonones, aures		Markham ; 1982
		Blanc	0.89	-Acide phénol		Markham ; 1982
		Rouge	1	Anthocyanidine 3 glucoside		Markham ; 1982
		Marron	0.021	-Flavone	7(A)	Markham ;

Système 2	365	Rouge	0.052	Anthocyanidin e 3 glucoside	1982
			1		
Système 3	365	Rouge	0.17		8(A)
				0.44	Anthocyanidin e 3 glucoside
		Rouge clair	0.81		Markham ; 1982
		Rouge	0.88		
			1		
Système 4	365	Blanc	0.07	- Flavonols, flavonones, aurones	9(A)  Markham ; 1982
		Rouge clair	0.17	Anthocyanidin e 3 glucoside	
		Violet	0.43	-Flavone méthyle	Mamyrbeko va-Bekro et al ; 2013
		Bleu	1	- Flavonols, flavonones, aurones	Markham ; 1982

**Tableau 16 :** les Rf et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par le méthanol chaud

Systèmes	Longueur d'onde (nm)	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure	Références
		Jaune	0.29	- Flavones		Madjour ; 2014
		Bleu	0.61	- Flavonols, flavonones,		Markham ;

Système 1			aurones		1982
	Blanc	0.89	-Acide phénol	6(B)	Markham ; 1982
	Rouge	1	Anthocyanidine 3 glucoside		
	365	Violet	0.041	-Flavone méthyle	Mamyrbekova- Bekro et al ; 2013
Système 2		Rouge clair	0.072	Anthocyanidine 3 glucoside	7(B) Markham ; 1982
		Rouge	1		
		Voilet	0.13	-Flavone méthyle	Mamyrbekova- Bekro et al ; 2013
		Jaune	0.56	- Flavones	Madjour ; 2014
		Jaune	0.65		
Système 3		Rouge clair	0.71		
			0.80		8(B)
			0.9	Anthocyanidine 3 glucoside	
		Rouge foncé	1		
		Blanc	0.038	-Acide phénol	
		Rouge clair	0.15	Anthocyanidine 3 glucoside	
Système 4		Bleu	0.30	- Flavonols, flavonones, aurones	9(B) Markham ; 1982
		Rouge	0.47	Anthocyanidine 3 glucoside	

Bleu	1	- Flavonols, flavonones, aurones
------	---	--

**Tableau 17:** les Rf et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par l’Ethanol froid

Systèmes	Longueur d'onde (nm)	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure	Références
Système 1	365	Jaune	0.33	- Flavones	6(C)	Madjour ; 2014  Markham ; 1982
		Blanc	0.66	Acide phénol		
		Bleu	0.95	- Flavonols, flavonones, aurones		
		Rouge	1	Anthocyanidine 3 glucoside		
Système 2	365	Marron	0.061	-Flavone	7(C)	Markham ; 1982
		Rouge foncé	0.12	Anthocyanidine		
		Rouge clair	0.32	3 glucoside		
		Rouge foncé	0.73			
Système 3	365	Rouge	0.16	Anthocyanidine 3 glucoside	8(C)	Markham ; 1982
		Rouge	0.31			
		Rouge clair	0.44			
		Rouge	0.51			
		Rouge	0.64			

		Rouge	0.8	Anthocyanidine 3 glucoside	
		Rouge clair	1		
Système 4	365	Rouge	0.11	Anthocyanidine 3 glucoside	Markham ; 1982
		Blanc	0.30	-Acide phénol	
		Voilet	0.70	-Flavone méthyle	9(C) Mamyrbeko va-Bekro et al ; 2013
		Bleu	1	- Flavonols, flavonones, aurones	Markham ; 1982

**Tableau 18:** les Rf et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par l’Ethanol chaud

Systèmes	Longueur d’onde (nm)	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure	Références
Système 1	365	Jaune	0.33	- Flavones	6(D)	Madjour ; 2014
		Blanc	0.66	-Acide phénol		Markham ; 1982
		Bleu	0.95	- Flavonols, flavonones, aurones		
		Rouge	1	Anthocyanidine 3 glucoside		
Système 2	365	Violet	0.076	-Flavone méthyle		Mamyrbekova- Bekro et al ; 2013

		Rouge clair	0.12		7(D)		
		Rouge	1	Anthocyanidine 3 glucoside		Markham ; 1982	
Système 3	365	Rouge clair	0.16				
			0.41				
			0.60				
		Rouge	0.68			8(D)	Markham ; 1982
			0.73	Anthocyanidine 3 glucoside			
			0.82				
		Rouge clair	1				
Système 4	365	Rouge	0.09	Anthocyanidine 3 glucoside		Markham ; 1982	
		Jaune	0.33	- Flavones		Madjour ; 2014	
		Violet	0.44	-Flavone méthyle	9(D)	Mamyrbekova- Bekro et al ; 2013	
		Bleu	1	- Flavonols, flavonones, aurones		Markham ; 1982	

**Tableau 19:** les Rf et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par acétone froid

Systèmes	Longueur d'onde (nm)	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure	Références
Système 1	365	Jaune	0.32	- Flavones	6(E)	Madjour ; 2014
		Vert clair	0.62	-Rutine		Markham ; 1982
		Blanc	0.87	-Acide phénol		Markham; 1982
		Rouge clair	1	Anthocyanidine 3 glucoside		
Système 2	365	Rouge	0.03	Anthocyanidine 3 glucoside	7(E)	Markham ; 1982
		Rouge clair	1			
Système 3	365	Violet	0.1	-Flavone méthyle	8(E)	Mamyrbekova-Bekro et al ; 2013
		Jaune	0.27	- Flavones		Madjour ; 2014
		Rouge clair	0.39			
		Rouge	0.53	Anthocyanidine 3 glucoside		Markham ; 1982
		Rouge	0.58			
		Rouge	0.84			
		Marron	1	-Flavone		
Système 4	365	Rouge	0.28	Anthocyanidine 3 glucoside	9(E)	Markham ; 1982
		Violet	0.45	-Flavone méthyle	Mamyrbekova-Bekro et al ; 2013	
		Violet	1			

**Tableau 20** : les Rf et les couleurs des spots pour les deux extraits préparés par acétone chaud

Systèmes	Longueur d'onde (nm)	Couleur sous UV	Rf (cm)	Constituants possibles	Figure	Références
Système 1	365	Jaune	0.26	- Flavones	<b>6(F)</b>	Madjour ; 2014
		Vert	0.52	Rutine		
		Blanc	0.85	Acide phénol		Markham ; 1982
		Rouge	1	Anthocyanidine 3 glucoside		
Système 2	365	Marron	0.032	-Flavone	<b>7(F)</b>	Markham ; 1982
		Rouge clair	0.057	Anthocyanidine 3 glucoside		
		Rouge	1			
Système 3	365	Blanc	0.17	Acide phénol	<b>8(F)</b>	Markham ; 1982
		Rouge	0.75			
		Rouge	0.84	Anthocyanidine 3 glucoside		
		Rouge clair	1			
Système 4	365	Marron	0.21	-Flavone	<b>9(F)</b>	Markham ; 1982
		Jaune	0.40	- Flavones		Madjour ; 2014
		Bleu	1	- Flavonols, flavonones, aurones		Markham ; 1982

Les résultats de CCM présentés dans les figures 25,26,27 et 28 et les tableaux 12,13,14,15,16 et 17 montrent la présence des anthocyanidin 3-glycosides, flavones et Flavone méthyle, flavonols, flavonones, aurones, et acides phénoliques dans les décoctés et les macérâtes de la *M. Piperita* préparés par les trois solvants .

D'après ces résultats on peut noter que la phase mobile (Acétone/eau distillée (50/50)) est la meilleure pour la séparation des composés phénolique dans les décoctés et macérâtes de *Mentha piperita*.

La CCM nous a permis de contrôler la qualité des différents extraits, même si elle n'est pas suffisante pour identifier un constituant précis, elle nous a permis d'obtenir des renseignements utiles sur les éléments constitutifs de nos extraits (fluorescence, coloration, facteur de rétention...). Selon Markham (Markham, 1982) la plupart des flavonoïdes ne sont pas visibles sur le gel de chromatographie (cellulose) après leur migration, à l'exception des anthocyanines qui apparaissent en spots orange et les chalcones, aurones et 6-hydroxyflavonols qui apparaissent en jaune. Pour cette raison, les chromatogrammes doivent être visionnés sous lumière UV, et les flavonoïdes deviennent visibles (fluorescents) sous cette lumière (Markham, 1982 ; Hamlat, 2006).

## VI. Résultats et discussion de l'activité antioxydant

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour estimer l'effet antioxydant des plantes par le piégeage de radicaux libres synthétiques en solution dans des solvants polaires comme le méthanol à température ambiante. Les radicaux les plus fréquemment utilisés incluent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) parce qu'elle est l'une des méthodes les plus simple, les plus rapide et les plus efficace à cause de la grande stabilité du radical DPPH• (Bozin, et al., 2008; Yi et al., 2008; Nur Alam et al., 2013).

Dans ce test, la réduction de DPPH• à une forme non radicalaire DPPH-H, par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait de plante

Le DPPH• présente une coloration violet sombre, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydants donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire.

Les résultats de l'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH• par les décoctées et les macérates de *Menthapiperita* sont exprimés par le paramètre IC<sub>50</sub> (concentration efficace de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH• ) ce paramètre a été employé dans plusieurs études antérieurs, Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (Brand-Williams ; 1995 , Tsimogiannis D.I ; 2004 , Atoui A.K ; 2005).

Les résultats de cette activité sont figurent dans le **tableau 18**

**Tableau 21** : Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits

Extraits	IC <sub>50</sub> mg/ml
<b>Méthanol froid</b>	0.013±0.001
<b>Méthanol chaud</b>	0.014 ± 0.002
<b>Ethanol froid</b>	0.003 ± 0.0001
<b>Ethanol chaud</b>	0.003 ± 0.0001
<b>Acétone froid</b>	IC <sub>50</sub> < [0,001]
<b>Acétone chaud</b>	IC <sub>50</sub> < [0,001]

L'évaluation de l'activité antioxydant via la méthode de réduction de radical libre DPPH révèle qu'il n'est y a pas une différence entre les décoctés et les macérates. Tandis que selon le solvant de l'extraction et indépendamment de la méthode d'extraction on note que l'extrait acétonique et le plus actif comparé aux différents extraits (IC<sub>50</sub> < 0,001 mg/ml), suivi par l'extrait éthanolique (IC<sub>50</sub> = 0.003 mg/ ml) puis l'extrait méthanolique (IC 50 =0.013 mg/ ml par la macération et 0.014 mg/ml par la décoction).

En effet (Falleh et al., 2008) a montré que l'activité antioxydants ne dépend pas de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydants très importante L'effet scavenger des composés phénoliques sur les radicaux libres dépend de la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles (OH) libres,

fixés sur un cycle benzénique Il est généralement admis que les composés phénoliques peuvent agir comme des antioxydants par leur capacité de piégeage des radicaux libres, ils brisent la chaîne de ces derniers grâce à leur effet donneur d'atome d'hydrogène (Heim et al., 2002).

## **Conclusion générale et perspectives**

La connaissance et l'usage des plantes médicinales et aromatiques constituent un vrai patrimoine pour l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée durant ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribués à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par les plantes non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicaux tels que les antioxydants. Ces molécules naturelles de nature phénolique sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments et les séquelles néfastes des molécules chimiques de synthèse.

Ce travail porte sur la détermination de l'activité antioxydant de la plante *Mentha piperita*, de chercher des alternatives aux substances chimiques de synthèse, Dans un premier temps, la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux et en tannins des trois extraits (méthanol et éthanol et acéton) par les deux méthode (macération et décoction) .

L'extraction des composés phénoliques des feuilles de la plante a permis d'obtenir des rendements qui différent en fonction des solvants utilisés, alors que la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes était conséquente.

Le screening phytochimique et le CCM ont montré que la plante est riche en substances naturelles très variées tels que les flavonoïdes, les tannins et les saponines, les alcaloïdes les sucres réducteurs, les polyphénols, les caroténoïdes.

Ainsi, l'étude de l'activité antioxydant en utilisant une méthode complémentaire (le test de DPPH), a démontré que la plante étudiée est dotée d'un pouvoir antioxydant considérable probablement due à sa richesse en polyphénols et flavonoïdes, ceci est confirmé par l'évaluation de la teneur en ces deux composés donnant des valeurs assez importantes.

Ce travail va nous ouvrir des horizons de recherche ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelle, notamment en termes de mise en évidence des principes actifs et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Par ailleurs, les résultats de cette étude reste préliminaire et ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, donc, de nombreuses perspectives expérimentales découlent de cette recherche. En fait, des études plus approfondies nécessaires concluant plusieurs points à savoir :

- L'étude du pouvoir antioxydant par le test de DPPH a révélé un fort pouvoir antioxydant.
- Faire une étude comparative avec les autres fractions extraites à partir la même plante.
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité biologique des composés polyphénoliques en général.

Enfin, La plante médicinale mentha piperita riche en polyphénols et est une source prometteuse d'agents antioxydants, une recherche d'autres activités des extraits de ces plantes est nécessaire.

## Les Références Bibliographique

**Akroum S ; 2011.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse de Doctorat en sciences en physio- toxicologie. Université Mentouri de Constantine,P :6-23.

**Alain M ; 2011.** Supplémentation enoméga3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo , Thèse de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives. Université d'Orléans , 15-39.

**Andrew chevallier ; 2001.** Larousse encyclopédie des plantes médicinales P116

**Anne-Sophie Limonier ;2018 .**Thèse de doctorat, , Thème: la photothérapie de domaine les plantes médicinales au coeur de la pharmacie.

**Ardestani A and Yazdanparast R.** Antioxidant and free radicals scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chem. 2007, 104, 31-29.

**Atawodi S.E ; 2005.**Antioxidant potential of African medicinal plants. African Journal of Biotechnology 4, 128-133

**Athamena S ; 2009.**Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation, Mémoires de magister en biochimie appliquées. Université Hadj Lakhder- Batna, 17-39.

**Attou A; 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, mémoire de magister en biologie, l'université de Abou BekerBelkaid Tlemcen, 11 P.

**Akhtar N., Ihsan-ul-Haq, BusharaMirza ;2015** Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxydant properties of 61 medicinal plant species. Arabian journal of Chemistry.

**BabiorB M ; 1999.** NADPH oxidase :anupdate . Blood. 93 , 1464-1476.

**Barlierlaetitia ; 2013/2014.** Thèse pour le diplôme d'État de docteur en pharmacie par Sujet:- État des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'anges (de 2000 à 2013).

**Bonnaillie C., M. Salacs, E. Vassiliova et I. Saykova.** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachishypogaea L.*). Revue de génie industriel. Vol. 7.(2012). pp. 35-45.

**Benabdllah Amina ; 2016/2017.** Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences, filière : Biologie végétale option ecophysiologie et biotechnologies végétale. Thème : Étude écophysiologique, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le parc national d'Elkala( Nord-est Algérie) présentée par : universités frères mentouri Constantine 1

**Brahmi, Nabila, Chibane M.( Encadreur) ; 2008.** Mémoire de magister thème : étude de quelques propriétés biologiques des extraits polyphénoliques de cinq plantes médicinales année 2008 .Université Abderhmane Mira de Bejai Département des sciences Alimentaire laboratoire de biophysique et de scientométries L3 BS.

**Berrai Ratiba, Zibouch fatima ; 2016.** mémoire master en biologie étude des substances actives des plantes médicinales *Conium maculatum* L. *Foeniculum vulgare* L, *Melissa officinalis* L, et *Mentha piperita* L.2015/2016. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou , spécialité Génétique et amélioration de plantes.

**Beta T ; Nam S; Dexter J.E; Sapirsten H.D ; 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.* 82,390-393.

**Blois M.S ; 1958.** Antioxydants détermination by the use of a stable free radical. *Nature* 4617,1199-1200.

**Bravo L; 1998.** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr.Rev.* 56: 317-333.

**Bruneton J ; 2009.** Menthe une pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ; 4<sup>ème</sup> de, Tec & Doc, Paris, p278,279 Schmid J (2010):use of *Thalictrum flavum* with emphasis on Hans papermaking, économie botany. 37,pp: 310-321

**Bruneton J ; 1999,** Pharmacognosie, Photochimie Des Plantes Médicinales, 3<sup>ème</sup> Ed. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 366 p.

**Benziane Ouaritini** Etude ethnobotanique sur l'utilisation de *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* et *Pelargonium graveolens* Au nord du Maroc (taounate) et évaluation de leur pouvoir antimicrobien.

**Berceau C.; B.Pasquier.** *Mentha × piperita* subs *piperita* conservatoire des plantes à parfum médicinales Aromatique et industrielles

**Carin Daum-B ; 2006.** Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation, Université Joseph Fourier-Grenoble, 13-53.

**Carney J M & Carney AM ; 1994** Role of protein oxidation in aging and in age-associated neurodegenerative diseases. *Life Sci* 55, 2097-2103.

**Caroline Gayet ; 2013. Guide de poche de photothérapie**

**Caroline J ; 2003** Stress oxydant au niveau de plaquettes sanguines humaines dans le contexte de diabète , Etude du glutathione et de glutathione peroxydase 4, l'institut nationale des Science Appliquées de Lyon,41-50.

**Cavin A ; 1999.** Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires, *Tinospora crispa* (Menispermaceae) ;

Merremiae marginata (convolvulaceae) et Orphyeanneandra (Annonaceae). Thèse de doctorat. Lausanne. 243 p.

**Cheng, S. S., J. Y. Liu, E. H. Chang et S. T. Chang ; 2008.**"Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi."Bioresource Technology 99(11): 5145-5149.

**Comhair S.A; Erzurum S.C ; 2002.** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung discases. Am. J. Physiol. 283, 246-255.

**Cowan M ; 1999,** Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, Vol ;12 ,P :564-582.

**Chraïbi M., K. Fikri-Benbrahim, M. Amrani, A. Farah, A. Bari, Z.**

**Chraïbi M., K.fikri ; 2017,** Benbrahim, M.Amranie, A.Farah, A,Bari, Z. Badiane ouaritini Utude ethnobotanique sur l'utilisation de *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* et pélargonium Graveolens au nord du Maroc ( Taounate) et évaluation de leur pouvoir antimicrobien.

**Donation Koné, 2018.** Enquête ethnobotanique de six plants médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïde - caractérisation quantification de polyphénols étude de leur activité anti-oxydantes.

**Dr Rokiasango ; 2006.** -le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnel ,Développement, environnement et santé 10 eme école d'été du SIFEE du 06 au 10 june 2006

**Droge W ; 2002.** Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 82, 47-95.

**Edwin Haslam ; 1996**J. Nat.Prod ,59,205-215

**Erceau B.C. pasquien ;2016.** livre Conservation national des plantes à parfum, Médicinales, Aromatique et industrielles *Mentha*× *piperita*subsp *piperita*, Diversité des aspects morphologiques, agronomiques et chimiques de variétés et clones collectés par le CNPMAL.

**Fatima Ezzahra Bensalek ; 2018.** Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine thème: l'utilisation de plantes médicinales pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain.

**Favier A ; 2003.** Le stress oxydant . Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique . Actualité en chimie . 2003 ; 108-15 .

**Fellah S, Romdhane M, Abderraba M ; 2006.** *J. société algérienne de Chimie*, 16: 193.

**Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdely C (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. **331**: 372-379.

**Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.

**Francesco capasso ; 2003.** *Timothys gaginella, gluliano grandolini, angelo aizzo,* photothérapie A quick référence to HERBAL médecine 2003.

**Fridovich I.** Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem*. 1995;64:97-112

**Gazi M.R, Kanda K et Kato F.** Optimisation of Various Cultural Conditions on Growth and Antioxydant Activity Generation by *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2373. *Journal of Biological Sciences*. 2004 ; 4(2): 224-28.

**Geneva ; 2002.** WHO monographs on selected medicinal plants world health organization.

**Ghedira K ; 2005.** Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

**Govindarajan R; Vijayakumar M; Rao C.V; Kumar V; Rawat A.K.S.,**

**Pushpangadan P; 2004.** African of *aspara gusracemosus* against strepto zotocininduced oxidative stress. *Natural Product Sciences* 10, 177-181.

**Guignard, J.L ; 1974.** *Abergé de Biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie:* Masson. Paris. Pp 146-155.

**Guignard, J.L., Cosson, L., et Henry, M ; 1985.** *Abérgé de phytochimie,* Masson. Paris, Pp 138.

**Guillaume J ; 2008.** Les especes reactives de l'oxygene et leurs principale simplications dans la physiopathologie canine ,Thése de médecine pharmacie. Université claude-bernard-Lyon1,21-99.

**Haborne, J.B1 ; 980.** Plant phenolics in *Encyclopedia of plant physiology*, vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds Spinger-Verlag, Berlin; Pp 329-402. In: *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique.* Macheix, J.J., Fleriet, A., and Christian, A. 2005. PPTUR Lausanne

**Hadi M ; 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractéreproxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. These de doctorat en Sciences de Pharmacochimie, Université Louis Pasteur strasbourg1, 13-36.

**Hamadi N ; 2010.** L'effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine, Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri Constantine, 10-20.

**Hélène L ; 2013.** La médicament à base de plantes en Europe, Faculte de pharmacie. Université Strasbourg.

**Hagerman A.E ; 2002.**Tannin chemistry. Department for chemistry and biochemistry Miami University Oxford, OH45056 USA.

**Halliwell B; Gutteridge J.M.C; 1999.** Free Radicals in Biology and Medicine. In "Free Radical in Biology and Medicine ". 3rd Ed. Oxford. University press.pp: 1-543.

**Halliwell B and Gutteridge J M C ; (2007).**Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford (fourth edition).

**Halliwell B; Gutteridge J.M.C; (1999).**Free Radicals in Biology and Medicine. In 'Free radicals in biology and medicine'. 3<sup>rd</sup> Ed. Oxford. UniversityPress. pp: 1-543.

**Hamel T., Sadous., Seridir., Boukhdirs., Boulemtafesa.**pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough nord-est algérien n°59 mars 2018 ethnopharmacologia.

**Hamid EL-Haoud, Moncef Boufellous, AssiaBerrani, HindTazougart et RachidBengueddour ; 25/10/2018 p 231).**

**Haslam, E ; 1996.** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. J. Nat Pro, 59: 205 215.

**Hamlat LN (2006).** Flavonoïdes et acides phenoliques de Pistacia lentiscus. Thèse de Magister. Ecole normale supérieure Kouba, Alger: 153.

**Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ (2002).** Flavonoid antioxidants :chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, **13**: 572–584

**Hélène L ; 2013.** La médicament à base de plantes en Europe , Faculté de pharmacie . Université Strasbourg .

**Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. Food Chem, 51: 7292-7295.**

**Hoang-Nan Pham ; 2017,** thèse doctorat de l'Université de Toulouse université Toulouse 3 Paul sobatier( UT3 Paul Sabatier) , titre : Impact des métabolites secondaire de plantes sur des bactéries pathogènes de la rhizosphère existe-t-il un lien entre la résistance sur métaux et la modulation de résistance aux antibiotiques ?

**Iraj Rosooli, 2010.** Article protective effets of bioactive phytochemicals from *Mentha piperita* with multiple health potentiels, Médicinal plants research centre ,Shahed university Tehran-qom express way,opposite Imam khomeini's shrine.

**Jessica T ; 2011.** Optimisation et caractérisation d'un extrait de cassis riche en antioxydants utilisable comme complément alimentaire et Etude de ses effets sur la vāsorelaxation dépendante de l'endothélium, Université de Liège, 05-37.

**JokićS., D. Velić, M. Bilić, A. Bucić-Kojić, M. Plan inić and S. Tomas.**Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. J. Food Sci. vol. 28. (2010). pp. 206-212.

**Klaunig J.E et Kamendulis L.M ; 2004.**The role of oxidative stress in carcinogenesis. Ann Rev PharmacolTOXICOL. 44. 239 P.

**Ko F.N, Cheng Z.J, Lin C.N et TengC.m ; 1998.**Scavenger and antioydant properties of prenylfavones isolated from Artocarpasheterophyllus. Free Radical Biology and Medicine, 25.160 p.

**Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY ; 2003.** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a

**Lee, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y ; 2005.** Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. J. Agric. Food Chem, 53 : 1990-1995.

**likibi et al. J.appel.**Biosci (lamiaceae du Congo ) constituants chimique de l'huile essentielle de *Mentha piperata*. L journal of applied Biosciences 92: 8578- 8585 ISSN 1997- 5902.

**Macheix J.J; Fleuriet A; Jay Allemand C ; 2005.** Les composés phénoliques des végétaux ISBN2 \_88074-625-6.

**Macheix, J.J., Fleriet, A et Christian, A ; 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.

**Macheix, J.J., Fleuriet, A et Billot, J ; 1990.** Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton.

**Mohamed Bilal Goudjilsegniladjel Salah Eddine Bencheikh Souad Zighmi ; 2015.** Influence du séchage sur le rendement de l'extraction des huiles essentielles de *Menthe piperita* université Ouargla 22 au 24 novembre 2015. spolyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier V.2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.

**Mahmoudi S, Khali M, Mahmoudi N ; 2013 .**Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*CynarascolymusL.*).Nature &Technologie, 35-39.

**Malik F .,S, Hussain A, Sadiq G, Parveen A, Wajid S, et autre.** Phyto-chemical analysis, anti-allergic and anti inflammatory activity of *Mentha arvensis* in animals. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2012; 6(9):613-619.

**Maloine éditeur, 1986.** Bézanger- Beauquesne L, Pinkasm, Torckm. Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2<sup>ème</sup> édition révisée, ed.

**Marfak A ; 2003 .** Radiolyse Gamma des Flavonoides. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools Formation de depsides. Thèse dedoctorat. Université de LIMOGE. ; 187.

**Marfak A.** Radiolyse gamma des flavonoides. Enude de leur reactivileavee les radicaux issus des alcools: formation des depsides. These de doctorstUniversit de Limoges. 2011; 6-7-27-45.

**Mates J.M; Perez-Gomez C; Nunez de Castro I; 1999.** Antioxidant enzymes and hunandiscases. *Clin.Biochem*. 32, 595-603.

**Mitchinson M.J; Ball R.Y ; 1987.** Macrophages andatherogenesis. *Lancet* 2, 146-148.

**Montagnier L., Olivier R., PasquierC ; 1998..** Oxidative stress in cancer, AIDS and neuro degenerative diseases, Marcel Dekker, New York, 1998.

**Markham KR (1982).** Techniques of flavonoids identification. *Academic press, London*. Chap. 1 and 2: 1-113.

**Moreau B ; 2003.** Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de pharmacie de Nancy, Travaux dirigés et pratiques de photothérapie de 6<sup>ème</sup> année de doctorat de pharmacie.

**Myrtéa formations L'AROMATHEQU** Monographie huile essentielle *Mentha × piperita L* -version201211 .

**Nadji B ; 2010.** Dérives phénoliques à activités antiathérogènes , Thèse envue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse , 07-13.

**Ozsoy N., A. Can, R. Yanardag and N. Akev ;2008** Antioxidant activity of *Smilax excels* L. leaf extracts. *J. Food chem*. Vol. 110. pp.

**OMS. Fact sheet on traditional medicine.** <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/> (2008). Consulté le 15 juin 2015 à 09 heures.

**Parisa Isadiyan, Bahram Hemmate enejad ; 2015 ,** Classification of menthe piperita accession according to their antioxidant activité chemistry faculty, université of Téhéran, Iran

**Pastre et priymenko, 2007; Surveswaran et al., 2007.**

**Podsdek A ; 2007.** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A. review. 40 : 1-11

**Psotová, J., Lasovsky, J; Vicar, J ; 2003.** Metal –chelating Property, le ctrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Natural phenolic. Biomed.Papers 147(2), 147 153.

**Pullerits R, Bokarewa M, Dahlberg L, TarkowskiA ;2005.** – Decreased levels of soluble receptor for advanced glycation end products in patients with rheumatoid arthritis indicating deficient inflammatory control. Arthritis Res Therapy, 7 , 817-824.

**Rameau J ; 2007.** Prescrire. Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécialété, T.27, n 286.

**Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C.,**

**Ruchirawat, M., Satayavivad, J ; 2007.**Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. Food Chem. Toxicol, 45: 328-336.

**RehmanA ,Nourooz J and Moller W; 1999.** Increased oxidative damage to all DNA .bases in patients with type II diabetes mellitus . FEBS Lett . 1999 ; 448 : 120-22 .

**Richter, R ; 1993.** Metabolisme de la végétale physiologie et biochimie. PPUR. Lausanne Pp 319-322.

**Robert B ; 2006.** Stress oxydant et vieillissement, médecine sciences. vol.22. (3).266-272.

**Sabrina Krief ; 2003.** Thèse pour l'obtention de, Thèse pour obtenir le grade de docteur du Muséum national d'histoire naturelle, thème: métabolites secondaire des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observation de l'alimentation des chimpanzés ( pan troglodytes Schweinfurtii) en ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées .

**Salima Bennadja, Azzedine chefrour, yasmia Ait kaki, Hacénelaredj;2007.** Place de l'aromathérapie dans la médecine traditionnelle dans l'Est algérienne /, faculté de médecine université badjimokhtar, Annaba- Algérie mars 2007.

**Scalbert, A ; 1991 .**Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30 (12), 3875-3883.

**Sebastien F ; 2006.**Activités biologiques de composés de la famille des flavonoides : Approches par des methods de chimie quantique et de dynamique moléculaire, Thèse présentée à l'Université Nice-Sophia Antipolis, 14-37.

**Salima Bennadja, Azzedine chefrour, yasmia Ait kaki, Hacénelaredj ; 2007.** Place de l'aromathérapie dans la médecine traditionnelle dans l'Est algérienne /, faculté de médecine université badjimokhtar, Annaba- Algérie mars 2007.

**Sebastien F ; 2006.** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire, Thèse Présentée à l'Université Nice-Sophia Antipolis, 14-37.

**Servais S ; 2004.** Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaires en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en méga-3, L'université Claude Bernard-Lyon, 19-30.

**Soares J.R; Dins T.C.P; Cunaha A.P; Ameida L.M ; 1997.** Antioxydant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research* 26, 469-478.

**Sohal R.S, Mockett R.J ; 2002.,** Orr W.C., Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free Rad. Biol. Med.*, 2002; 33(5), p . 575.

**Souâd A ; 2007.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse Doctorat en science physico-toxicologie. Université Mentouri de Constantine, 04-27.

**Su Y.C., Ho C.L and Wang E.I.C ; 2006.** Analysis of leaf essential oils from the indigenous five conifers of Taiwan, *FlavourFragr.J*;2006;21(3):447-52.

**Sujana, P., Sridhar, T.M., Josthana, P., Naidu, C,V ; 2013** Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Mentha piperita* L.(Peppermint)- an important multipurpose medicinal plant. *Am.J.PlantSci*, 4:77-83.

**Surveswaran S, Cai Z.Y, Cark H et Sum M ; 2007.** Systematic evaluation of natural phenolic antioxidant from 133 Indian medicinal plants. *Food chemistry*. 102. 938 p.

**Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T.,** Antioxydant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species, *Food Chemistry*, 104: 1372- 1378, 2007.

**Tossell K. B. G ; 1997.** *A mechanistic, biosynthetic and approach.* Apotekarsociet et en-swedish pharmaceutical presse in naturaliste production chemistry.

**Touafek O ; 2010** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et de sud algérien Thèse de doctorat. Université de Constantine ; 9-12-76.

**Toure Daouda ; 2015.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire , P153.

**Tyihák E., Móricz ÁM., G.Ott P.,** Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography in *Phytochemistry*. CRC Press (2007).

**Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic et M. Mazur ; 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interaction* 160(1): 1-40.

**Wichti M., Anton R ; 2003.** Plantes thérapeutiques- tradition, pratique officinale,

**Yokada M; Kitta T; Kikawa Y; Ogorochi T; Narumiya S; Kawai C ; 1988.** Stimulated arachidonate metabolism during foam cell transformation of mouse peritoneal macrophages with oxidized low density lipoprotein. *Journal of Clinical Investigation* 81 , 720-729.

**Yokozawa T; Chen C.P; Dong E; Tanaka T; Nonaka G.I; Nishioka I ; 1998.** Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology* 56,213-222.

**Yoshida, H., Ishikawa, T., Hosoi, H., Suzukawa, M., Ayaori, M., Hisada, T., et al. 1999.** Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein. *Biochem Pharmacol*, 58 : 1695–703.

**Zou Y , Qian ZJ, Li Y, Kim MM, Lee SH & Kim SK ; 2008** Antioxidant Effects of phlorotannins Isolated from *Ishigeokamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. *J Agric Food Chem*.

# Etude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur le teneur en composé phénoliques et l'effet antioxydants de l'extrait de plante médicinale

## Résumé

L'opération d'extraction est une étape très importante dans la récupération des composés d'intérêt. Elle est influencée par plusieurs facteurs notamment la méthode utilisée et le type de solvant. Le but de la présente étude est l'évaluation de l'effet de deux méthodes d'extraction des composés phénoliques à savoir la décoction (extraction à froid) et la macération (extraction à chaud) de la plante *Mentha piperata* par trois solvants (méthanol, éthanol et acétone) sur l'effet anti-oxydant et la teneur en polyphénol et en flavonoïde.

Le rendement de l'extraction a montré que le rendement de l'extrait méthanolique par macération (21.3 %) est supérieur au rendement de l'extrait méthanoïque par décoction (17.29 %) alors que les deux extraits éthanolique et acétonique par les deux méthodes possèdent presque le même rendement (17.98 % à froid et 17.16 % à chaud) et (18.74 % à froid et 17.17% à chaud) respectivement.

Les résultats de screening phytochimique, ne révèle pas une différence dans la composition chimique du même extrait par rapport aux deux méthodes d'extraction. Par ailleurs les résultats montrent que le solvant utilisé dans l'extraction peut affecter les types des métabolites secondaires dans les différents extraits.

Les teneurs en polyphénols totaux obtenus par les deux méthodes d'extraction, révèlent que la macération semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux soit dans les extraits méthanolique, éthaolique ou acétonique en moyenne de 167.9, 200.2 et 155.1 mg EAG/gE respectivement contre 75.9, 86.3 et 39.1 mg EAG/gE pour la décoction. Par contre la teneur en flavonoïdes des décoctés et des macérâtes par les différents solvants montrent que la décoction est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de 24.47, 76.33 et 23.57 dans les extraits méthanolique, éthanolique et acétonique respectivement contre 20.21, 27.34 et 1.8mg EGA/g E pour la macération.

L'étude qualitative des flavonoides et des polyphénols par CCM des décoctés et des macérâtes de la *M. Piperata* préparés par les trois solvants a montré la présence des anthocyanidin 3-glycosides, flavones et Flavone méthyle, flavonols, flavonones, aurones, et acides phénoliques

L'évaluation de l'activité antioxydants via la méthode de réduction de radical libre DPPH révèle qu'il n'est y a pas une différence entre les décoctés et les macérâtes. Tandis que selon le solvant de l'extraction et indépendamment de la méthode d'extraction on note que l'extrait acétonique et le plus actif comparé aux différents extraits ( $IC_{50} < 0,001$  mg/ml), suivi par l'extrait éthanolique ( $IC_{50} = 0.003$  mg/ml) puis l'extrait méthanolique ( $IC_{50} = 0.013$  mg/ml par la macération et 0.014 mg/ml par la décoction)

Cette étude montre que pour la plante *Mentha piperata* l'extraction par décoction est la meilleure méthode pour extraire les flavonoïdes et la macération semble être meilleure pour l'extraction des polyphénols totaux. Ainsi il est intéressant de noter que pour cette plante l'activité antioxydants est indépendante de la méthode d'extraction mais elle dépend essentiellement du type de solvant utilisés ; ainsi l'éthanol et l'acétone sont préférables pour obtenir un extrait avec une forte capacité antioxydante.

**Mot clés :** Décoction, Macération, Flavonoïdes, Polyphénols, activité antioxydants

# **Etude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur le teneur en composé phénoliques et l'effet antioxydants de l'extrait de plante médicinale.**

## **Abstract**

The extraction operation is a very important step in the recovery of the compounds of interest. it is influenced by several factors including the method used and the type of solvent. the purpose of this study is to evaluate the effect of two methods of extraction of phenolic compounds, namely decoction (cold extraction) and maceration (hot extraction) of the mentha piperata plant by three solvents (methanol , ethanol and acetone) on the antioxidant effect and the content of polyphenol and flavonoids.

the yield of the extraction showed that the yield of the methanolic extract by maceration (21.3%) is higher than the yield of the methanoic extract by decoction (17.29%) whereas the two ethanolic and acetone extracts by the two methods possess almost the same efficiency (17.98% cold and 17.16% hot) and (18.74% cold and 17.17% hot) respectively.

the phytochemical screening results, does not reveal a difference in the chemical composition of the same extract compared to the two extraction methods. moreover, the results show that the solvent used in the extraction can affect the types of secondary metabolites in the different extracts.

the contents of total polyphenols obtained by the two methods of extraction, reveal that maceration seems to be the best method of extraction of total polyphenols either in the methanolic, ethaolic or acetonic extracts on average of 167.9, 200.2 and 155.1 mg eag/ge respectively against 75.9, 86.3 and 39.1 mg eag/ge for the decoction. on the other hand, the flavonoid content of the decoctions and macerates by the different solvents show that the decoction is preferable for extracting the flavonoids, namely an average of 24.47, 76.33 and 23.57 in the methanolic, ethanolic and acetonic extracts respectively against 20.21, 27.34 and 1.8 mg ega/g e for maceration.

The qualitative study of flavonoides and polyphenols by tlc of decoction and maceration of M. piperata prepared by the three solvents showed the presence of anthocyanidin 3-glycosides, flavones, flavone methyl, flavonols, flavonones, auronnes, and phenolic acids.

The evaluation of the antioxidant activity via the dpph free radical reduction method reveals that there is no difference between decoctions and macerates. while depending on the extraction solvent and independently of the extraction method, it is noted that the acetone extract is the most active compared to the different extracts (ic<sub>50</sub> < 0.001 mg/ml), followed by the ethanolic extract (ic<sub>50</sub> = 0.003 mg/ml) then the methanolic extract (ic<sub>50</sub> = 0.013 mg/ml by maceration and 0.014 mg/ml by decoction)

this study shows that for the plant mentha piperata the extraction by decoction is the best method to extract the flavonoids and the maceration seems to be better for the extraction of the total polyphenols. thus it is interesting to note that for this plant the antioxidant activity is independent of the method of extraction but it depends essentially on the type of solvent used; thus ethanol and acetone are preferable to obtain an extract with a strong antioxidant capacity.

**keywords:** decoction, maceration, flavonoids, polyphenols, antioxidant activity.

# دراسة مقارنة لتأثير طرق الاستخلاص على محتوى المركبات الفينولية و التأثير المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية الطبية

## ملخص

تعتبر عملية الاستخراج خطوة مهمة للغاية في استعادة المركبات ذات الأهمية. يتأثر بعدة عوامل منها الطريقة المستخدمة ونوع المذيب. الغرض من هذه الدراسة هو تقييم تأثير نوعين من طرق الاستخلاص متعددات الفينول و التي منها النقع(الاستخلاص البارد) والمغلي (الاستخلاص الساخن) من نبات مينثا بايراتا بثلاثة مذيبات (ميثانول ، إيثانول وأسيتون) على تأثير مضادات الأكسدة ومحتوى البوليفينول والفلافونويد.

أظهر مردود الاستخلاص أن مردود المستخلص الميثانولي بالنقع (21.3%) أعلى من مردود مستخلص الميثانولي عن طريق المغلي (17.29%) بينما المستخلصان الإيثانول والأسيتون بالطريقتين اظهرت تقريبا نفس المردود. (17.98% بارد و 17.16% حار) و (18.74% بارد و 17.17% حار) على التوالي.

نتائج التقصي الفيتوكيميائي ، لا تكشف عن اختلاف في التركيب الكيميائي لنفس المستخلص مقارنة بطريقتين الاستخلاص. علاوة على ذلك ، أظهرت النتائج أن المذيب المستخدم في الاستخلاص يمكن أن يؤثر على أنواع مستقبلات الابض الثانوي في المستخلصات المختلفة. توضح محتويات متعدد الفينولات الكلي الذي تم الحصول عليه من خلال استعمال كل من طريقتين الاستخراج أن النقع يبدو أنه أفضل طريقة لاستخراج البوليفينول الكلي اما في المستخلصات الميثانولية، الإيثولية أو الأسيتونية بمتوسط 167.9 و 200.2 و 155.1 ملغ نسج / جي بالمقابل 75.9 و 86.3 و 39.1 ملغ من النسج / جنرال الكترك للمغلي. من ناحية أخرى ، يُظهر محتوى الفلافونويد في النقع و المغلي بواسطة المذيبات المختلفة أن المغلي مفضل لاستخراج مركبات الفلافونويد ، أي بمتوسط 24.47 و 76.33 و 23.57 في المستخلصات الميثانولية والإيثانولية والأسيتون على التوالي مقابل 20.21 ، 27.34 و 1.8 مجم ega / g للنقع.

بينت الدراسة النوعية للفلافونويدات و متعدد الفينولات باستعمال الكروماتوغرافي الطبقة الرقيقة لكل من مستخلص النقع لنبته مينثا بايراتا ، Anthocyanidine 3 glucoside و المحضرة باستعمال كل من الميثانول الايثانول و الأسيتون احتواء هذه النبتة على كل من فلافون، فلافون ميثيل و الاحماض الفينولية.

يكشف تقييم نشاط مضادات الأكسدة عبر طريقة تقليل الجذور الحرة dpph أنه لا يوجد فرق بين النقع والمغلي. بينما يعتمد على طريقة الاستخلاص وبغض النظر عن طريقة الاستخراج، يلاحظ أن مستخلص الأسيتون هو الأكثر نشاطاً مقارنة بباقي المستخلصات (ic50 < 0.001 مجم / مل) ، يليه المستخلص الإيثانولي (ic50 = 0.003 مجم / مل). ثم المستخلص الميثانولي (ic50 = 0.013 مجم / مل بالنقع و 0.014 مجم / مل عن طريق المغلي)

توضح هذه الدراسة أنه بالنسبة للنبات مينثا بايراتا ، ان الاستخلاص باستعمال طريقة المغلي احسن طريقة لاستخراج مركبات الفلافونويدية ويبدو أن النقع أفضل لاستخراج البوليفينول الكلي. لذلك من المثير للاهتمام ملاحظة أن نشاط مضادات الأكسدة لهذا النبات مستقل عن طريقة الاستخلاص ولكنه يعتمد بشكل أساسي على نوع المذيب المستخدم ؛ وبالتالي يفضل استخدام الإيثانول والأسيتون للحصول على خلاصة ذات قدرة قوية مضادة للأكسدة.

**الكلمات الرئيسية:** مغلي ، نقع ، فلافونويد ، بوليفينول ، نشاط مضاد للأكسدة