

République Algérienne Démocratique Et populaire
Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La Recherche Scientifique
UNIVERSITE ABBES LAGHROUR-KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire



Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master académique (L.M.D)

FILIERE :Sciences Biologiques

OPTION: Biochimie appliquée

Thème

*Etude d'activités antioxydants de la
plante médicinales *Marrubium
Vulgare L**

Réalisé par: *LEMMOUCHI Chahira*

et

BOUGOFFA Amal

Soutenu le : 15/10/2020

Jury de soutenance :

Président : M^{ef} BENSAADA Mostafa

M. C. B Université de Khenchela

Encadreur : Dr. HABIBATNI Sofiane

M. C. B Université de Khenchela

Examinatrice : M^mc BOUAKKAZE Amal

M.A. B Université de Khenchela

Promotion : 2019/2020

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et pour m'avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail :

Mr BEN-SAADA d'être présidente du jury de soutenance, et M^{me} BOUAKEZE pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier vivement Mr HABIBATNI Sofiane maître de conférences à l'université Abbès Laghrour-Khenchela pour avoir encadré et dirigé ce travail avec la plus grande rigueur scientifique, sa compréhension, sa compétence, la qualité de ses conseils et son aide durant tout le long de mon mémoire.

Enfin, je remercie tous les enseignants durant ce long cycle de formation et tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

AMEL - CHAHIRA

Dédicace

J'ai le grand honneur de dédier ce travail :

A ceux qui m'ont donné la vie, la lumière de mes yeux « mes parent » qui m'ont entouré de leur amour, leur soutien et leur affection et qui m'ont énormément aidé pour ma réussite.

Avec toute ma fidélité et tout mon amour pour vous, mes parents, je ne pourrai jamais égaler votre mérite et je prie Dieu de me les protéger.

Ames très chers frères : RAMZI, HAROUN, MOUSSA. qui n'ont cessé de m'encourager tout au long du projet.

A mes très chères sœurs : RAZIKA, AYA. Pour leur soutien moral et ses encouragements

A ma source de tendresse et d'encouragement mon marie FOUZI qui m'a encouragé pour faire mes études.

A ma cousine : HABIBA (et sa petite famille : LAZHAR, IKHLAS, ISLAM,), je t'aime.

A mon binôme Amel, qui dieu te garde comme une flamme de bonheur dans la vie.

A toutes mes amies : ACHWAK, IBTISSAM, ZAHIRA, ASMA A, ASMA A.

A mes collègues Biochimie Appliquée de promotion (2020-2021).

CHAHIRA

RÉSUMÉ



Résumés

Parmi les plantes médicinales recensées auprès des populations et bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques et qui devront être mises à l'épreuve d'investigation sérieuses de décryptage chimiques et biologiques, le *Marrubium Vulgare L* de la famille Lamiacée, cette plante largement distribuée dans le bassin méditerranéen en générale, et en Algérie en particulier est utilisée pour le traitement de plusieurs pathologies (diabète, asthme, bronchites).

L'objectif de notre étude bibliographique est une description botanique suivie par les métabolites secondaires notamment rencontrés dans cette plantes et leurs activités biologiques et nous terminons par une partie qui traite le stress oxydatif et l'activité antioxydante des métabolites secondaires en particulier ceux rencontrés dans notre plante d'intérêt.

Mot clé :

Marrubium vulgare L, métabolites secondaires, stress oxydatif, activité antioxydant.

ملخص

من النباتات الطبية التي يستفاد من شهرتها العلاجية وتحتاج إلى أبحاث جادة للتعرف على صفاتها الكيميائية والبيولوجية نبات *Marrubium Vulgare l* من عائلة *Lamiacé*، هذه النبتة تعرف انتشارا واسعا في منطقة البحر المتوسط والجزائر خاصة فهي جد مستعملة في علاج أمراض متعددة (السكري، الربو، التهاب الشعب الهوائية).

الهدف من دراستنا البيولوجرافية هو وصف نباتي يتبعه المستقبلات الثانوية التي توجد بشكل ملحوظ في هذا النبات وأنشطتها البيولوجية وننتهي بجزء يتعامل مع الإجهاد التأكسدي والنشاط المضاد للأكسدة للمستقبلات الثانوية على وجه الخصوص تلك التي نواجهها في نبتتنا كفائدة.

كلمة مفتاحية :

Marrubium Vulgare l، المستقبلات الثانوية، الإجهاد التأكسدي، نشاط مضادات الأكسدة.

Abstract

Among the medicinal plants identified at the populations and enjoying of good therapeutic reputations and wick of this fact should be tested for serious investigations of chemical and biological description, the *Marrubium vulgare l* of the *Lamiaceae* family. This plant widely distributed in the mediterranean basin in general and in Algeria in particularis used for the treatment of several pathologies (diabetes, asthma, bronchitis).

The objective of our bibliographic studyis a botanical description followed by the secondary metabolites notably en countered in this plants and their biological activities and we end with a part which deals with the oxydative stress and the antioxydant activity of the secondary metabolites in particular those encountered in our plant of interest.

Keyword :

Marrubium vulgare L, secondary metabolites, oxidativest, antioxidant activity.

LISTE DES ABBREVIATIONS

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- ❖ $(C_5H_8)_n$:Polyterpènes.
- ❖ **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ❖ $C_{10}H_{16}$: Monoterpènes.
- ❖ $C_{15}H_{24}$:Sesquiterpènes
- ❖ $C_{20}H_{32}$: Diterpènes.
- ❖ $C_{25}H_{40}$: Sesterpènes.
- ❖ $C_{30}H_{48}$: Triterpènes.
- ❖ $C_{40}H_{64}$: Titraterpenes.
- ❖ **CHI** : Chalcone-isomérase.
- ❖ **CHS** : Chalcone-synthase.
- ❖ **ERN** : Espèce réactive de nitrogène.
- ❖ **ERO** : Espèce réactive oxygénées.
- ❖ **GGPP** : Géranylegéranyl-pyrophosphate.
- ❖ **HEs** : Huiles essentielles.
- ❖ **IPP** : Isopentényl diphosphate.
- ❖ **MDA** : Malondialdéhyde.
- ❖ **MVA** : Acide mévalonique.
- ❖ **PAL** : Phénylalanine ammonialyase.
- ❖ **RL** : Radical libre.
- ❖ **RNS** : Réactive nitrogène spécifs.
- ❖ **ROS** : Réactive oxygène spécifs.
- ❖ **TBARS** : acides thiobarbituriques.
- ❖ **UV** : Ultra violet.

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Liste des Figures

N° de figure	Titre	page
Figure n°1	<i>Marrubium vulgare L</i>	5
Figure n°2	Structure de quelques dicoumarines	6
Figure n°3	Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie, certains principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires	10
Figure n°4	Biosynthèse des composés phénoliques par la voie de Shikimate	11
Figure n°5	Structure générale des flavonoïdes	14
Figure n°6	Structure des squelettes de base des flavonoïdes	14
Figure n°7	Principales étapes de biosynthèse des différentes classes des flavonoïdes	15
Figure n°8	Structure des tanins hydrolysables	19
Figure n°9	Structure de tanins condense	20
Figure n°10	Structure de coumarine	21
Figure n°11	Structure de coumarine	22
Figure n°12	Psoralène	23
Figure n°13	Angélicine	24
Figure n°14	Structure de quelques Pyranocoumarines	24
Figure n°15	: Structure de quelques dicoumarines	24
Figure n°16	Structure triumabéllatine type des triumabéllatine type des tricoumarines	25
Figure n°17	3, 7, 11, 15,19-pentamethyleicosane	28
Figure n°18	Structure chimique de la saponine, une saponine rencontrée chez toute la solanacée	30
Figure n°19	Structure des lignanes	31
Figure n°20	Structure de la lignine	31
Figure n°21	Structure chimique des différents alcaloïdes	32
Figure n°22	Réaction de la peroxydation	36
Figure n°23	Espèces réactives oxygénées et systèmes de protection permettant de limiter leur effet toxique. GSH : glutathion, Cl ⁻ : anion chbrure, MPO : myéloperoxydase, SOD :	41

	Superoxyde dismutase, Se-Gpx : glutathion peroxydase spéleo-dépendante	
Figure n°24	des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène	42
Figure n°25	Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> .	46

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
Tableau n°1	Principales classes des Polyphénols	12
Tableau n°2	la structure chimique brute des quelques génines coumariques	22
Tableau n°3	la structure chimique brute des quelques hétérosides	23
Tableau n°4	classification de terpénoïdes	26
Tableau n°5	Différents types des espèces réactives	37
Tableau n°6	principaux rôles physiologiques des radicaux libres et ces dérivés	38
Tableau n°7	les principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote	40
Tableau n°8	Résultats des tests préliminaires de l'extrait méthanolique et butanolique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> .	43
Tableau n°9	Teneurs des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Marrubium vulgare</i> .	44
Tableau n°10	Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique de <i>Marrubium vulgare</i> .	45

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION1

CHAPITRE I : LA PHYTOTHERAPIE ET PRESENTATION DE LA PLANTE SELECTIONNEE

I-1- La phytothérapie.....4

I-2- Les plantes médicinales.....4

I-3- Description botanique.....4

I-4- Systématique de la plante.....5

I-5- Distribution.....6

I-6- Composition biochimique.....7

I-7- Utilisation traditionnelle.....7

I-8- Toxicité.....7

CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES

II-1- Les métabolites secondaires.....9

II-2- Classification des métabolites secondaires.....10

II-2-1- Les composés phénolique.....10

II-2-1-1- La biosynthèse	11
II-2-1-2- La classification et structure.....	12
II-2-2- Les flavonoïdes.....	13
II-2-2-1- Définition.....	13
II-2-2-2- Localisation et distribution.....	13
II-2-2-3- La structure.....	14
II-2-2-4- La biosynthèse des flavonoïdes.....	15
II-2-2-5- La classification.....	16
II-2-2-6- Propriétés biologique des flavonoïdes.....	16
II-2-2-7- Intérêt des flavonoïdes.....	17
II-3- Les tanins.....	18
II-3-1-Définition	18
II-3-2-Localisation et distribution	18
II-3-3-Structure et classification.....	18
II-3-4- Les tanins hydrolysable (THS).....	18
II-3-5- Les tanins condensés.....	19
II-4- Les coumarines.....	20
II-4-1- Définition	20
II-4-2- Constitution chimique et structure.....	21
II-4-3- Les coumarines dans le règne végétale.....	21
II-4-4-Synthèses des coumarines.....	21
II-4-5- Classification des coumarines.....	22
II-5- Les terpénoïdes.....	25

II-5-1- Définition.....	25
II-5-2- Les composées aromatiques.....	25
II-5-3- Composés d'origine diverse.....	25
II-5-4- Classification	25
II-5-5- Propriétés physico-chimiques	28
II-6- Les saponines.....	29
II-6-1- Définition	29
II-6-2-Structure des saponines.....	29
II-6-3- Propriétés biologique	29
II-7- Les alcaloïdes.....	31
II-7-1- Définition et structure chimique.....	31
II-7-2- Propriétés des alcaloïdes	32
CHAPITRE III : LE STRESS OXYDATIF	
III-1- Généralité.....	34
III-2- Définition	34
III-3- Les principales sources d'antioxydants.....	34
III-3-1- Les antioxydants synthétiques.....	34
III-3-2- Les antioxydants naturels.....	35
III-4- Les conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	35
III-4-1-Oxydation d'ADN	35
III-4-2- Oxydation des lipides.....	35
III-4-3- Oxydation des protéines.....	36
III-5- Maladies liés au stress oxydatif	37

III-6- Les radicaux libres	37
III-6-1- Formes des radicaux libres.....	37
III-6-2- Les principales sources des radicaux libres (RLO).....	38
III-6-2-1-Rôle physiologique des radicaux libres.....	38
III-6-2-2- Espèces réactives de l’oxygène.....	49
III-7- Les antioxydants.....	40
III-7-1- Les antioxydants enzymatiques	40
III-7-2- Les antioxydants non enzymatiques	41
III-8- Mécanisme de défenses contre le stress oxydatif.....	42
Discussion	43
Conclusion	49
La bibliographie	51

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes ont été utilisées comme remèdes pour les maladies humaines dans la médecine Chinoise presque 4000 à 6000 années avant la découverte des composés bioactifs tels que les flavonoïdes. Ces derniers possèdent une capacité antioxydant très importante et peuvent contribuer à une diminution du stress oxydatif via l'inhibition ou l'activation d'enzymes (**Koyama et al., 1999**). Le concept du stress oxydant est un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydantes (**Favier, 2003**). Les radicaux libres sont générés dans les mitochondries lors du transfert d'électrons, dans les cellules phagocytaires lors d'un processus inflammatoire et au cours de processus physiologiques d'oxydoréduction. Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules. En effet, ils peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques (**Bandhopadhyay et al., 1999**).

Plus de 100 pathophysiologies humaines, allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le diabète, le SIDA ou toutes les maladies à caractère inflammatoire comme l'arthrite rhumatoïde, sont liées notamment au stress oxydant (**Govindarajan et al.,2005**).

Actuellement, la majorité des recherches en nutrition sont basées sur le lien entre la composition de certains aliments et la prévention de divers dysfonctionnements métaboliques qui se traduit généralement par des pathologies (**Shahidi et Miraliakbari, 2004**).

Plusieurs pays d'Afrique y compris l'Algérie mènent des Investigations visant à développer des médicaments issus de plantes de médecine traditionnelle. En réalisant des études phytochimiques, pharmaco-toxicologiques et cliniques pour la mise au point de médicaments traditionnels améliorés (M.T.A.). En 1978, l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) s'est résolument engagée à revaloriser la pharmacopée traditionnelle afin de pouvoir satisfaire aux besoins de santé des populations. Les plantes médicinales ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé (**Carillon, 2000**). À l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles représentent près de 60% des médicaments, dont nous disposons (O.M.S, 2000).Les 40% restants ou médicaments de synthèse sont souvent nées de la

synthèse chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries (**Fouché et al., 2000**).

À condition physiologique, le pouvoir oxydant des radicaux libres est contrebalancé par de nombreux antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques, on peut notamment citer certaines vitamines (C, E et bêta-carotène), mais aussi les phyto-nutriments (polyphénols, caroténoïdes...), les oligo-éléments (sélénium, zinc, cuivre,...), etc. (**Mauro, 2006**). Les Polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. Ils possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (tabac, pollution, infections...). L'effet protecteur des fruits et légumes vis-à-vis des maladies de civilisation (maladies cardiovasculaires, diabète...) serait d'ailleurs lié à la présence de très nombreux Polyphénols, vitamines et oligo-éléments dans ces aliments (**Favier, 2003**).

Cependant, il y a une préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre le stress oxydant et les infections bactériennes.

Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les Polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, etc. qui possèdent des activités antioxydantes et antimicrobiennes. De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques. (**Benbrinis., 2011**).

Le présent travail est une contribution dans la valorisation des principes actifs contenus dans la flore algérienne peu connue jusqu'à présent et pour atteindre ces objectifs, nous avons jugé utile de structurer le manuscrit comme suite : l'introduction et la conclusion générale, il est structuré par :

INTRODUCTION

Une partie est une synthèse bibliographique dans laquelle sont abordés trois chapitres ; le premier aborde une étude préalable réalisée sur la phytothérapie et la plante médicinales sélectionnée, le second décrit les métabolites secondaires et le troisième chapitre présente le stress oxydatif et les antioxydants.

CHAPITRE I :
LA PHYTOTHERAPIE
ET LA PLANTE
MEDICINALE

I-1- La phytothérapie

Le terme phytothérapie vient du grec : (*phytos*) : la plante et (*therapiae*) : la thérapie, elle signifie le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. La Phytothérapie utilise des plantes médicinales dans leur totalité ou certaines parties de la plante dans des buts thérapeutiques, elle compte parmi les premières et les plus anciennes méthodes curatives depuis l'aube de l'humanité.

Historiquement, la médecine classique n'existerait pas sans la phytothérapie. C'est avec le développement ultra-rapide des sciences naturelles au XIXe siècle, et particulièrement avec les avancées de la chimie, que l'on a pu isoler des composants purifiés des plantes et produire leurs dérivés partiellement synthétiques, puis fabriquer de nouvelles molécules synthétisées chimiquement, pour finalement les introduire comme elles le sont actuellement dans l'arsenal de la médecine classique. Un grand nombre proviennent de la nature du moins en ce qui concerne leur structure de base (**Kasmi, 2014**).

I- 2- Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sango, 2006**).

I- 3- Description botanique

L'espèce *Marrubium vulgare* est une herbe vivace de la famille des lamiacées, qui est largement utilisée en médecine traditionnelle (**Guertin,2003 ;Meyre-silva et al., ;2005 ;pukalskas,2008 ;vanet,1992**). Cette espèce a un aspect blanchâtre à odeur forte et légèrement musquée ,et mesure 30 à 80 cm de hauteur, elle possède un tige épaisse, cotonneuse et quadrangulaire très feuillée qui se perpétue et se multiplie par des bourgeons nés sur la tige souterraine, ces feuilles sont arrondies ,crénelées ,gauffrées, feutrées à la face inférieure , dentées et duveteuses, le Marrube blanc dispose de petites fleurs blanches bilabiées , caractérisées par un calice a dents crochues est une corolle blanche (**Bézanger-Beauquesne et al .,1986 ;Bézanger-Beauquesne et al .,1990 ; Iserin ,2001 ;schauberg,2005**)

Marrubium vulgare est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen et utilisé pour ses vertus thérapeutiques (Djahra et al., 2013)



Figure01 : *Marrubium vulgare* L (Taouzient-khenchela).

I- 4- Systématique de la plante

Selon (Judd et al., 2002) la position systématique de l'espèce *Marrubium vulgare* est :

Règne : Végétale (plantea)

Embranchement : Angiosperme

Classes : Eudicotylédones

Sous-classe : Gamopétale

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : Marrubium

Espèce : Marrubium vulgare L

Le noms donnée à la plante sont suivants : en Algérie est connue par le nom Marriouth(Quetzal et santa,1963) Merrîwt au Maroc (Bellakhdar,1997),Marroubia en Tunisie (Boukef ,1986) En Anglais : Harehound , en Italien : Marrubbio , selon (Bonnier ,1909) le Marrube est composé de deux mots hébreux : mar , rob , suc amer .



Figure 02 : *Marrubium vulgare L* «les feuilles ,la tige ,les fleur» (Taouzient-khenchela).

I-5. Distribution

Plante commune dans toute l'Algérie, au bord des chemins, dans les lieux incultes, et les rues des villages. Cette plante vivace, ligneux, peut atteindre 60 cm de hauteur.

Sa tige rameuse, dure presque carrée, value et grisâtre est peu ou pas ramifiée.

Ses feuilles arrondies, faiblement dentées, tomenteuses, sont vert blanchâtre.

Ses fleurs petites, blanches, en glomérules, compacts à l'aisselle de bractéoles linéaires, pointues, à sommet crochu.

Son odeur est légèrement aromatique, sa saveur chaude est amère. **(Lucienne A ,2013)**

I-6- Composition biochimique

Le genre Marrubium est riche en Polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les phénylpropanoïdes il convient aussi de signaler la présence d'acides phénoliques dérivés d'acide cinnamique , et de certains polymères comme les lignanes , la présence de diterpénoïdes naturels est jusqu' à présent la plus explorée dans le genre Marrubium **(Chebrouk et al., 2011 ; Guertin , 2003)** , le marrube blanc est une plante riche au diterpènes , lactones , mucilage , pectine , flavonoïde , alcaloïdes , beaucoup de fer , tanin , un peu d'huile essentielle et la marrubine principalement . **(Iserin, 2001)**.

I-7- Utilisation traditionnelle

Les Grecs de l'Antiquité l'utilisaient contre les morsures de chiens enragés, En médecine ayurvédique (Inde), chez les aborigènes l'Australie et les Amérindiens d'Amérique du Nord, le Marrube servait à traiter les infections des voies respiratoires. Selon la commission allemande, elle est utilisée dans le traitement des dyspepsies et la perte d'appétit **(Djahra, 2014)**, aussi utilisé aussi dans l'inappétence, troubles dyspeptiques tels que les flatulences et ballonnement et l'inflammation des voies respiratoires.

Le marrube blanc est très utilise en médecine traditionnelle comme expectorant, antispasmodique, antidiabétique, diurétique et en cas d'infections respiratoires, il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité **(M.M. Massoodi,B et al., 2008.G. S. Çitoğlu,F. Aksit. 2002)**.

I-8- Toxicité :

C'est une plante amère à caractère saline et ne peut donc pas être toléré s'il ya une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissement ou encore en cas de dyspepsie **(Aouadi S. 2010)**.

CHAPITRE II :
LES METABOLITES
SECONDAIRES

II-LES METABOLITES SECONDAIRES

Les plantes utilisent l'énergie du rayonnement solaire, le dioxyde de carbone présent dans l'atmosphère, l'eau et les éléments inorganiques du sol qu'elles absorbent par les racines (eau, éléments inorganiques) et par les feuilles (dioxyde de carbone). Le processus de base est la photosynthèse qui fixe le carbone contenu dans le dioxyde de carbone atmosphérique, en le combinant aux atomes d'hydrogène contenus dans les molécules d'eau. Les premiers produits formés par la photosynthèse sont des hydrates de carbones, de faible masse moléculaire (oses). C'est à partir de ces oses (ou sucres) que sont ensuite formés tous les métabolites primaires nécessaires à la survie de la plante : glucides complexes (polymères comme la cellulose, l'amidon ou les pectines), acides aminés (constitutifs des protéines), acides gras (constitutifs des lipides), etc. **(Bruneton J.1999)**.

II-1- Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes produits en très faible quantité, nous distinguons trois principales classes : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpenoïdes **(Vermerris et Nicholson, 2006)**.

Les métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir des métabolites primaires et résultent de réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont limités à certaines espèces de végétaux et sont importants pour la survie et la valeur adaptative des espèces qui les synthétisent **(Raven *et al.*, 2000)**.

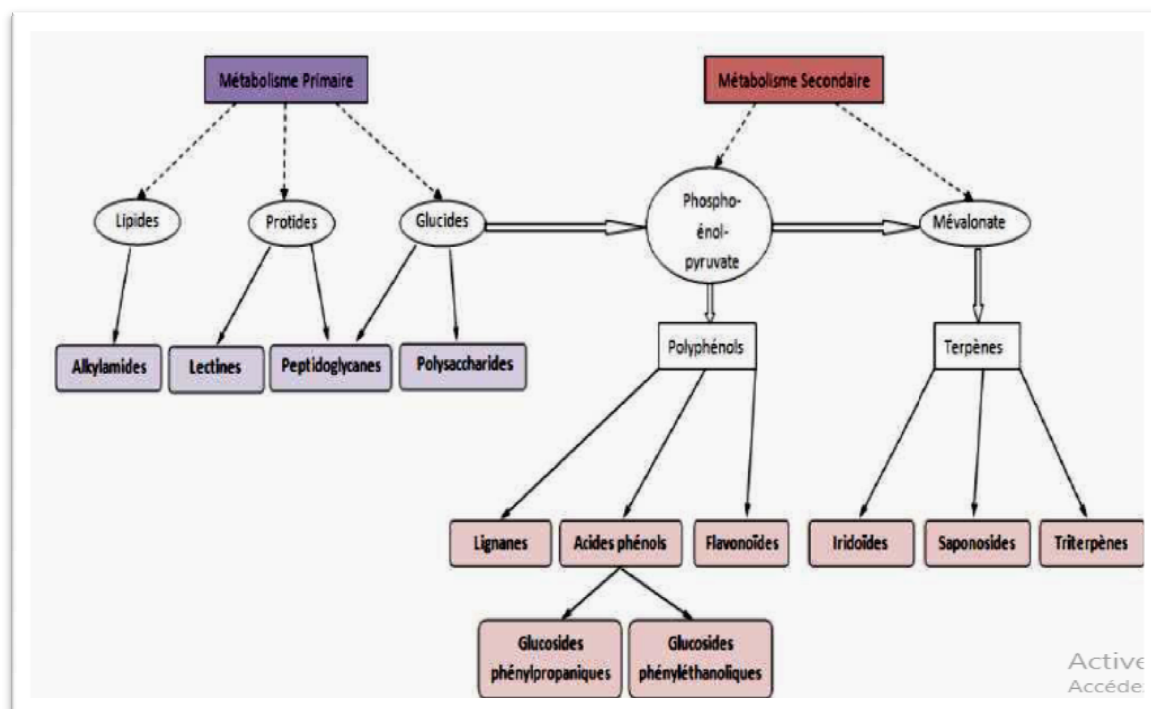


Figure 3 : Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie, certains principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires (Brunton, 1999).

II-2- Classification des métabolites secondaires

Dans le monde végétal, on estime qu'il y a plus de 200000 métabolites secondaires différents. (Pierre, 2016). on peut classer en trois grandes catégories essentielles : les composés phénoliques, les terpénoïdes, et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Parsaimehr.A *et al.*, 2011).

II-2-1- Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les Polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (Boutefas.K *et al.*, 2014). Ils sont largement distribués et comportant au moins 8000 structures connues différentes. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière (Chami.F, 2005). Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (Tapiero H *et al.*, 2002)

II-2-1-1- La Biosynthèse

Les composés aromatiques naturels sont issus de deux grandes voies de la biosynthèse, la voie la plus courante est appelée : voie shikimate (Fig. 04). Cette voie débute par la condensation du phospho-énol-pyruvate qui provient de la glycolyse avec l'erythrose-4phosphate, qui est produit par la voie des pentoses phosphates au cours d'une succession de réactions, le glucide qui en résulte à 7 atomes de carbones, subit une cyclisation puis une réduction qui forme du shikimate d'où la dénomination de la voie (**Buchanan *et al.*, 2000**). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (**Bruneton, 1993**).

L'autre voie, part de l'acétate et conduit à des poly-3-cétoester, des polycétates qui engendrent par cyclisation des composés polycycliques: chromanes, isocoumarines, xanthones, quinone..... (**Martin *et al.*, 2002**).

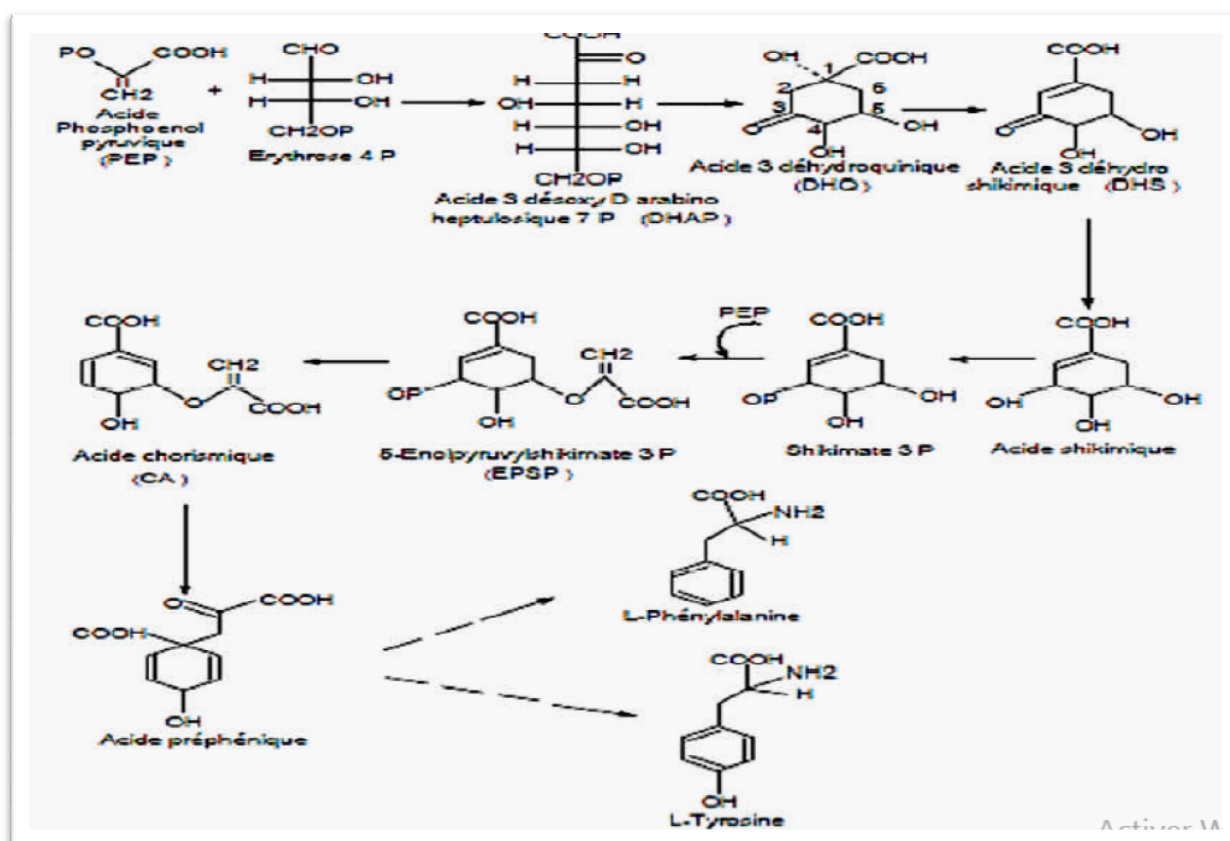


Figure 04: Biosynthèse des composés phénoliques par la voie de shikimate (**Floss, 1997**).

II-2-1-2- La Classification et structures

Plusieurs classifications des composés phénoliques basées sur des critères différents ont été proposées :

- Selon le nombre de noyaux aromatiques qu'ils contiennent, et la nature de leur squelette carboné, les classes majeures des Polyphénols sont (**Pr. Augustin ,1999**) :

- Acides phénoliques (C6-C3).
- Flavonoïdes (C6-C3-C6) ; sont eux-mêmes classés en fonction de leur degré d'oxydation en : Flavanols, Anthocyanidines, Flavones, Flavanones, Chalcones, Flavonols.
- Stilbènes (C6-C2).
- Lignanes (C6-C3)₂ (**Middleton et al., 2000**).

- Selon le nombre d'atomes du carbone dans le squelette de base, la classification des Polyphénols est la suivante (tableau) :

Tableau 01: Principales Classes des Polyphénols selon **J. B. HARBORNE (1980)**.

Nombre d'atomes de carbone	Le squelette de base	Classe
6	C6	Phénols Simple Benzoquinones
7	C6-C1	Acides phénoliques
8	C6-C2	Acetophenones Tyrosine derivatives Acide Phenylacetique
9	C6-C3	Acide Hydroxycinnamique Phenylpropenes Coumarines Isocoumarines Chromones
10	C6-C4	Naphthoquinones
13	C6-C1-C6	Xanthones
14	C6-C2-C6	Stilbenes Anthraquinones
15	C6-C3-C6	Flavonoids Isoflavonoids
18	(C6-C3) ₂	Lignans
30	(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoids

N	(C6-C3) n (C6) n (C6-C3-C6) n	Lignins Catéchol mélanines Flavolans (Tannins condensés)
---	-------------------------------------	--

Les Polyphénols sont divisés en 4 classes majeures selon leur structure chimique :

- Phénols.
- Acides phénoliques.
- Flavonoïdes.
- Tannins : se constituent de tannins hydrolysables et les tannins condensés (**Anders, 2002**).

II-2-2- Les flavonoïdes

II-2-2-1- Définition

Le terme flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des Polyphénols (**Marfak, 2003**). Ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles, caroténoïdes et bétalaïnes (**Ladhem, 2016 ; Zarrouki, 2009**). Les flavonoïdes constituent la plus vaste classe de composés phénoliques. A présent plus de 4000 composés ont été identifiés soit environ 50% des Polyphénols. Ces composés ont une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (**Lobstein, 2010**).

II-2-2-2- Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes (**Medic-saric M et al., 2003**). Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (**Bruneton, 1999**).

II-2-2-3- La structure

Ils ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (**Erdmanet al., 2005**). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (**Emerencianoet al., 2007**) en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, éthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (**Maleev et Kuntii., 2007**) (Fig. 05).

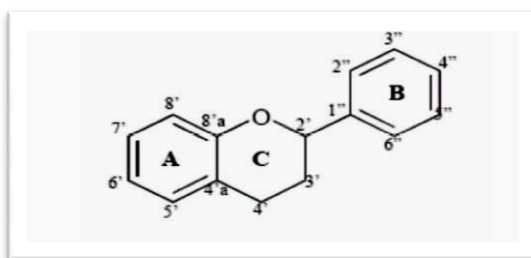


Figure 05 : Structure générale des flavonoïdes (**Collin et Crouzet, 2011**).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes sous classes (Fig. 06).

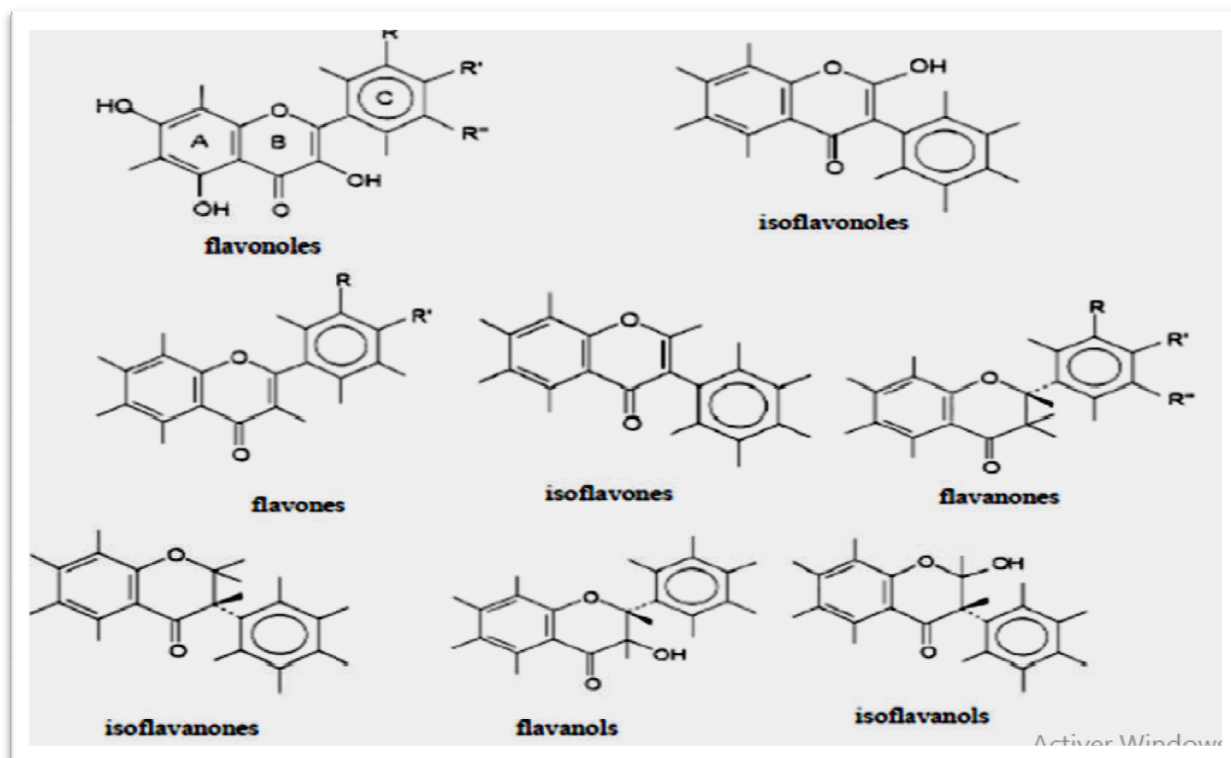


Figure 06 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes (**Havsteen, 2002**).

II-2-2-4- La Biosynthèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement distribués chez les angiospermes dont le métabolisme phénolique aboutit à un grand nombre d'édifices moléculaire caractérisant ainsi une diversité phénotypique. Malgré leur variabilité structurale, ces molécules dérivent toutes de la même voie de biosynthèse dont les étapes sont les mieux connues tant du point de vue biochimique que moléculaire. La structure d'un flavonoïde s'organise toujours autour d'un squelette 1,3-diphénylpropane C6-C3-C6 (Figure 2), décrit par une nomenclature spécifique. La biosynthèse des flavonoïdes fait intervenir des voies communes : la voie shikimique grâce à la phénylalanine ammonialyase (PAL) (Vogt, 2009), et la voie acétate grâce à la chalcone synthase (CHS) (Dixon *et al.*, 1999). La PAL permet la synthèse d'acide p-coumarique et d'acide cinnamique. L'élaboration des composés phénoliques réside dans la condensation de trois unités de malonyl-CoA avec l'acide para-coumarique, conduisant aux deux noyaux aromatiques A et B reliés par l'hétérocycle C. Ces condensations sont catalysées par la chalcone synthase (CHS), enzyme clé dans la formation des flavonoïdes qui conduit à un précurseur, une chalcone (Figure 7). La chalcone néoformée donne une flavanone (la naringénine), une transformation catalysée par une chalcone-isomérase (CHI) (Van Tunen AJ, 1990 ; Fowler *et al.*, 2009).

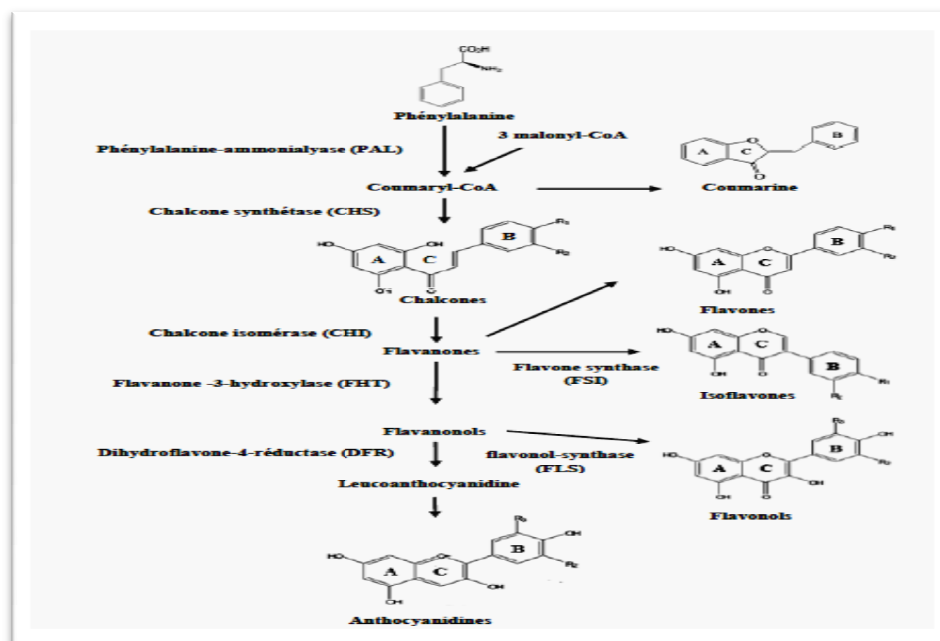


Figure 7. Principales étapes de biosynthèse des différentes classes des flavonoïdes (Saffidine K, 2015).

II-2-2-5- la classification

Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles A et B. Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes présentées (figure 20), nous citerons les principales : anthocyanes, flavanols, flavones, flavanones, isoflavones et proanthocyanidols (**Harborne, J.B.1988**).

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et/ou 5'. Un ou plusieurs de ces groupes hydroxyles sont fréquemment méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés. Dans les plantes, les flavonoïdes sont souvent présents sous forme C- ou O-glycosylés ; les formes libres, sans sucres attachés, sont appelées génines. Les O-glycosides, de loin les plus fréquents, portent leurs substituants sur les groupements hydroxyles de la génine, alors que pour les C-glycosides, la liaison se fait directement avec un carbone de la génine, les C-6et/ou C-8. En effet, la formation de la (ou des) liaison(s) hétérosidique(s) est sous la dépendance de transférases très spécifiques quant au substrat et à la position d'osylation (**Bruneton, J.1999**). Plus de 80 sucres différents ont été trouvés liés aux flavonoïdes des plantes. Parmi eux, le *D*-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant, d'autres hexoses, le *D*-galactose et le *D*-mannose, ainsi que des pentoses, le *D*-xylose, le *L*-arabinose et le *D*-apiose sont fréquents avec le *L*-rhamnose (seul désoxyhexose) et des acides uroniques (le plus souvent l'acide *D*glucuronique). On trouve également des disaccharides (une quarantaine dont les plus courants: le rutinose et le néohesperidose), des trisaccharides (environ 30 espèces) et quelques rares tétrasaccharides. Les sucres peuvent à leur tour être substitués par des groupements acyles tels que le malonate ou l'acétate (**Hallman, P.C.H., et al., 2000**).

II-2-2-6- Propriétés biologique des flavonoïdes

- La principale activité attribuée aux flavonoïdes est une propriété «vitaminique P», ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Les flavones et flavanols sont deux classes de flavonoïdes protecteur de cellules végétales contre les effets nocifs des radiations ultraviolettes excessives, et contre les rayons Y et l'ozone.
- Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres impliqués dans la Peroxydation lipidique.
- Ce sont des protecteurs vasculaires améliorant la résistance et la perméabilité des Vaisseaux aussi bien artériels que veineux. Ils augmentent aussi la résistance des

vaisseaux en protégeant le tissu conjonctif péri vasculaire des dégradations enzymatiques (**Harbone et Williams, 2000**).

***Autre propriétés**

- Protection des plantes contre les radiations UV.
- Sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales.
- Agissent comme des pigments ou des Co-pigments.
- Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire.
- Régulation de l'élongation des tiges.
- Interviennent dans la maturité des fruits.
- Sont à l'origine des goûts amers (**Yang et al., 2008**)

2-2-7- Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... (**Grotewold, 2006**). Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus.

Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles. Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments (certaines flavones et flavonols) (**Grace et al, 1996**). Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (**Luigia et Giuseppe, 2006**).

Les flavones, aurones et chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beiges voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes (**Grotewold, 2006**). Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et les oiseaux, qui jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion assurant ainsi la reproduction de l'espèce (**Jaime et al., 2007**). Les flavonoïdes, dissous dans les vacuoles à l'état d'hétérosides, s'accumulent dans les cellules épidermiques, assurant la protection des

tissus contre les rayonnements solaires nocifs. On prête à certains flavonoïdes (phytoalexines), un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogène.

II-3- Les tanins

II-3-1- Définition

On appelle communément «Tanins »des substances d'origine végétal non azotées, de structure polyphénolique, de saveur astringent et ayant la propriété commune de tanner la peau c'est -à-dire de la rendre imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000. dans les plantes, les tanins existent à l'état de complexes, les tannoïdes ; certains combinés à des sucres sont dénommés tanosides **(Paris., 1976)**.

Les tanins sont très importants dans l'industrie des cuirs, ils agissent en donnant des combinaisons insolubles avec les protéines et rendent ainsi les peaux moins perméables à l'eau et imputrescibles **(Paris., 1981)**.

Les tanins forment avec les métaux lourds, notamment les sels de fer, des précipités de couleur très foncée : noires, brunes, bleus sombres, utilisés pour cette raison dans la fabrication de certaines encres **(S.Sidharan et al., 2011)**.

II-3-2- Localisation et distribution

Les tanins sont très répandu dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les fagacées, les rosacée **(Ghestem et al., 2001)**. Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruites, les racines et les graines **(Khanbabae et Ree, 2001)**.

II-2-3-3- Structure et classifications

On distingue habituellement chez les végétaux supérieur, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés **(Bruneton., 1993)**.

II-3-3-1- Les tanins hydrolysables (THS)

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols, les ose trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types :

- Les tanins galliques qui sont des esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.

- Les tanins ellagique que sont des esters d'oses et d'acide ellagique (**Bruneton., 1993**).

Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique (**S.D.Zoughlache., 2009**).

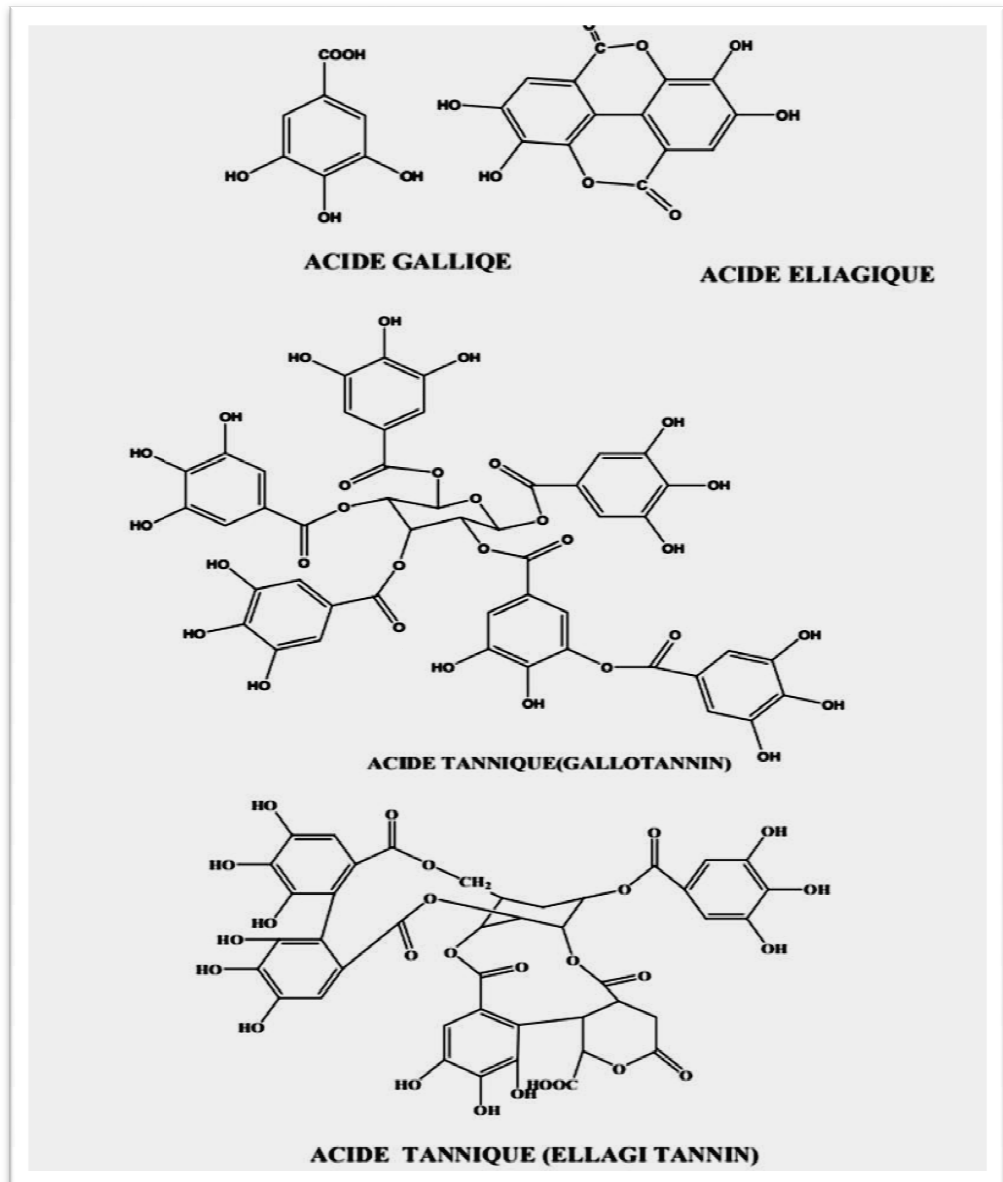


Figure 08 : structure des tanins hydrolysables (**K.Bouhadjera., 2003**).

II-3-3-2- Les tanins condensés :

Sont des polymères à noyau flavone qui ont un poids moléculaire élevé (de 1000 à 30000) et une forte affinité pour les protéines.

Ils sont présents dans les vacuoles d'un réseau de cellules spécialisées, situées sous l'épiderme des feuilles et des tiges de certaines légumineuses tempérées (sainfoin, lotier corniculé ou pédonculé) et tropicales herbacées (*Les pedezasericea*, *desmoduimintortum*) et arbustives, ainsi que dans les feuilles du moniac, des feuilles et des graines des sorghos (R. Jarrige et al., 1995).

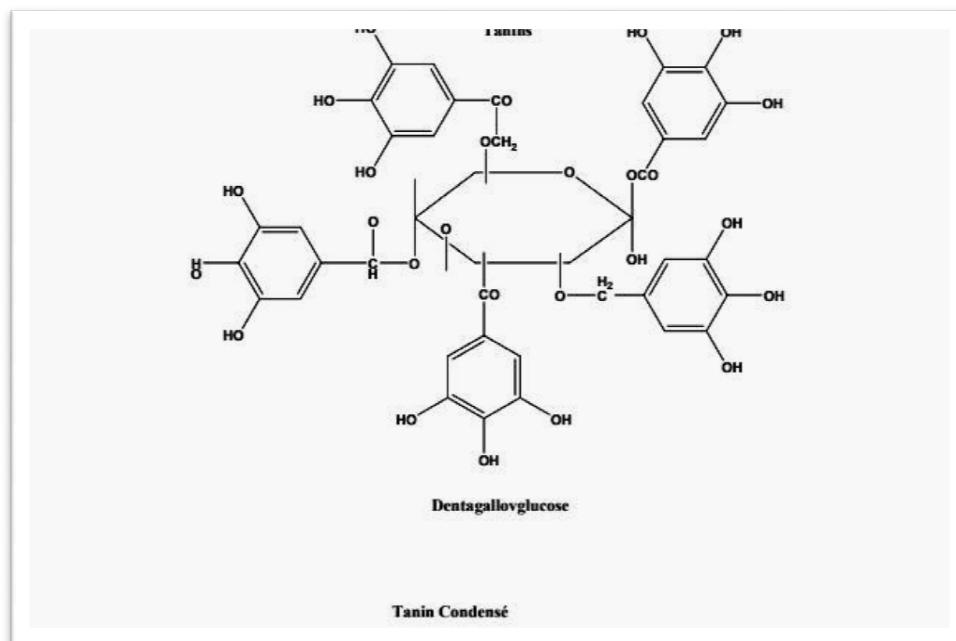


Figure 09 : structure de tanins condense (N.Boukri., 2014).

Les tanins étaient anciennement utilisés dans l'industrie du cuir (tannerie) car en se liant aux protéines constitutives des peaux d'animaux, les tanins rendent le cuir solide, imputrescible et résistant aux microorganismes (S.Derouazi, K.Chaoui ; 2013).

II-4- Les coumarines

II-4-1- Définition

Historiquement, la coumarine tire son nom de « Kumaru » d'une longue amérindienne, qui représente le nom d'un arbre poussant en Amérique du sud donnant la fève tonka. Cette molécule fut isolée pour la première fois en 1820 par volgel (GeorgeS.Clark., 1995).

Les coumarines sont formées dans les différentes parties des plantes et s'accumulent essentiellement dans les fruits et les racines, telles que les racines des flouves (*Graminées d'Eurasie* de genre *Anthoxanthum*), suivies par les feuilles et les écorces, ainsi que les tissus âgés ou lésés (Lacy A, O'kennedyR.,2004).

II-4-2- Constitution chimique et structure

Les coumarines sont des composés aromatiques naturels, portant un groupement benzo-pyrone dans leur structure (**figure 10**). La nomenclature internationale est le 2H-benzopyran-2-one, qui peut être considérée en première approximation comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique (**J.Bruneton., 1999**) (<http://fr.wikipedia.org/wiki/comarine#cite-note-clark-5>).

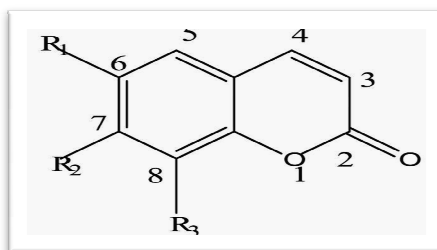


Figure 10 : structure de coumarine (**Harkati B., 2011**).

II-4-3- Les coumarines dans le règne végétal

Aujourd'hui, on recense plus de 1300 coumarines différentes (**Iranshahi, et al., 2009**) décrites chez les plantes, mais aussi chez les champignons et les bactéries. À l'origine, elles ont été découvertes dans la fève de tonka (*Dipteryx odorata*, famille des Fabacées) qui en contient beaucoup. Des coumarines ont été répertoriées chez près de 30 familles de plantes différentes comprenant environ 150 espèces et dont les plus importantes sont : les Rutacées (ex : agrumes, *rue officinale*), les Caprifoliacées (ex : *weigela florida*), les Apiacées (ex : Persil, Panais, Carotte), les Clusiacées (ex : genre *Calophyllum*), les Oléacées (ex : genre *Fraxinus*), les Nyctaginacées (ex : *Bougainvillea Spectabilis*), (pour revue, voir (**Venugopala et al., 2013**)). D'autres familles de plantes produisent aussi des coumarines comme les Lamiacées (ex : lavande) (**Brown, 1963**) et les Lauracées (ex : Cannelle) (**Miller et al., 1996**).

II-2-4-4 synthèses des coumarines

Ils existe plusieurs réactions qui permettent d'accéder à de nombreux composés possédant la structure des coumarines, nous pouvons citer la réaction de **Pechmann**, de **Perkin**, de **Knoevenagel**, de **Reformatsky** et enfin de **Wittig**. (**T.S.Li, et al., 1998**) (**S.S.Bahekar., 2004**).

Cependant, la réaction de **Pechmann** est la méthode la plus utilisée dans la préparation des coumarines en raison de son importance dans l'obtention soit du tri ou tétrahydrocoumarine, cette méthode nécessite des équipements très simple et offre

d'excellents rendement (T.S.Li, et al., 1998) (S.S.Bahekar., 2004) (S.Sudhaet al., 2008), les recherche récentes ont montré que la synthèse des coumarines peut s'effectuer efficacement sous irradiation micro-onde en présence de catalyseursacide(V. Singh et al .,1997) et de liquide ioniques aussi .(V. Singh et al., 2005).

II-4-4- Classification des coumarines

Les coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle .Selon la nature des substituant, on peut classer les coumarines n cinq catégorie : (Guignard J., 1998) (Deina,M et al., 2003).

a-Coumarines Simples

Les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal et possèdent des substituions (OH ou OCH₃) en 6 et 7.Cette classe comporte deux sous classe, les génines et les hétérosides (Harkati B., 2011).

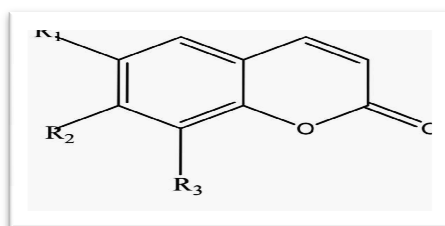


Figure 11 : structure de coumarine (Yassa S. et Bouchama S., 2014).

➤ Les génines :

Tableau 2 : la structure chimique brute des quelques génines coumariques (Djemoui D., 2012).

	R1	R2	R3
Ombelliférone	H	OH	H
Esculétol	OH	OH	H
Scopolétol	OCH ₃	OH	H
Herniarine	H	OCH ₃	H
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH

➤ **Les hétérosides :**

Tableau 3 : la structure chimique brute des quelques hétérosides (Djemoui D., 2012).

	R1	R2	R3
Esculoside(=Esculine)	O-Glu	OH	H
Cichorioside(=Cichorine)	OH	O-Glu	H
Scopoloside(=Scopoline)	OCH ₃	O-Glu	H
Fraxoside	OCH ₃	O-Glu	OH

b- Furanocoumarines

Les Furanocoumarines sont des molécules tricycliques, produites par la combinaison de deux hétérocycles (coumarine et furane). Ils constituent une classe abondant où chaque membre se distingue par la présence de divers groupements (hydroxy, alkoxy, géranyloxy), sur les carbones 2,5,6 et 8 .

On distingue deux types de Furanocoumarines en fonction de la position du noyau furane sur l'hétérocycle coumarines : (Merzoug B., 2009)

❖ **Les Furanocoumarines linéaires :** dérivant de la molécule de psoralène

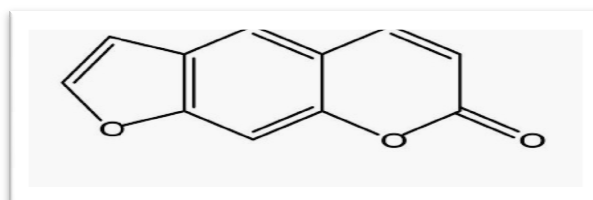


Figure 12 : Psoralène (Djemoui D., 2012).

❖ **Les Furanocoumarines angulaire :** basées sur la structure de l'Angélicine(Djemoui D., 2012)

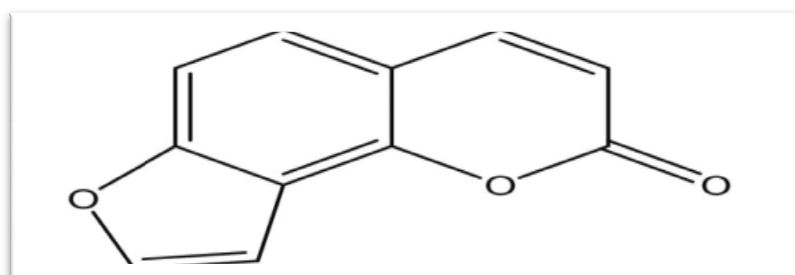


Figure 13 : Angélicine (Djemoui D., 2012).

c. Pyranocoumarines

Les Pyranocoumarines sont des composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine, soit dans le Prolongement (forme linéaire) comme les Xanthylétine ou Latéralement (forme angulaire) comme les séselines, visnadines (B. Harkati, 2011)

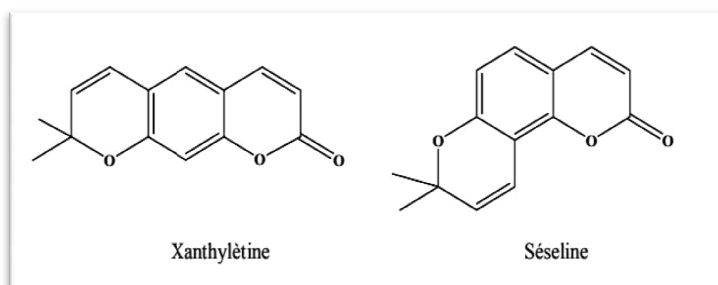


Figure 14 : Structures de quelques Pyranocoumarines (Harkati B., 2011).

d. Dicoumarines (coumarines dimériques) : Les Dicoumarines sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples (Yezza S. et Bouchama S., 2014).

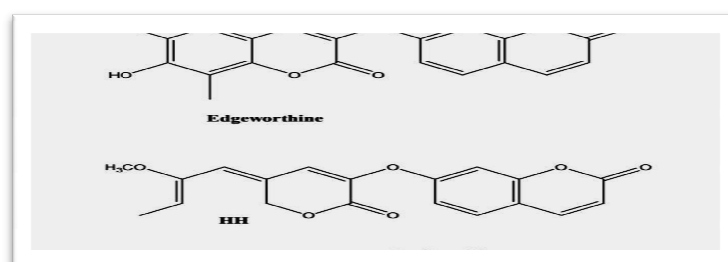


Figure 15 : Structures de quelques dicoumarines (D.Hadj Salem, 2009).

e. Tricoumarines (coumarines trimériques) :

Les Tricoumarines sont des composés issus de l'union de trois unités coumariques, (la figure 16) montre un type des tricoumarines, qui est la triumabéllatine. (W. Bouzid, 2009).

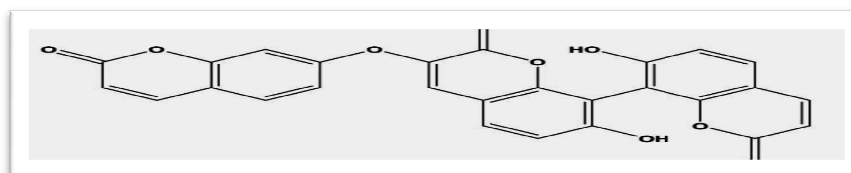


Figure 16 : structure triumabéllatine type des tricoumarines (Djemoui D., 2012).

II-5- Les terpénoïdes

II-5-1- Définition

Les terpénoïdes (ou isoterpénoïdes ou terpènes) sont probablement le groupe le plus commun de produits naturels. Ils sont très variables, bien qu'ils soient tous dérivés d'une molécule de squelette, l'unité isopentényl-diphosphate (IPP) isoprenoïdes à cinq atomes de carbone (**Lücker et al, 2007**). Chaque groupe de terpène est issu de la condensation « tête-à-queue » d'un nombre variable d'unités d'isopréniques (**Bruneton, 2009**).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble des substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc...). (**Melecky M., 2008**).

Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (**Benchaar et al., 2008**).

II-2- Composés aromatique

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C₆-C₃). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole. Ils sont fréquemment rencontrés dans les HEs d'Apiacées (cumin, fenouil, persil, etc.) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de girofle (**Chemat et al., 2012**).

II-3- Composés d'origine diverse

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraîna- bles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraîna- bles lors de l'hydro distillation carbure, acide (C₃ à C₁₀), alcools, aldéhydes (octanal, décanal ...) esters, lactones, produits azotés ou soufrés (**Carole, 2013**).

II-4- Classification

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (

C10), Sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), Sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et Polyterpènes. (Melecky M., 2008).

Tableau 4 : classification de terpenoides (Pandit et al, 2015).

Numéro d'unité isoprène (n)	Numéro d'atome de carbone	Type du terpène
2	C10	Monoterpenes (C ₁₀ H ₁₆)
3	C15	Sesquiterpenes(C ₁₅ H ₂₄)
4	C20	Diterpenes(C ₂₀ H ₃₂)
5	C25	Sesterpenes(C ₂₅ H ₄₀)
6	C30	Triterpenes(C ₃₀ H ₄₈)
8	C40	Tetraterpenes(C ₄₀ H ₆₄)
>8	>C40	Polyterpenes(C ₅ H ₈) _n

- **Hémiterpènes**

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C₅ ramifiée ; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpène, Seul l'isoprène a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Loomis et Croteau, 1980).

- **Monoterpènes**

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurelle : les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques). Ils résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités d'isoprène (Allen et al., 1977).

- **Sesquiterpènes**

Les sesquiterpènes sont une classe de terpène formés de trois unités isopréniques et de formule moléculaire C₁₅H₂₄. Ils sont présents dans la nature, synthétisés par divers types d'organismes. On en trouve dans certaines essences végétales aromatiques et dans certaines huiles essentielles ; certains sesquiterpènes sont par exemple biosynthétisés par un champignon aquatique microscopique vivant dans une éponge marine (Mustafa V. et al., 1994).

On peut rattacher aux sesquiterpènes, en raison de leur structure, des lactones comme la santonine, l'hélénine, substances non volatiles mais sublimables. Ces composés, non

saturés, sont constitués par deux cycles penta- et heptacarbonés ; on trouve dans ce groupe le guaïazulène (Gaïac), les vétivazulènes , le chamazulènex (des essence de chamomilleet de Matricaire) (**Bruneton J.,1999**).

- **Diterpènes**

Les diterpènes constituent un grand groupe de composés en C-20 issus du métabolisme du 2E, 6E, 10E-géranylgéranylpyrophosphate (GGPP). On dénombre plus de 1200 produits diterpéniques répartis en une centaine de squelettes .on les rencontre dans certains insectes et divers organismes marins, ils sont surtout répons chez les végétaux particulièrement dans les espèces des familles Lamiacées. Astéracées et Fabacées. Ils peuvent être acycliques, monocycliques, tricycliques ou tétracycliques (**Dey., 1991, Bruneton., 1999**).

- **Sesterpènes**

Les Sesterpènes sont des composés en C25, construits à partir de 5 unités d'isoprène. L'acide mévalonique(MVA) semble être le précurseur de cette classe. Ils ont été isolés des plantes , des champignons , des insectes , et des éponges .ils ya plus de 150 Sesterpènes bien connus , parmi les quels une trentaine a une structure de furfurane , dérivé du3,7,11,15,19-pentamethyleicosane (**Melecky M., 2008**).

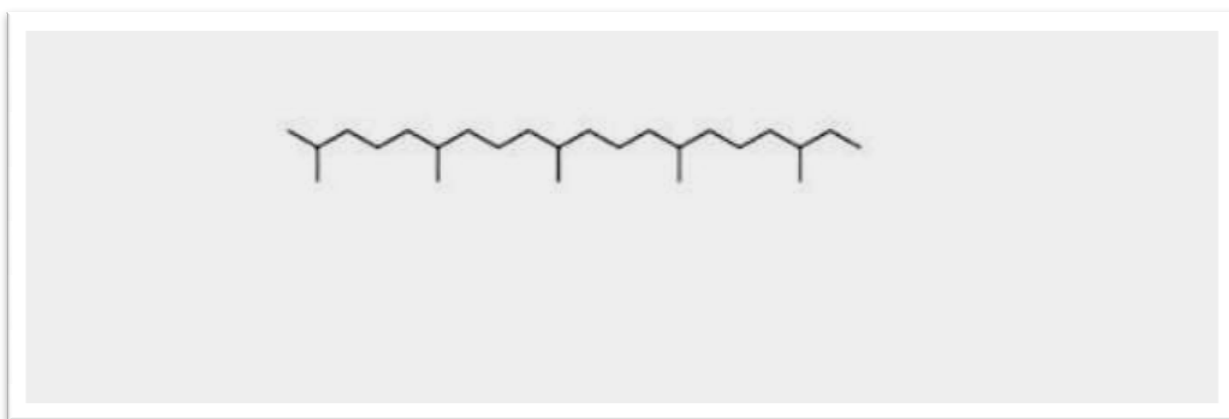


Figure 17 : 3, 7, 11, 15, 19,-pentamethyleicosane (Melecky M., 2008).

Les Sesterpènes sont plutôt rares dans la nature ; ils se trouvent soit sous forme linéaire soit cyclique, avec un, deux ou trois cycles. (**Melecky M., 2008**).

- **Triterpènes**

Les triterpènes sont des substances d'origine organique en C30 (30 atomes de carbone) de la famille de terpène très répandus dans la nature, on les trouve notamment dans les résines, à l'état libre, sous forme estérifiée ou hétérosidique.

Ils résultent de la condensation de six molécules d'isoprène. La formule de base d'un triterpène est : $C_5H_8 \times 6 = C_{30}H_{48}$. Ce sont de hydrocarbures insaturés que l'isoprène est un hydrocarbure saturé (**Pierre B. et Pasich B., 1964**).

- **Tetraterpènes**

La caroténoïdes sont Tetraterpènes, les plus typique étant les apocaroténoïdes, les diapocaroténoïdes, les mégastigmanes. (**Melecky M., 2008**).

- **Polyterpènes**

En général, la Polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène. Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans- . Le cis-polyisoprènes se trouve dans le caoutchouc indien, alors que le polyisoprène-trans est la partie principale de gutta-percha. En plus chicle représente un mélange de 1 :2 de deux isomères cis- et trans- . Les prenylchoinones sont des Polyterpènes comptant jusqu'à 10 unités d'isoprène les vitamines K1 et K2 et la vitamine E. (**Melecky M., 2008**).

II-5- Propriétés physico-chimiques :

- Les terpènes sont des composés de masse moléculaires double de celle de l'isoprène : on peut les considérer comme des dimères de l'isoprène.
- Ce sont des liquides incolores à odeur d'essence de térébenthine.
- Facilement inflammables, et irritant la peau et les muqueuses.
- Dans l'air des forêts, on a trouvé plus de 15 terpènes différents. Dans l'air des forêts de pins, des teneurs en terpènes de 210 PPb ont été mesurées, et même de 825 PPb dans le jeunes, forêts, par temps calme : mais en général. Les teneurs dans l'atmosphère ne dépassent pas 70 PPb(**Bliefert Perroud, 2009**)
- Comme les autres lipides, ils sont peu ou pas solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques.
- Contrairement aux autres lipides et sauf exception (les stérols), ils ne sont pas liés à des acides gras.
- La structure de leur unité de base est formellement dérivée de l'isoprènes ou 2-méthyl-1,3-butadiène, molécule en C-5 (**Moussard, 2006**).

II-6- LES SAPONINES

II-6-1- Définition

Les saponosides (ousaponines) sont des hétérosides à génine stéroïdique ou triterpénique, caractérisés principalement par leurs propriétés tensioactives. Ces propriétés se traduisent notamment par la formation de mousse par agitation dans l'eau. De plus, la plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques (**Gazengel J.M., 2013**).

Les saponines sont retrouvées dans le soja, l'ail, les haricots blancs, les épinards, les tomates, les pommes de terre, les graines d'avoine, la luzerne (**Dacosta Y., 2003**).

II-6-2- Structure des saponines

Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine (qui est définie comme le groupement aglycone ou non glucidique de la saponine), les saponines à génine stéroïdique et les saponines à génine triterpénique (**Mayank et al., 2011**).

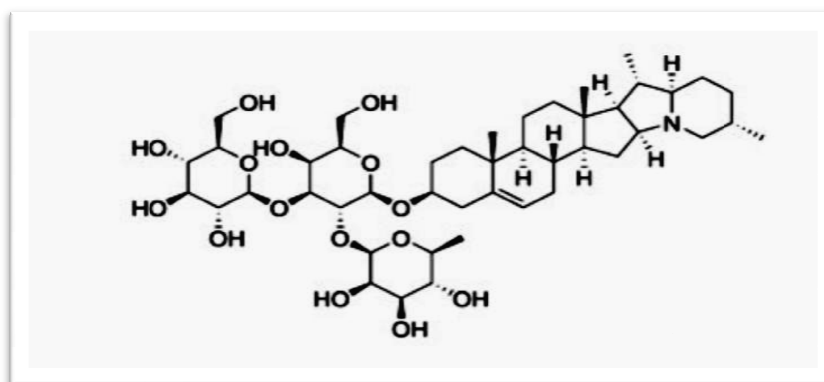


Figure 18 : structure chimique de la saponine, une saponine rencontrée chez toutes les *Solanacée* (**Garia, 2014**).

II-6-3- Propriétés biologiques

- Les saponosides présentent des propriétés antivirales, antifongique, antibactériennes et sont toxiques pour les animaux à sang froid.
- Ils provoquent une irritation cellulaire à l'origine de propriétés diurétiques, expectorantes, laxative
- Par ailleurs, ce sont des protecteurs veineux et capillaire et ils présentent une activité anti-œdémateuse (**Gazengel J.M., 2013**).

Les lignines et les lignanes

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique. Le sécoisolaricirésinol et le matairesinol constituent les principales lignanes d'origine végétale (Axelson *et al.*, 1982) (Figure 19).

La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine. Il est à noter que la composition de la lignine diffère d'une espèce à une autre. Une structure précise pour la lignine n'est pas encore connue, mais sûrement elle est très complexe (Buchanan *et al.*, 2000) (Figure 20)

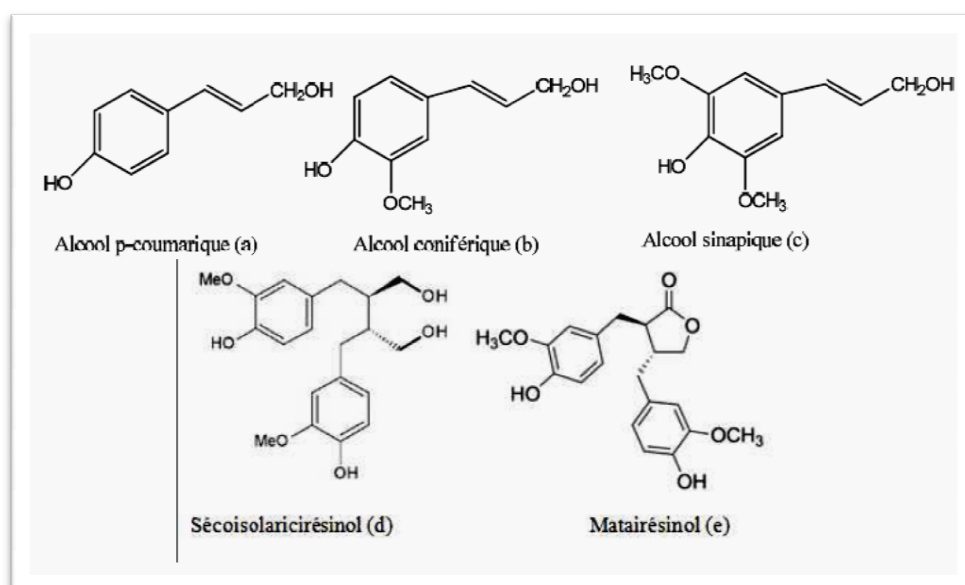


Figure 19 : Structure des lignanes (Axelson *et al.*, 1982).

a, b et c structure des alcools formant les lignanes et les lignines ; d et e exemples de lignanes

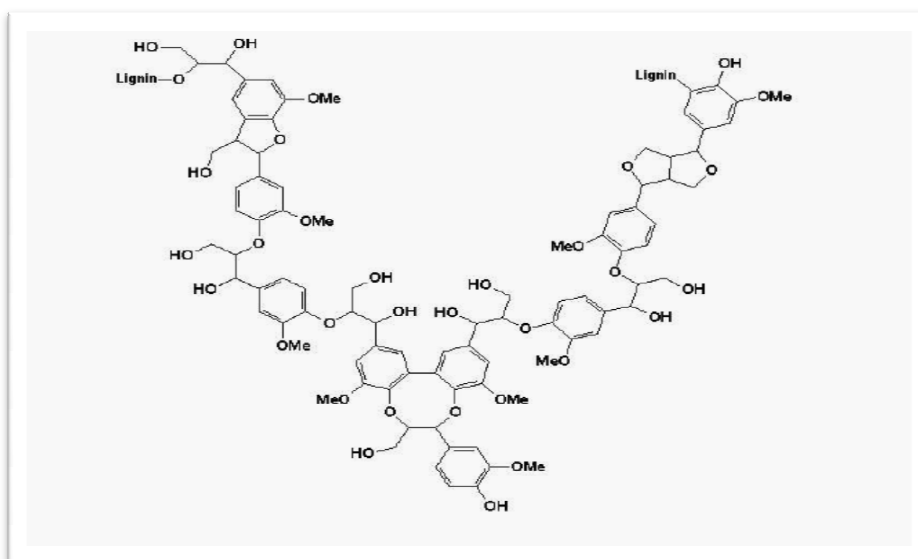


Figure 20 : Structure de la lignine. (Buchanan *et al.*, 2000)

II-7- LES ALCALOÏDE

II-7-1- Définition

Ils sont d'une très grande diversité chimique (1200 sont identifiés): une classe particulière de composés se rencontrant en générale dans un groupe systématique bien défini (par exemple, la morphine, l'un des 30 alcaloïdes de l'opium chez les papavars. (Heller *et al.*, 2011).

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques et douée à faible dose de propriétés physiologique marquées ; issus principalement des végétaux. Les alcaloïdes sont regroupées en 3 genres : les alcaloïdes vrais, les proto alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes :

- ✓ **Les pseudo-alcaloïdes** : ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale: exemple la coniine.
- ✓ **Les proto-alcaloïdes** : l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés, exemples : mescaline, hordénine, éphédrine, colchicine.
- ✓ **Les alcaloïdes vrais** : L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle; Bio synthétiquement formés à partir d'acides aminés; possèdent une activité pharmacologique marquée (Merghem, 2009).

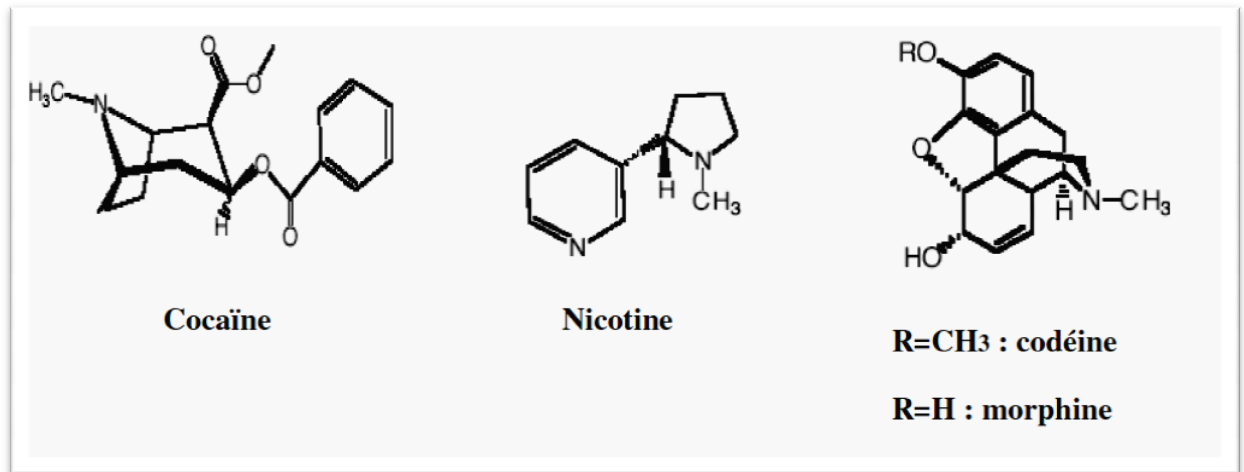


Figure 21 : Structure chimique des différents alcaloïdes (Krief, 2003).

II-7-2- Propriétés des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans des domaines variés :

- ✓ Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient anti déresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine);
- ✓ Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques, anticholinergiques et nglioplégiques.
- ✓ On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'antifibrillants, d'antitumoraux, et d'antipaludiques (Bruneton, 1999).

CHAPITRE III
LE STRESS OXYDATIF

III-LE STRESS OXYDATIF

III-1- Généralité

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant » c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux, oxygènes toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (**Favier, 2003**).

III-2- Définition

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles (**Pincemaital, 1999**).

D'autre part, Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. (**Beaudeau J-L, Durand G .2001**) d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré. (**Belaich, R and B OU Jraf, S.2006**) Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose.

III-3- Les principales sources d'antioxydants

III-3-1- Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole, appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments (**Maamri S, 2008**).

Ils sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant à leurs effets

cancérogènes ou mutagènes, mais de nombreux constituants naturels des aliments n'ont pas encore été testés (**Benarous K, 2009**).

III-3-2- Les antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Elles incluent la beta carotène, l'albumine, les vitamines (E, C, P), les composés phénoliques (**Amadou S, 2005**). Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Mohammed Z, 2006**).

III-4 Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Nathalie, 2014**).

L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (**Bouziane, 2011**).

III-4-1 Oxydation d'ADN

Il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les RLO (**Marie-Eve, 2012**). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant des bases modifiées. Le stress oxydatif peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN (**Belkheiri, 2010**).

III-4-2 L'oxydation des lipides

En raison de leur haut degré d'insaturation, les membranes riches en acides gras polyinsaturés sont très sensibles à l'oxydation. Ce processus induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (**Hong et al., 2002**). La réaction incontrôlée des ROS avec les lipides membranaires conduit à une génération innombrable de radicaux libres produits dans une réaction en chaîne, qui provoque la détérioration des membranes (**Kardehet al., 2014; Pisoschi et Pop, 2015**).

Dans la phase d'initiation (**Figure 22**) de la réaction en chaîne de la peroxydation, un radical hydroxyle réagit avec une chaîne d'acide gras insaturé (LH) et produit un radical d'acide gras et une molécule d'eau. Le radical d'acide gras n'est pas stable, dans la phase

de propagation il a tendance à réagir avec l'O₂ pour produire un radical peroxy lipidique (LOO[•]). Cette molécule générée réagit ensuite avec un autre acide gras insaturé et produit un autre radical d'acide gras et un peroxyde lipidique (LOOH) (Kardehet *al.*, 2014). Ce dernier est très réactif, il fournit une grande variété de produits actifs qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN.

Les réactions de peroxydation donnent des produits spécifiques utilisés comme indicateurs de la peroxydation tels que le malondialdéhyde (MDA), le acides thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonenal (4- HNE) (Valkoet *al.*, 2009).

La réaction en chaîne de la peroxydation lipidique peut être prévenue par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes qui joue le rôle de donneur d'hydrogène. En effet, la vitamine E transforme les radicaux peroxydes en hydroperoxydes et met fin à la réaction en chaîne de peroxydation, c'est la phase de terminaison (Daum-Badouard, 2006).

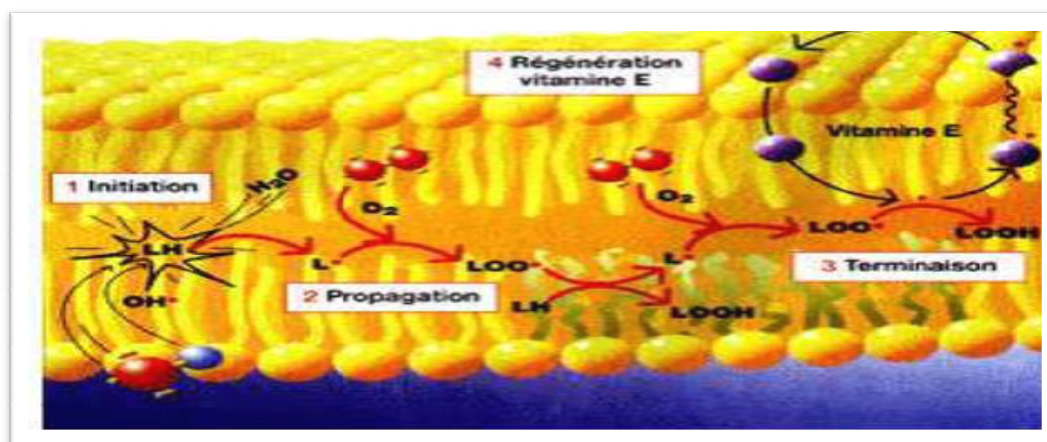


Figure 22 : Réaction de la peroxydation lipidique (Daum-Badouard, 2006).

III-4-3Oxydation des protéines

Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les ROS. Cette oxydation peut rompre les liaisons peptidiques modifiant ainsi la chaîne protéique. Elle provoque des modifications par addition de produits issus de la peroxydation. Le dommage des protéines peut se produire par oxydation du thiol, une carbonylation, une fragmentation ou un mauvais repliement et dépliement, ce qui pourrait conduire à la perte de l'activité de la protéine (Pisoschi et Pop, 2015). Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes soit par suppression de groupements amines ionisables soit par extériorisation des zones

hydrophobes centrales et la formation des amas anormaux dans ou autour des cellules (**Goto et Radak, 2013**). Les principaux produits de l'oxydation des protéines sont les carbonyles qui sont utilisés comme marqueurs du stress oxydant.

III-5 Maladies lies au stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies telles que le cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré. Il est un des facteurs de genèse de maladies plurifactorielles telles que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 1997**).

III-6- Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique possédant, sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires, cet électron lui confère une certaine instabilité et haute réactivité (demi-vie courte) (**Ortiz et al., 2013**). Les espèces radicalaires vont tenter de rapatrier leurs électrons célibataires en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron (**Afanas'ev, 2009**). A des concentrations physiologiques, les RLs jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire (**Ziechet et al., 2010**), mais à des concentrations plus élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose (**Salido et Rosado, 2009**).

III-6-1- Formes des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux second **Espèces radicalaires, Espèces non radicalaires (Tableau 5)**, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**), et d'autre classification basé sur le type de radical en donnant deux groupes principales : des radicaux dérivé de l'oxygène (Réactive oxygène spécifs : ROS) ou d'autres atomes comme l'azote (Réactive nitrogène spécifs : RNS) (**Yan, 2014**).

Tableau 5. Différents types des espèces réactives (Gutowski et Kowalczyk, 2013)

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	O ₂ ⁻	HOCl	Acide hypochlorique
Monoxyde d'azote	NO	1O ₂	Oxygène singulet
Radical alkoxyde	RO	H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
Radical hydroxyle	OH	ROOH	Peroxyde organique
Radical peroxyde	ROO	ONOO-	Peroxynitrite

III-6-2- Les principales sources des radicaux libres (RLO)

Les RLO sont principalement synthétisés à la fois par :

- **Des sources endogènes** qui se forment au cours du métabolisme normal dans les organites tels que les mitochondries, le réticulum endoplasmique, les peroxysomes et dans les cellules inflammatoires (**Sarangarajan et al., 2017**).
- **Des sources exogènes** telles que des éléments chimiques ou physiques. Ainsi, les radiations ionisantes (rayons X), la lumière (surtout certains rayonnements ultraviolets), la fumée de tabac et de nombreux composés chimiques peuvent générer des radicaux libres (**Murphy, 2009, Leverve, 2009**).

III-6-2-1- Rôles physiologiques des radicaux libres

Selon **Dröge (2002)**, les radicaux libres ont les fonctions physiologiques suivantes (**Tableau 6**).

Tableau 6. Principaux rôles physiologiques des radicaux libres et ces dérivés (**Dröge, 2002**).

Espèce	Rôle physiologique
O₂ et dérivés	Transduction du signal. Relaxation du muscle lisse. Activation du facteur nucléaire (NF-κB) responsable de l'expression du gène de l'interleukine 2 (IL-2). Activation de la protéine kinase C. Amélioration des fonctions immunologiques par amplification du Signal intracellulaire. dans les lymphocytes T. Induction de l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales. Induction et exécution du phénomène d'apoptose.
NO	Relaxation des muscles lisses. Modulation des fonctions des protéines kinases, phosphodiesterases, et des canaux ioniques. Activation des MAPK des cellules endothéliales et monocytes. Protection contre l'apoptose par inhibition de certaines cascades.

III-6-2-2- Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) incluent les radicaux libres possédant au moins un électron libre sur la couche externe (radical hydroxyle OH., super oxyde O₂., le radical peroxy ROO.) et les dérivés non radicalaires, dont la réactivité est très élevée comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'oxygène singulet ¹O₂ et l'acide hypochloreux HOCl (**Cuzzocrea et al., 1998 ; Chu et al., 2010**).

A cause de leur hyperréactivité, les radicaux libres ont une demi-vie très courte (quelques nanosecondes à quelques millisecondes). Cette réactivité dépend des éléments en présence, si un radical rencontre un autre radical, le produit sera non radicalaire ($A^{\bullet} + B^{\bullet} \rightarrow AB$). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($A^{\bullet} + B \rightarrow A + B^{\bullet}$) et donnera naissance à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (**Finaud et al., 2006**).

Les espèces réactives de nitrogène (ERN) sont dérivés de l'oxyde nitrique ou du monoxyde d'azote comme le radical monoxyde d'azote (NO.), l'anion peroxydinitrite (ONOO-) et le radical dioxyde d'azote (NO₂.) (**Finaud *et al.*, 2006**).

Aussi Les Espèces Réactives de l'Oxygène sont des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène (**Migdal et Serres, 2011**), sont composées d'espèces oxygénées radicalaires et non radicalaires formé par la réduction partielle de l'oxygène (**Ray *et al.*, 2012**).

Les radicaux libres peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou dérivé de l'azote (espèces réactives de l'azote ERN). Les principaux dérivés des molécules d'oxygène et de l'azote sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 7: Les principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. D'après (**Halliwell et Gutteridge, 2008**).

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	Espèces réactives de l'azote (ERN)
Anion superoxyde O ₂ ^{°-}	Monoxyde d'azote NO [°]
Radical hydroxyl HO [°]	Dioxyde d'azote NO ₂ [°]
Radical hydroperoxyl HO ₂ [°]	Radical nitrate NO ₃ [°]
Anion carbonate CO ₃ ^{°-}	
Radical peroxy, RO ₂ [°]	
Radical alkoxy RO [°]	
Dioxyde de carbone CO ₂ ^{°-}	

III-7- Les antioxydants

La production des RLs est régulée par notre organisme qui a développé des moyens de défense antioxydant de protection contre les effets potentiellement destructeurs des RLs. Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Rahal *et al.*, 2014**). Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé et éteindre des RLs, et chélate les métaux aux niveaux physiologique appropriés. Quelques antioxydants peuvent agir l'un sur l'autre avec d'autres antioxydants régénérant leurs propriétés originales ; ce mécanisme désigné souvent sous le nom du « réseau antioxydant » (**Qustiet *al.*, 2010**).

III-7-1- Antioxydants enzymatiques

Les superoxydes dismutases (SODs) sont une classe d'enzymes apparentées qui catalysent la dégradation de l'anion superoxyde en O_2 et H_2O_2 . Les cellules humaines possèdent une enzyme SOD mitochondriale ayant le manganèse dans son site actif (MnSOD) ainsi qu'une enzyme SOD cytosolique et une SOD extracellulaire ayant le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD) comme coenzymes (Favier, 2003). Due à sa relative stabilité, le H_2O_2 produit par les SODs est régulé enzymatiquement par les catalases et les peroxydases (Blokina *et al.*, 2003). Les catalases sont des enzymes localisées dans les peroxysomes et catalysent la conversion du H_2O_2 en H_2O et O_2 . Tandis que les glutathion peroxydases éliminent le H_2O_2 par son utilisation dans l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) et requièrent le sélénium dans leur site actif pour cette activité (Aruoma, 1999). La glutathion réductase, qui est une enzyme contenant le FAD, génère GSH à partir de GSSG via le NADPH comme source de pouvoir réducteur (Aruoma, 1999).

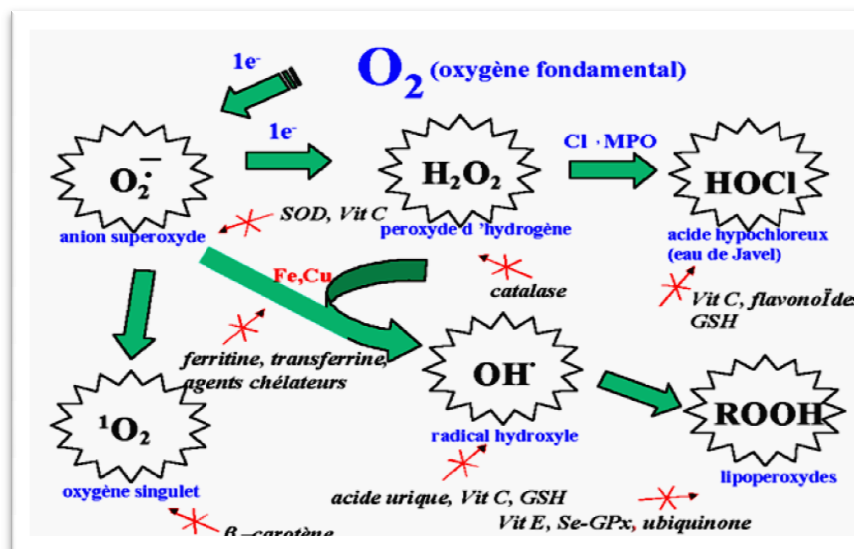


Figure 23 : Espèces réactives oxygénées et systèmes de protection permettant de limiter leur effet toxique. GSH: glutathion, Cl⁻: anion chlorure, MPO: myéloperoxydase, SOD : superoxyde dismutases, Se-GPx: glutathion peroxydase séléno-dépendante (Pincemail *et al.*, 1999).

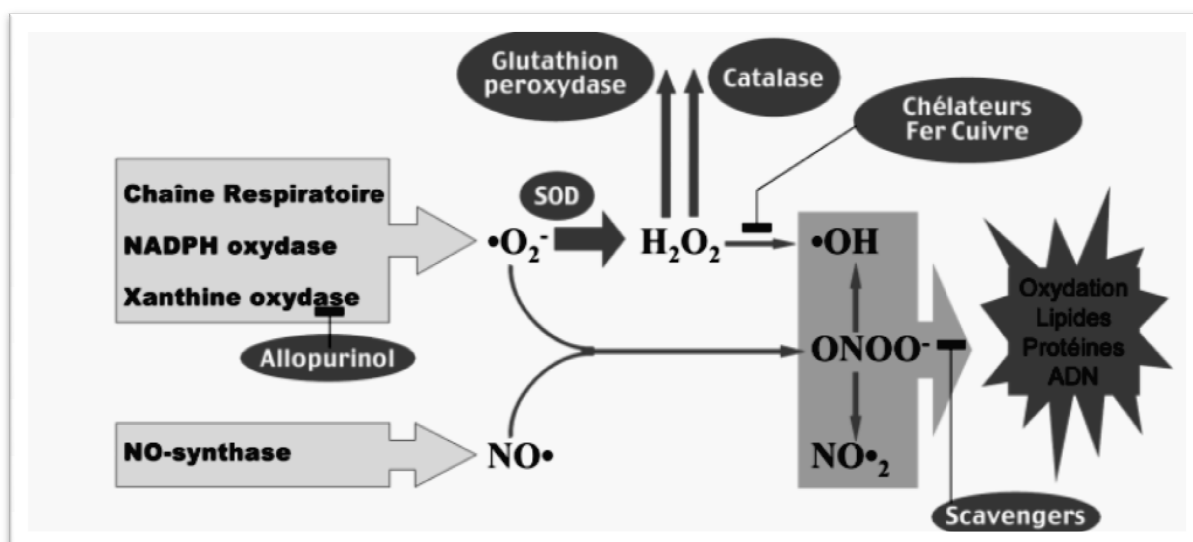
III-7-2- Antioxydants non enzymatiques

La vitamine C (Vit C) empêche l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) produites par divers systèmes générateurs des ROS (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase) (Limbach et Guillard, 2007). La Vit C est hydrosoluble et localisée dans le cytosol et le fluide extracellulaire, elle capte directement l' $O_2^{\bullet-}$ et l' OH^{\bullet} (Comhair et Erzurum, 2002 ; Peng *et al.*, 2014).

Les quatre isomères de tocophérol, α , β , γ et δ , ont une activité antioxydant variable (**Limbach et Guillard, 2007**). Mais la forme la plus active c'est α , elle est liposoluble et se fixe à la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxyde ($\text{LOO}\cdot$). Elle devient à son tour un radical moins actif que le $\text{LOO}\cdot$ et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydant (**Evans, 2000**).

Les caroténoïdes, ce sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. Les caroténoïdes sont capables d'inactiver l' O_2 et les RLs en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (**Tanumihardjo, 2013**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires ont des propriétés antioxydantes, et en



particulier la classe des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydatif : par capture directe des RLs, par chélation de métaux de transition comme le fer ou par inhibition de l'activité de la XO (**Li et al., 2014**).

III-8- Mécanismes de défense contre le stress oxydatif

Les types de radicaux produits ainsi que leur lieu de production et de propagation étant variés, la riposte anti radicalaire et polymorphe, à la fois préventive et curative. Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances,

comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifique, mais aussi de petites molécules hydro-ou liposolubles (Cano et al, 2007).

Figure24 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérives réactifs de l'oxygène (canoet al, 2007).

IV- DISCUSSION

1-Tests Phytochimiques

1-1- Criblage phytochimique

L'analyse phytochimique réalisée sur les extraits des feuilles du *Marrubium vulgare* qui a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, Des réactions de précipitation, un changement de couleur ou un examen sous la lumière ultraviolette. (Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).

Les résultats de criblage sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8 : Résultats des tests préliminaires de l'extrait méthanolique et butanolique des feuilles de *Marrubium vulgare*. (Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).

Les composés	Réaction, réactif	L'extrait méthanolique	L'extrait butanolique
Composés phénoliques	FeCl ₃ (1%)	++	++
Flavonoïdes	Coupeau de Magnésium	++	++
Tannins	FeCl ₃ (1%)	+++	++
Coumarines	NH ₄ OH, UV	+++	++
Alcaloïdes	Mayer	-	--
Saponines	La mousse	+++	++
Tri terpènes	Liebermann-Burchard	++	++
Stéroïdes	Liebermann-Burchard	-	-
Anthraquinones	Mélange E-C	+	+
Anthocyanines	H ₂ SO ₄ (1%)	+	+

(+++): Présence plus forte, (++): présence forte, (+): présence faible, (-): absence

Les résultats obtenus des tests phytochimiques, des extraits de la partie aérienne (Feuilles) du *Marrubium vulgare*, ont révélés la richesse de cette plante en polyphénols, Flavonoïdes et surtout en tanins, en saponines et en coumarines et une petite quantité des Anthraquinones et des anthocyanines.

Par contre, les tests des alcaloïdes et des stéroïdes sont marqués négatif dans les deux Extraits. (Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).

➤ **Teneur en polyphénols et flavonoïdes**

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique au moyen des dosages Spectrophotométrique, avaient pour l'objectif la détermination de la teneur totale de Polyphénols et des flavonoïdes. (Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont mentionnées dans le suivant :

Tableau 9 : Teneurs des polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare*. (Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).

Concentration initiale (mg/ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Teneur en polyphénols (mg EAG/g d'extrait)	31,8±1.10	63,6±2.02	95,4±1.20	127,2±2.11	159,01±2.08
Teneur en flavonoïdes (mg EAG/g d'extrait)	3,46±0.09	6,92±0.09	10,38±0.02	13,84±0.03	17,31±0.03

Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ± SD

On remarque que la teneur en phénols et en flavonoïdes est proportionnelle à la Concentration de l'extrait.

Ces résultats de dosage révèlent que l'extrait brut de l'espèce *Marrubium vulgare* Contient une teneur de l'ordre de 159±2.08mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Et une teneur en flavonoïdes équivalente à 17.35±0.03mg EQC/g d'extrait. Nos valeurs sont proches des résultats de Ghedadba *et al.*, (2014) et assez loin à

Celles de **Djahra (2014)**.

Les résultats décalés résultent vraisemblablement de:

✓ La faible spécificité des réactifs de Folin-Ciocalte et trichlorure d'aluminium est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Les réactifs sont extrêmement sensibles à la réduction de tout les groupes d'hydroxyles non seulement Celles des composés phénoliques (**Prior et al., 2005 ; Chebrouk, 2009**).

✓ Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les Sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation Phénolique (**Djeridane et al., 2006**).

✓ La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le Développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (La température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Falleh et al., 2008**).

➤ La teneur de phénols totaux n'est pas stable, et se diffère d'une plante à une autre et entre les espèces du même genre. Cela dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) (**Falleh et al., 2008 ; Podsdek, 2007**).

2- Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait de la plante a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, dans le but de déterminer les concentrations d'inhibition du radical DPPH. (**Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016)**).

Tableau 10 : Pourcentages de réduction du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique de *Marrubium vulgare*. (**Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016)**).

Concentration initiale (mg/ml)	0,25	0,5	0.75	1	1,5	2
Concentration dans le mélange réactionnel	0.125	0.25	0.375	0.5	0.75	1
% d'inhibition	41.11±0.49	58.03±1.80	65±2.08	75±2.5	85.6±1.9	89.2±1.61

Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures \pm SD Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait sont portés sur la figure ci-dessous.

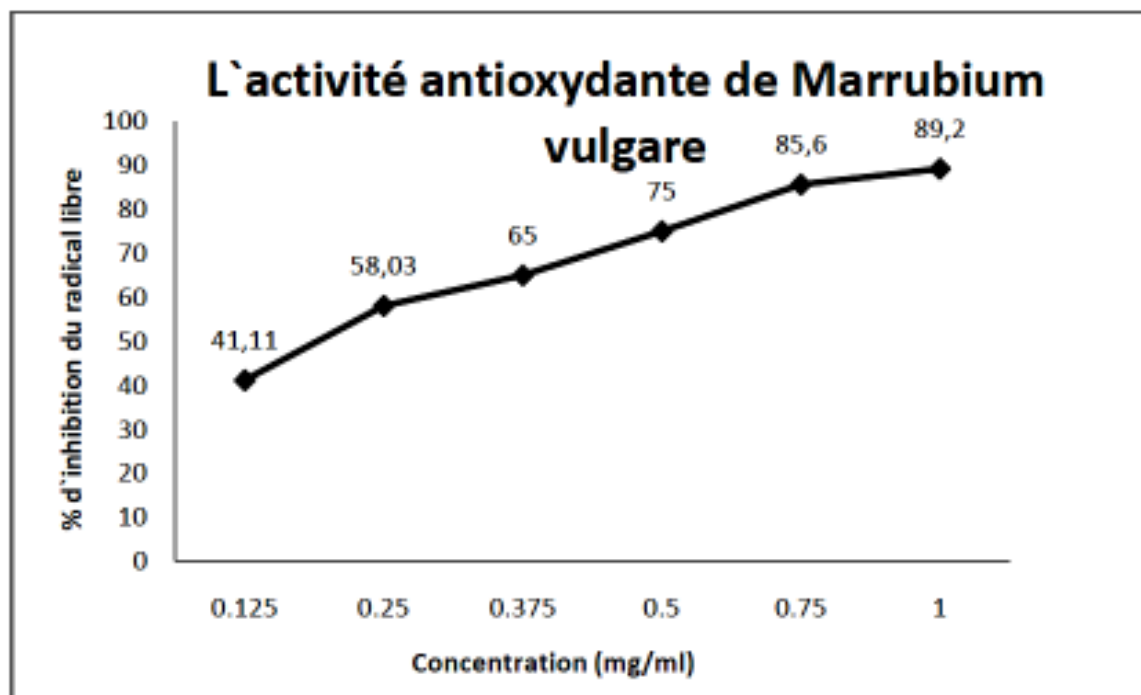


Figure 25 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut méthanolique de *Marrubium vulgare*. (Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).

D'après la figure ci-dessus, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait testé dans le mélange réactionnel. Le taux d'inhibition du DPPH le plus fort est environ 89,2%, obtenu avec la concentration 1mg/ml. Ce pourcentage est inférieur en comparaison avec le pourcentage obtenu par le standard (Quecetine) 95,94% avec la même concentration (1mg/ml) trouvé par Bouzaher (2015).

3- Evaluation de l'IC50

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny et al, 2001). Elle a été calculée par régression linéaire de pourcentage d'inhibition calculé en fonction de différentes concentrations de l'extrait préparé.

Nos résultats indiquent que l'extrait méthanolique présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un IC50 de 0,175 mg/ml. Cette valeur est inférieure à celles trouvés par Boudjelal (2012) et Djahra (2013) obtenus à partir de l'extrait méthanolique des feuilles de *Marrubium vulgare* qui ont montré une activité antioxydante avec une

valeur d'IC50 de l'ordre de 0,49 mg/ml et 0.45mg/ml et supérieure par rapport à celle obtenue avec le standard qui est de l'ordre de 0.01. **Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016).**

CONLUSTION

Conclusion

A l'issue de la présente étude qui contribue à la valorisation des plantes médicinales de notre pays, nos investigations ont porté sur l'activité antioxydant de la plantes *Marrubium Vulgar L.*

Dans le présent travail et d'après les recherches bibliographiques, la plante *Marrubium Vulgar L.*, appartient à la famille des Lamiacées, est l'une des plantes les plus importantes dans la flore algérienne et aussi les plus utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne.

Marrubium Vulgar L., est une plante largement utilisées par les thérapeutes traditionnelles pour traiter des déférent troubles grâce à sont composition en métabolites secondaires.

BIBLIOGRAPHIE

A

- Afanas'ev I.B. (2009).** Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals. *CPC Press*. Pp: 1-71.
- Allen, K.G., D.V.Banthorpe, and B.V.Charlwood.1977.** Metabolic pools associated with monoterpane biosynthesis in higher plants. *Phytochemistry* 16 :79-83.
- Amadou S., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* (Combretaceae), Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat, Univ. De Bamako : 13-20.
- Anders, B (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. University of Toronto. Canada; *Anders*. 13(2):184-196.
- Aouadhi S. (2010).** Mémoire Atlas des risques de la photothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- Aruoma. O. I. (1999).** Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 8 (1) ; p : 53-63.
- Axelson, M., Sjovall, J., Gustafsson, B.E., Setchell, K.D., 1982.** Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. *Nature*, 298, pp 659-660.

B

- B. Harkati (2011).** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : *scorzonera undulata*. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.
- Bandhopadhyay U., Das D. And Banerjee R.K. (1999).** Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*, 77 :658-666.
- Belkheiri. N. (2010).** Dérives phénoliques a activités antiathérogènes. Université de Toulouse. Pp 7-13
- Bellakhdar J., 1997.** Médecine Arabe Ancienne et savoirs populaires la pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibspress. Pp.340-341
- Benarous K., 2009.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: α -amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique, Univ. Amar Telidji-Laghouat.

Benbrinis S (2011).Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER en BIOCHIMIE, THEME : Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus, UNIVERSITE FERHAT Abbas-SETIF.

Bézanger-Beauquesne L, pinkam. Torckm .and Trotin F. 1990. Plantes médicinales des régions tempérées. 2^{ème} Edition Maloine .pp. 280-281.

Bézanger-Beauquesne L., Pinka M .and khalil A. 1986. Les plantes dans la thérapeutique moderne. 2ème Edition Maloine : 280-281.

Blokhina .O., Virolainen .E. Et Fagerstedt .K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany*, **91** ; p :179-194.

Bonfihi,L., Cecarini,V., Amici,M.,Cuccioloni,M., Angeletti,M. ,Keller,J.N., Eleuteri,A.M.(2008). Natural Polyphenols as Proteasome modulators and their role as anti-cancer compounds. FEBS, 275,5512-5526.

Bonnierg., 1909. La végétation de la France, Flore Complète. Tome 09. Ed : Suisse et Belgique. Paris. Pp.25-26.

Boudjelal A. ; Henchiri C. ; Siracusa L. ; Sari M. et Ruberto G., 2012. Compositional analysis and in vivo antidiabetic Activity of Wild Algerian Marrubium vulgare L, infusion. Fitoterapia 83: 286-292.

Boukef M.K., 1986. Médecine Traditionnelle et pharmacopée, les plantes de la médecine Traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris. France. Pp.163-164.

Bouterfas, Karim. Zoheir, Mehdadi. Djamel, Benmansour. Meghit, Boumedién Khaled. Mohamed, Bouterfas. Ali, Latreche. (2014). Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound(*Marrubium vulgare* L.) Leaves. International Journal of Organic Chemistry

Bouziane, N. (2011) .Toxicité comparée des extraits d'Euphorbiaguyoniana Boiss. &Reut. (Euphorbiaceae) et de Peganumharmala L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de Schistocercagregaria. Université Kasdi Marbeh, Ouargla, pp 21-22.

Bouziane Wafa et Gharbi Meriem. (2016). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antipyrétique de la plante médicinale *Marrubium vulgare* L. Mémoire de fin d'étude (Master). université abbés Laghrour -khenchela-.

Brown, S.A. (1963). Biosynthesis of the coumarines IV. The formation of coumarin and herniain in lavender. *Pytochemistry*, 2, pp.137-144.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. En 3^{ème} édition. Lavoisier, éditeur : Techniques et Documentation, Paris. 199–388.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2^{ème} édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, éditeur Technique et Documentation, Paris.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3eme édition : Tec& Doc Lavoisier. Paris. 1120p.

Bruneton,J.(2009).Phytochimie, plantes médicinales. 4eme édition, Lavoisier, Revue et Augmentée.

Bruneton ,J.(1993). Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales, technique et documentation, 2ème édition. Lavoisier. Paris ; p.266-275.

Buchanan, B., Gruissem, W., Jones J. (2000). American Society of Plant Physiologists Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24: Biochemistry& Molecular Biology of plants.

Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R., 2000. American Society of Plant Physiologists, chapitre 24, pp 1250-1318.

C

Cano,N.,Barnourd,D.,Schneider,S.,Vasson,M.p.,Hasselmann,M.,Leverve,X.(2007).Traité de nutrition artificielle de l'adulte .paris : springer-Verlag, 2007.

Carole Minker. (2013).200 plantes qui vous veulent du bien. Franc. Pp. 120-214.

Chebrouk F., 2009. Caractérisations analytique de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante Marrubium deserti de la région de Ghardaïa, Mémoire de magister chimie organique appliquée. Univ. Kasdi Merbah - Ouargla: 60.

Chebrouk f,Hammoudi R, Hadj M-M, Ferfad T-B, 2011. Composition Spécifique de la plante Marrubium desrti de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional et algérien). Algerian journal of arid environnement. Vol. 1, n°2 : 82-87

Chemat,F., Fabiano-Tixier,A.S., Hellal,A.;Boutekedjiret,C.; Fernandez,X. 2012. « Activités chimiques et biologiques des huiles essentielles »,In Chemat, F. And Fernandez ,X.(Eds), La chimie des huiles essentielles Ed.Vuibert, Paris, pp.212-248.

Valenet, J. 1992. Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes. Edition Maloine : 438-439, chimie organique. Université d'Oran. 46 p.

Chu W.L, Lim Y.W, Radhakrishnan A.K and Lim P.E (2010). Protective affect of aqueous extract from Spirulin a platensis against cell death induced by free radicals. *BMC Complement Altern Med*, **10** (53), 2-8.

Collin, S., Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés. Lavoisier.pp. 6, 11.

Comhair S.A.A., Erzurum S.C. (2002).Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal Physiology Lung Cell. Molecular Physiology*, 283; 246-255.

Cuzzocrea S, Zingarelli B, Hake P, Salzman A.L and Zabo C (1998). Anti inflammatory effects of mercapto-ethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrites scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radic Biol Med*, **24**, 450-459.

D

D. Hadji Salem. (2009). Extraction, Identification, Caractérisation des activités biologique de flavonoïde des Nitraria Retusa et synthèse des dérivée acyles de ces molécules par voie enzymatique. These doctorat; 217p.

Dacosta Y., 2003. Les phytonutriments bioactifs. Edition Yves Dacosta-Paris,317p.

Daum-Badouard C. (2006). Les lésions d'acides nucléiques : détection par HPLC-SM/SM dans les milieux biologiques humains et interet comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de doctorat. Grenoble. Universite Joseph-Fourier.

Deina,M., Rosa,A., Casu,V., Cotteiglia,F., Bonsignore,L.(2003). Natural product : their chemistry and biological significance. *Journal of the American oil chemistry society*.80 :65-70.

Dey P.M., Harborne J.B., 1991. Methods in plant biochemistry. Terpenoids. London Academic Press.pp.7.

Dixon R.A and Steele C.L. 1999. Flavonoids and isoflavonoids-a gold mine for metabolic

Djahra A. Boutlelis., (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne. Pp14

Djahra, A. B., Bordjiba, O., Benkherara, S. (2013).Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). *Phytothérapie*, 11,348-352.

Djemoui,D. 2012.Contribution a l'étude de l'activité antioxydant et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Académique, Spécialité : Chimie Appliquée ; 53p.

Djeridane, A.; Yous, M.; Nadjemi B.; Boutassouma D.; Stocker P. et Vidal N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food chem.* 97: 654-660.

Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82; 47-95.

E

Emerenciano, V.P., Barbosa, K.O., Scotti, M.T., Ferrero, M.J.P. (2007). Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tries usine flavonoïde data. *Journal of brazilian chemical society*, 18, 891-899.

Erdman, J., Balentine, J.D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Foits, J., Harnly. (2005).Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, Washington. *Journal of Nutrition*, 137, 718 -737.

Evans W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72; 647-652.

F

Falleh H.; Ksouri R.; Chaieb K.; Bouraoui N.; Trabelsi N.; Boulaaba M. et Abdelly C., (2008) Phenolic composition of *Cynara caradunculus* L. organs, and their biological Activities, *C. R. Biologies.* 331: 372-379.

Favier A (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes poses par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 55, 9-16.

Favier A. (2003).Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, pp, 108-115.

Merghem R. (2009). Livre des éléments de biochimie végétale. Oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 2003, pp.108-115.

Finaud J, Lac G, Filaire E (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports Med*, **36** (4), 327-358.

Fouché J., Marquet A. Et Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales de la plante au médicament, Observation du monde des plantes.

G

G.S. Çitoğlu, F. Aksit. 2002. Occurrence of marrubin and ladanein in *Marrubium trachyticum* Boiss. From Turkey. *Biochem Syst Ecol.* (30) : 85-886.

Garai S. (2014). Triterpénoïde Saponins. *Natural Products Chemistry & Research*, **148** (2) :5-6-7.8-9-10.

Gazengel J.M., Orecchioni A.M, 2013. Le préparateur en Pharmacie. 2^{ème} édition. Ed. Lavoisier, Paris.

George S. Clark.1995. Coumarin, *Parfumer & Flavorist*, **20**,23-34.

Ghestem A., Seguin E., Paris M and Orecchioni A.M (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC & DOC. Paris .pp 275. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

Goto S, Radak Z (2013). Implication of oxidative damage to proteins and DNA in aging and its intervention by caloric restriction and exercise. *J sport health Sci*, **2**, 75-80.

Govindarajan R., Vijayakumar M. And Pushpangadan P. (2005). Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana' herbs of Ayurveda *Journal of Ethnopharmacology* ,**99** :165-178.

Grace K, Pereira Paulo, M Donate, Sergio E, Galembeck. 1996. Electronic structure of **Grotewold E. 2006.** The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu Rev Plant Biol. Review. Pub Med PMID:166697.* **57**:761-80.

Guertin B. 2003. Factsheet for : *Marrubium vulgare* .Avizona.p : 13.

Guignard, J.L.1998. Abrégé de botanique.Masson (Ed. Paris; 212p.

Gutowski M. And Kowalczyk S. (2013). A study of free radical chemistry: their role and pathophysiologicals ignificance. *ACTA biochimic apolonica*, 60(1); 1-16.Hall. London.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C., 2008; Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press.

Harborne J, Williams C. 2000. Advances in flavonoidresearchsince 1992, *Phytochemistry*. 55: 481-504

Harborne, J.B. (1988). The flavonoid, *Advances in researchsince 1980*. Chapman &

Heller, R., Esnault, R., Lance, C. (2001). *Physiologie végétale. Nutrition*. 6 ème édition: 281-83

Hollman, P.C.H., Arts I.C.W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols - nature, 1093. 308.

Hong J.R, Lin G.H, Lin C.G, Wang W.P, Lee C.C, Lin T.L, Wu J.L. (2002). Phosphatidylserine receptoris required for the engulfment of dead apoptotic cells and for normal embryonic development in zebrafish. *Development*, **131(21)**, 5417-5427.

[Http://fr.wikipedia.org/wiki/coumarine#cite-note-clark-5](http://fr.wikipedia.org/wiki/coumarine#cite-note-clark-5)

I

Iranshahi, M., Askari ,M., Sahebkar ,A. And Adjipavlou-Litina, D. (2009) Evaluation of antioxidant , anti-inflammatory and li oxygénase inhibitory activities of the prenylated Coumarinum-belliprenin . *DARUJ. Pharm-sci.*, 17,99-103.

Iserin P.2001. *Encyclopédie des plantes médecine indentification, préparation, soins*. ISSN2170-1318.

Iserin, p., (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*, Larousse VUEF, 2ème Ed. 14. Paris. 131-335 p.

J

J.Harborne (1980). *Advances in Flavonoid Research since 1992*, *Phytochemistry*55: 481-504.

Jaime A, Yanez, Preston K. Andrews, Neal M, Davies B. 2007. *Methods of analysis and separation of chiral flavonoids*, *Journal of Chromatography*.848 :p159-181.

Juud W.S., Campell C.S., Kellog E.A., Steven P., 2002. *Botanique systématique : une perspective phylogénétique* 1ere Ed : paris et Bruxelles .pp.369-384.

K

Kardeh S, Ashkani-Esfahani S, Alizadeh A M. (2014). Paradoxical action of reactive oxygenspecies in creation and therapy of cancer. *Eur J Pharmacol*, **735**, 150- 168.

Kasmi,N.(2014). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti oxydante et anti inflammatoire d'extrait méthanolique de deux plantes médicinales *Rutamontana (Clus.L).*et *Thymus algériensis Boiss.* Thèse de master, Sciences de la Nature et de la Vie. Khenchela.

Koffas M.A.G. 2009. Biosynthesis and biotechnological production of flavanones: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **83**: 799–808.

Koyama K., Kaya M., Ishigaki T., Tsujita J., Hori S., Seino T. And Kasugai A. (1999). Role Of xanthine oxidase in delayed lipid peroxidation in rat liver induced by acute exhausting exercise. *Eur. J. Appl. Physiol*, **80**, 28.

Khanbabae K and Ree T.R (2001).Tannins : classification and Defenition. *Journal of Royal Society of chemistry*. **18** :641_649. (Cited in Djemai Zoueglache s, 2008).

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Muséum National d'Histoire Naturelle. Thèse de doctorat.

L

Lacy A, o'kennedy R.2004. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therpeuticrole in the tereatment of cancer. *Pub Med*.**10(30)** : 3797-3811.

Ladhem H. (2016).Contribution à l'étude de l'effet antibactérien et antioxydant de l'extrait aqueux de *Tetraclinisarticulata* (Thuya de Berbérie). Mémoire de Master, option sciences des aliments. Universite de Tlemcen, Algérie. **1**. 22.52 p.

Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M. and Li H.B. (2014).Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, **6**; 6020-6047.

Limbach S. And Guillard J.C. (2007). Vitamines. *Dans: Traité de nutrition artificielle de l'adulte. 2eme éd, France, Springer- Verlag*, pp; 127-143.

Linus P.,2014 :general chemistry. Edition Google Play.France,748p.

Lobstein ,A.,2010.Substances naturelles et pharmacogonsie,les alcaloides,pp16-17.

Loomis, D., and Croteau. 1980. Biochemistry of terpenoids : A comprehensive Treatise. In :P.K. Stumpf and E. E.Conn(eds). The biochemistry of plant. Lipids : Structure and Function No.4.p364-410.Academic Press, San Francisco.

Lucienne A, 2003 .Les plantes médicinales d'Algérie : BERTI Editions, Alger, 164p.

Lücker, J., Harro, J.B., and Aharoni,A.,(2007).chapiter 9 : metabolique engineering of terpanoid biosynthesis in plants In Verporte ,R., Alfermann, A.W., and Johnson,T.S. application of plant metabolic engineering.springer,p219-220.

Luigia Longo, Giuseppe vandasapollo. 2006. Extraction and identification of anthocyanins from *smilaxasperal*. Berries, Food Chemistry.; p226–231.

M

M.H. Masoodi, B. Ahmed, I.M Zargar, S.A. Khan, S. Khan, P. Singh. 2008. Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. African J Biotechnol. (7) : 86-87.

Maamri S. (2008). « Etude de *Pistaciaatlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais anti liés hmaniens », Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister (Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes), 2008.

Maleev, I., Kuntié, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbianchemical society*, 72, 921-939.

Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51, 304-315.

Mayank T., matthaisf ., Hendrik F., and Alexander W. (2011). Chemistry and pharmacology of Saponins : special focus on cytotoxic properties Botanic stargets and therapy.112(4) :21-22-24-25.

Medic-sariem, jaspricai, Smolcic bubaloo, and momara. 2003. Optimisation of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *Croatica chemica acta*. (Cited in Mohammedi Z, 2005). 77(1-2) :361-6.

Melecky M.2008. Métabolisme des Terpenoides Chez les Caprins. Thèse doctorat l'institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement(Agro paristech). 207p.

Merghem R. (2009). Livre des éléments de biochimie végétale.

Merzoug B. (2009). Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la famille apiaceae : *carum montanum* Coss. Constantine : faculté des sciences exactes Département de chimie.

Meyre-Silva C ; Yues R. A ; Schlemper V ; Campos-Buzzi F. And Cehinel-Filho V. 2005. Analgesic potential of marrub in derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). *Il Farmaco*, 60 : 321-326 .

Middleton, E. Et al., (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart, disease, and cancer. *Pharmacological review*. 52 (4): 673-751.

Migdal C., Serres M., 2011; Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant, médecine/sciences, 27: 405-12.

Miller, K.G., Poole, C.F. and Pawlowski, T.M.P. (1996). Classification of the botanical origin of cinnamon by solid-phase micro extraction and gas chromatography. *Chromatographia*, 42,639-646.

Mohemmedi Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen », Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister (Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen), 2006.

Moussard, C., (2006). Biochimie structurale et métabolique, 3^{ème} édition, p154.

Murphy M.P., 2009; how mitochondria produce active oxygen species. *Biochemistry Journal*. 417: 1-13.

Mustafa Varoglu, Leif Abrell, Phillip Crews, Emil Lobkovsky, Jon Clardy. (1994) : chlorolins A.C, Chlorinated Sesquiterpenes produced by Fungal Cultures Separated from a Jaspis Marine Sponge, *J.Org. Chem.*, p.6344-6348.

N

N. BOUKRI. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout ; thèse de Master ; Université Kasdi Merbah Ouargla. 99p.

Nathalie.C. (2014). Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition chimique. Université de Reims Champagne-Ardenne, pp 11-16

O

Ortiz G.G., Pacheco-Moisés F.P., Bitzer-Quintero O.K., Ramírez-Anguiano A.C., Flores-Alvarado L.J., Ramírez-Ramírez V., Macias-Islas M.A. and Torres-Sánchez E.D. (2013). Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013; 1-14.

P

Pandit,J., Aqil,M., and Sultana,Y., (2015). Terpenes and essential oils as skin penetration enhancers. Dragicevic,N., Maibach,H.I., percutaneous penetration enhancers chemical methods in penetration enhancement modification of the stratum corneum. Springer, p174-183.

Paris M. Et Hurabielle M. (1981). Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome .Ed. Masson p.339.

Parsaeimehr,ali. Elmira,sargsyan. (2011). ANUSH, Vardanyan. Expression of secondary metabolites in plants and their useful perspective in animal health. *Abah Bioflux*, 3(2)115-124.

Peng C., Wang X., Chen J., Jiao R., Wang L., Li Y.M., Zuo Y., Liu Y., Lei L., Ma K.Y., Huang Y. And Chen Z.Y. (2014). Antioxidants Biology of ageing and role of dietary. *Bio Med Research International*, ID 831841; 1-13.

Pierre Boiteau, B.Pasich et Albert Rakoto Ratsimamanga. (1964) : Les Triterpenoides en physiologie Végétale et animale, Paris, Edition Gauthier-Villars.

Paris R.R., Moyse H., 1976. Matière Médicale. Tome I. 2ème Ed : Masson, Paris.406 P.

Pierre, jost jean. Yan-chimjosef. (2016). Stratégie de défense des plantes contre les maladies et les parasites et quelques applications pratiques. *Connaissances et savoirs*. P 54

Pincemail J, Meurisse M, Limet R et Defraigne J O (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu une réalité pour le médecin Vaisseaux Coeur, Poumons,4(5).

Pincemail. J., Meurisse. M., Imet. R. L. Et Defraigne .J. O. (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, coeur, poumons*. 4 (4).

Pisoschi A.M, Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*, 97, 55-74.

Podsedek, A. (2007) Natural antioxydant capacity of Brassica vegetables : A review. LWT. 40:1-11.

Pokorny J., Yanishlieva N. et Gordon M. (2001). Entioxydants in food, practical applications. Woodhead publishing limited. ISBN 1 85573 463 X

Pr. Augustin, S. (1999) Alimentation et vieillissement. Colloque Clermont-Ferrand.

Prior R.I., WU X.L. Schaich K. (2005). Standardisez methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J. Agric. Food Chem., 53 (10): 4290-4302.

Pr. Augustin, S. (1999) Alimentation et vieillissement. Colloque Clermont-Ferrand.

Pukalskas A. 2008. Isolation, identification and activity of Natural antioxidant from sweet grass (Hierochloeodorata), costmary (chrysanthemumbalsamita) and horehound (Marrubium vulgare), cultivated in lithuani. Th Doctorat ; université de wageningen p : 137.

Q

Quezel P., Santa, S., 1963. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed : CNRS. Paris.360-361 P.

Qusti S.Y., Abo-khatwa A.N. and Bin Lahwa M.A. (2010). Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the hollyquran. *European Journal of Biological Sciences*, 2(1); 40-51.

R

R. Jarrige, Y. Ruckedusch, C. Demarquilly, M-H. Farce, M. Journet, 1995, Nutrition des ruminants domestique : ingestion et digestion, mieux comprendre, Inra, paris, 922p.

Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S. And Dhama K. (2014). Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *Bio Med Research International*, V2014 ; 1-14.

Raven, H., Evert, R.F., Eichhon, S.E. (2000). Biologie végétale. 6ème .traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université- Paris. Pp.944.

Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y., 2012; Reactive oxygen species (ROS) homeo stasis and redox regulation in cellular signalingcell Signal. 24, 981–990.

S

S. Derouazi, K. Chaoui. (2013). Etude phytoscreening chimique et activité biologique de l'espèce végétale *Aristolochialonga L.* (Aristolochiaceae), Université de Ziane Achour Djelfa; p 121.

S. SIDHARAN et al.,2011. Extraction isolation and characterisation of bioactive compounds from plants extracts Afr J Tradit Complement Altem Med (2011) ; 8(1) :1-10.

S.D. ZOUGHLACHE. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit *Zizyphus lotus L* ; thèse de Magister ; université El hadj lakhder Batna; 91p.

S.S.Bahekar, D.B.Shinde. Tetrahedron. Lett, 3004, 45,7999-8001.

S.Sudha, K. Venkatachalam, S.V.Priya, J.H.Mabel, M.Palanichamy, Murugesan.Mol.Catal.A : chem 2008, 291,22-29.

Saffidine Karima.2015. Etude analytique et biologique des Flavonoïdes extraits de *Carthamus Caeruleus L.* Et de *plantago major L.* These doctorat, University Ferhat Abbas –SETIF. 92P.

Salido M. And Rosado J.A. (2009). Apoptosis: involvement of oxidative stress and intracellular Ca^{2+} homeostasis. *Springer Science and Business Media*, pp: 1-17.

Sango R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53 scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem, 85: 231–237.

Sarangarajan R., Meera S., Rukkumani R., Sankar P., Anuradha G., 2017; Antioxidants: Friend or Foe?, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.

Schouenbergp. 2005. Plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes : Edition Beta : 282-283.

T

T.S.Li, Z. Zhang, F. Xang, C.FU.J.Chem.Research(S), 1998, 38-39.

Tanumihardjo S.A. (2013) Carotenoids and Human Health. *Human a Press, Springer. USA.*

Tapiero H, tewk.D, nguyeb.G and Mathé G.2002. Polyphenol do theyplay a role in the prevention, of the human pathologies ? *Biomed.pharmacother* ; 56 :200-07

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. And Polissiou M. (2005).Antimicrobial and antioxidantactivities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosamiller* (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90; 333-340.

V

V.Singh, J.Singh, K.P.Kaur, G.L.Kad.J. Chem. Research, 1997,58-59.

V.Singh, S.Kaur, V.Sapehiya, J.Singh, G.L.Kad.catalys. Commun, 2005, 6,57-60.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. (2009). Free radicals enhancemetals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 160(1),1-40.

Van Tunen A.J., Mur L.A., Brouns G.S., Rientra J.D., Koes R.E. and Mol J.N.M. 1990.Pollen and specific CHI promoters from Petunia: Tandem promote regulator of the CHI A gene. *Plant Cell*, 2: 393–401.

Venugopala, K-N., Rashmi, V. And Odhav, B. (2013). Review on Natural coumarin lead coumpounds for their pharmacologica lactivity. *Biomedres. Int.*, 2013, 963 248.

Vermerius, W., Nicholson, R., (2006). Phenolic Compound Biochemistry. *Springer, Dordrecht. ISBN*,101, 4020-5163.

Vogt T. 2009. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, 3: 2–20.

W

W. Bouzid. (2009). Étude de l'activité biologique des extraits du fruit de *crataegus monogynajacq*. Thèse de magister en biologie ; université-el hadj lakhder-Batna(2009) ; 88p.

Y

Yan L.J. (2014). Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerances. *Redox Biology*, 2; 165-169.

Yang. R. Y., Lin S. Et Kuo .G. 2008. Content and distribution of flavonoids among 91 edibles 91 plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition*. 17 (S1) ; p: 275-279.

Yeza S.et Bouchama S., 2014, index des métabolites secondaires végétal aux, projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de licence, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 47p.

Z

Zarrouki N. (2009). Contribution à l'étude phytochimique de la plante *Tetraclinis Articulata*, activité biologique et biochimique de la plante. Mémoire de magister en Chimie organique. Université d'Oran. 46 p.

Ziech D., Franco R., Georgakilas A.G., Georgakila S., Malamou-Mitsi V., Schoneveld O., Pappa A. And Panayiotidis M.I. (2010). The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental and carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-Biological Interactions*, 188; 334-339.