



khenchela

Faculté des sciences et science de la nature et de vie

Département de biologie

## Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de

## Master

En biochimie appliqué

Présenté par :

Mme Kasmi Nourelhouda et Mme Saàdaoui Samira

## Thème

Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti oxydante et  
anti inflammatoire d'extrait méthanolique de  
deux plantes médicinales

*Rutamontana* (Clus.) L. (الفيجل)

et *Thymus algériensis* Boiss. et Rout. (أمزوشن)

Devant le jury :

Président

Mr ZERAIB A

MAA. Univ. Khenchela

Rapporteur

Melle KARA ALI W

MAA. Univ. Khenchela

Examinatrice

Mme RECHID R

MAA. Univ. Khenchela

Année universitaire : 2013/2014

<b>III. Les plantes médicinales.....</b>	<b>12</b>
III.1. La plante médicinale <i>Ruta montana</i> .....	12
III.1.1. Description de la plante.....	12
III.1.2. Place dans la systématique.....	14
III.1.3. Répartition géographique.....	14
III.1.4. Utilisation en médecine traditionnelle.....	14
III.1.5. Composition biochimique.....	15
III.2. La plante médicinale <i>Thymus algeriensis</i> .....	15
III.2.1. Description de la plante .....	15
III.2.2. Place dans la systématique.....	17
III.2.3. Répartition géographique.....	17
III.2.4. Utilisation en médecine traditionnelle.....	17
<b>IV. Stress oxydant, radicaux libres et antioxydant .....</b>	<b>18</b>
IV.1. les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène .....	18
IV.1. 1. la formation des ERO .....	19
IV.1. 2. Les sources des ERO .....	20
IV.1. 2.1. Les sources endogènes .....	21
IV.1. 2.2. Les sources exogènes .....	22
IV.1.3. Le rôle physiologique des ERO .....	22
IV.1.4. Principales cibles des ERO.. .....	22
IV.1.4.1. Les lipides .....	23
IV.1.4.2. Oxydation des protéines .....	23
IV.1.4.3. Oxydation d'ADN .....	23
IV. 2. les maladies liées au stress oxydant.....	24
IV. 3. Les antioxydants.....	24
IV.3.1. Définition.....	24
IV.3.2. Les antioxydants enzymatiques.....	24
IV.3.2.1. La catalase (CAT).....	24
IV.3.2.2. La superoxyde dismutase (SOD).....	24

IV.3.2.3. La glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR) .....	25
IV.3.3. Les antioxydants non enzymatiques.....	25
IV.3.4. Les antioxydants d'origine végétale.....	25
IV.3. 4.1. La vitamine E.....	25
IV.3.4.2. La vitamine C.....	26
IV. 3.4.3. Antioxydants phénoliques.....	26
<b>V. L'inflammation</b> .....	27
V.1. Inflammation aigue.....	27
V.1.1. Phase vasculaire -Phase d'initiation-.....	28
V.1.2. Phase cellulaire -phase d'amplification- .....	28
V.1.3. Phase de résolution (nettoyage) .....	28
V.2. Inflammation chronique .....	29
V.2.1. La phase vasculaire .....	29
V.2.2. La phase de destruction et de réparation .....	29
V.3. Les médiateurs de l'inflammation .....	30
V.3.1. Les médiateurs solubles de l'inflammation .....	30
V.3.2. Les médiateurs cellulaires de l'inflammation .....	31
V.4. Pathologies inflammatoires .....	31
V.4.1. La polyarthrite rhumatoïde .....	31
V.4.2. L'insuffisance rénale terminale .....	32
V.4.3. La fibrose rétropéritonéale (FRP) .....	32
V.5. Les anti-inflammatoires .....	32
V.5.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiennes (AINS) .....	32
V.5.2. Les anti-inflammatoire stéroïdiennes (AIS) .....	33
<b>Chapitre II. Matériel et Méthodes</b> .....	34
<b>I. Matériel</b> .....	34

I.1. Matériel biologique (Echantillonnage) .....	34
I.1.1. Matériel végétal.....	34
I.2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	34
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>35</b>
II.1. Préparation des extraits végétaux.....	35
II.2. Screening phytochimique .....	35
II.2.1. Mise en évidence des tanins.....	35
II.2.2. Mise en évidence des saponosides.....	35
II.2.3. Mise en évidence des flavonoïdes.....	35
II.2.4. Mise en évidence des composés réducteurs.....	35
II.2.4.1. Mise en évidence des coumarines.....	36
II.2. 5. Mise en évidence des alcaloïdes.....	36
II.3. Dosage des flavonoïdes .....	36
II.4. Chromatographie sur couche mince.....	36
II.4.1. Protocole de CCM sur gel de silice.....	37
II.4.2. Calcul du Rapport frontal.....	37
II.5. Activité anti-oxydante <i>in vitro</i> - Effet scavenger du radical DPPH-.....	37
II.6. Activité anti-inflammatoire <i>in VITRO</i> .....	38
II.7. L'analyse statistique.....	38
<b>Chapitre III. Résultats et Discussion .....</b>	<b>39</b>
I. Le rendement des extraits.....	39
II. Tests de mise en évidence de certains composés Phytochimiques .....	40
III. Dosage des flavonoïdes.....	41
• IV. Résultat de la chromatographie sur couche mince des fractions issues d'extrait brut méthanolique.....	42
IV.1. Composés identifiés dans l'extrait méthanolique de <i>R. montana</i> .....	43
IV.2. Composés identifiés dans l'extrait méthanolique de <i>T. algeriensis</i> ....	44

V. Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits méthanolique de <i>R. montana</i> et <i>T. algeriensis</i> par la méthode de DPPH° (effet scavenger).....	45
VI. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode d'inhibition de La dénaturation des protéines.....	47
<b>Conclusion et perspective.....</b>	<b>49</b>
<b>Résumés</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	

**Thème: Activités antioxydante et anti-inflammatoire d'extrait méthanolique de « *Ruta montana* (Clus.) L. » et « *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. ».**

## Résumé

Les activités anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de deux plantes médicinales *R. montana* et *T. algeriensis* ont été étudiées *in vitro*. Le screening phytochimique sur l'extrait méthanolique de *R. montana* et *T. algeriensis* a montré que ces deux plantes contiennent: des Flavonoïdes, des Saponosides et des Tanins.

L'étude quantitative des deux extraits méthanoliques a révélé que l'extrait de *T. algeriensis* a fourni un taux d'environ  $23.7 \pm 1.9$  mg g d'extrait en équivalent de quercetine plus élevé que celui obtenu à partir de *R. montana*, qui est de  $22.94 \pm 1.11$  mg EQ/ g d'extrait.

Qualitativement, l'analyse effectuée par CCM des extraits a montré la présence d'une multitude de variété de ces composés. L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a montré que les concentrations qui piègent 50 % du radical DPPH (IC50) est de  $0.18 \pm 0.005$  mg/ml et  $0.025 \pm 0.002$  mg/ml respectivement pour l'EMRM et l'EMTA.

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des extraits par l'évaluation de pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines permet de conclure que les deux extraits étudiés inhibent la dénaturation de Bovine sérum albumine à la concentration de 250 µg/ml ( $84.76 \pm 0.55$  % et  $59.63 \pm 0.85$  %) respectivement pour l'EMRM et l'EMTA. On constate que l'EMRM était plus efficace que l'EMTA avec une différence de 25.13%.

Au bout de cette étude, nous retiendrons que les extraits méthanolique de *R. montana* et *T. algeriensis* exercent un effet antioxydant et anti-inflammatoire. Donc, ces deux plantes peut être une source prometteuse de nouvelles substances antioxydants et anti-inflammatoire.

**Mots clés:** activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, chromatographie sur couche mince, DPPH, flavonoïdes, *Ruta montana*, *Thymus algeriensis*.