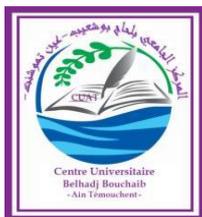

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE CENTRE UNIVERSITAIRE BELHADJ BOUCHAIB D'AÏN-
TEMOUCHENT



Institut des Sciences
Département de Sciences de la Matière
Filière : Chimie
Mémoire
Pour l'Obtention du Diplôme de Master
Spécialité Chimie Macromoléculaire
Thème :

**Contribution A L'étude Chimique Et Biologique D'une Plante Médicinale
Acanthus mollis d'Algérie(Nadrouma, Tlemcen)**

Présenté par :

Mr. HADJINE Ilyes
Mme. KADRI Hayet

Soutenu le **08/09/2020**

Devant le jury composé de :

Présidente : **Mme BACHIR Cherifa** (Professeur) C.U.B.B.A.

Examinatrice : **Mme CHAKER Hanene** (M.C.B) C.U.B.B.A.

Encadrant: **Mme FEKIH Nadia** (M.C.B) C.U.B.B.A.

Remerciements

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

Au terme de travail adressons tout d'abord nos sincères remerciements à :

Mme Fekih Nadia Maître de Conférences au Centre Universitaire d'Ain Témouchent, pour ses précieux conseils et son soutien à tous les instants. Sa gentillesse, ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Ses critiques et sa compétence ont été un solide appui et un réconfort.

Mme Bchir Cherifa Professeur au Centre Universitaire d'Ain Témouchent Belhadj Bouchaieb ; pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité qui m'a fait honneur de présider le jury de mon travail.

Mme Chaker Hanane Maître de Conférences au Centre Universitaire d'Ain Témouchent Belhadj Bouchaieb ; pour avoir bien voulu faire partie de ce honorable jury, trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur le Professeur **GHALEM Saïd.**, directeur de Laboratoire des Substances Naturelles & Bioactives (LASNABIO) ainsi Monsieur le Professeur **ALLALAI Hocine** qui m'ont accueillie et donné l'accès au laboratoire pour réaliser ce travail.

Ainsi à toutes les personnes qui ont contribué pour nous transmettre le savoir scientifique durant toute la durée de nos études universitaires.

Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère **Yamina** et mon père **Mohamed** pour leur sacrifices et leur soutiens tout au long de mes études*

❖ *À ma chère épouse: **Manal**, qui m'a soutenu pour terminer ce travail*

❖ *À mes sœurs: **Aicha, Sarra***

❖ *À mes nièces: **Islam, Douaa, Iyad***

❖ *À mon frère et à sa femme: **Amin, Sofia***

❖ *À mes neveux: **Manal, Adem, Ishaq***

❖ *À mes amis que j'ai vécu avec ils des beaux moments au cours de mon cursus à l'université et dans mon carrière au tant que infirmier au niveau de l'hôpital de temouchent: **Loheir, Laki, Salim, Saïd, Hayat, Mohamed, Toufik, Chaimaa***

Ilyes

Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère Safia et mon père Aissa pour leur sacrifices et leurs soutiens tout au long de mes études

❖ *A mon cher marie : Brahim*

❖ *A mon fils : Amir Mohamed*

❖ *A ma sœur : Fatima Zahra*

❖ *A mes freres : Youcef, Omar*

❖ *A mes amis que j'ai vécu avec eux des beaux moments au cours de mon cursus a l'université : Ilyes, Rania, Sihem, Walid, Chaiemaa*

Fhayat

Liste des Figures

Figure 01: Structure de l'unité isoprénique	6
Figure 02: Structure de deux composés terpéniques	6
Figure 03: Structures de quelques monoterpènes	6
Figure 04: Structures de quelques sesquiterpènes	7
Figure 05: Structures des diterpènes	8
Figure 06: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)	12
Figure 07 : <i>Acnthus mollis</i>	15
Figure 08 : Montage à reflux	19
Figure 09 : Préparation des extraits	20
Figure 10 : Extraction de l'huile essentielle de la plante <i>Acanthus Mollis</i>	28
Figure 11 : Courbe étalonnage acide gallique	30
Figure12: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits	33
Figure 13: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique	34

Liste des tableaux

Tableau 01 : Evolution des rendements de la plantes sèche en fonction de la nature du solvant	21
Tableau 02 : Résultats des tests phytochimique de l'extrait par dichlorométhane	14
Tableau 03 : Résultats des tests phytochimique de l'extrait par éthanol	15
Tableau 04 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait aqueux	16
Tableau 05 : Evolution des rendements d'huile essentielle la plantes sèche	28

Liste des histogrammes

Histogramme 01 : Rendements des différents extraits.	21
Histogramme 02 : Taux des polyphenols dans les extraits.	31
Histogramme03 : IC50 des trois extraits,huile essentielle de la plante <i>Acanthus Mollis</i> et de la vitamine C.	34

Liste des unités

g: Gramme

L: Litre

nm: Nanomètre

mg: Milligramme

kg: Kilogramme

ml: Millilitre

µl: Microlitre

%: Pourcentage

°C: Degré Celsius

Liste des abréviations

AM : *Acanthus Mollis*

DPPH: 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle

FRAP: ferric reducing-antioxidant power

UV.VIS: Spectrophotomètre

IC50: Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH.

HEs: Huile Essentielle

Rdt : Rendement

Ag : Acide gallique

Ms : Masse de la matière sèche

EB : Extrait Brute

AC : Absorbance du Control

AT : Absorbance du Test effectué

CPG: Chromatographie en phase gazeuse.

CPG/SM: chromatographie en phase gazeuse/spectrophotomètre en masse.

Ir: Indice de rétention.

E. Aq. (A.M) : Extrait aqueux d'*A.Mollis*

E. Et. (A.M) : Extrait d'éthanol d'*A.Mollis*

E. DM. (A.M) : Extrait de dichlorométhane d'*A.Mollis*

A.A Acide ascorbique *Acanthus mollis*

HgCl₂: Dichlorure de mercure

KI: Iodure de potassium

I₂: Diiode

NaOH: Hydroxyde de sodium

NH₄OH: Ammoniaque

Sommaire

Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Liste des histogrammes	
Liste des unités	
Liste des abréviations	
Introduction Générale.....	1

Première partie: Synthèse bibliographique

Chapitre 01

Les Plantes Médicinales Et Leurs Vertus Thérapeutique

I. Les plantes médicinales	3
I.1. Définition	3
I.2. Définition des métabolites secondaire chez les plantes	3
I.3. Classification des métabolites secondaires	3
I.3.1. Les composés phénoliques.....	4
I.3.2. Les alcaloïdes.....	4
I.3.3. les terpénoïdes.....	4
II. Les Huiles Essentielles	4
II.1. Les terpènes	5
II.2.1. Définition des terpènes	5
II.2.2. Historique sur les terpènes.....	6
II.3. Les différentes classes des terpènes.....	6
II.3.1. Monoterpène	6
II.3.2. Sesquiterpènes	7
II.3.3. Diterpènes	8
III. Méthodes d'extractions	8
IV.1. Activité Biologique	9
V.1. Activité Antioxydantes	9
V.2. Radicaux Libre	10
V.4. Méthode d'évaluation de l'activité des antioxydants	12
V.4.1. Définition de test DPPH	12

V.4.2. Définition de test FRAP (ferric reducing-antioxidant power).....	12
V.4.3. Définition de test TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)	13
V.4.4. Définition de test PFRAP (ferricyanure réducteur de potassium).....	13

Chapitre 02

Etude Botanique d'*Acanthus Mollis*

I.Description botanique	15
II.Culture	16
III. Bienfaits de l'acanthé molle sur la santé.....	16
IV.Comment utiliser l'acanthé molle	16

Chapitre 03

Partie Expérimental & Résultats Et Discussion

I-Matériel végétal	18
II-Préparations des extraits	18
II -1- Extraction avec des solvants à polarité croissante par chauffage à reflux	18
II-1-1-Description du montage à reflux	18
II.1.2.Principe	18
II.1.3. Mode opératoire pour préparer les extraits	19
II.2 Calcul des rendements	20
II.3 Résultats et Discussion	21
III. Etude phytochimique :	22
IV. Extraction des l'huiles essentielles	27
IV.1.Principe et protocole	27
V. Dosage des polyphénol	29
V.1. Principe	29
V.2. protocole	29
VI. Evaluation de l'activité antioxydant	32
VI.1. Test au DPPH	32
VI.1.1. Principe	30
VI.1.2. Protocole	30
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	37
Résumé	

Introduction Générale

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter les maladies [1]. L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ **65-80 %** de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne

Les plantes médicinales restent encore le réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments [2].

L'efficacité des plantes médicinales est due à cause de métabolites secondaires ou des principes actifs comme les composés phénoliques, les alcaloïdes et les huiles essentielles ... [3]. Ces principes actifs peuvent subir des hydrolyses (exemple : hétérosides, alcaloïdes, esters), des oxydations et (ou) des polymérisations (tanins, composé terpénique des huiles essentielles), aboutissant à une perte de l'activité de la drogue [4].

L'Algérie possède une flore abondante, riche et variée dans laquelle il a été dénombré de nombreuses espèces aromatiques.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore Algérienne, le choix de la plante s'est porté sur *Acanthus mollis*, une plante qui pousse à l'état spontané. C'est une plante de la famille Acanthacées, appelée aussi acanthe molle, ou acanthe à feuilles larges, ses feuilles servaient de motif architectural. C'est une espèce très fréquente sur le pourtour méditerranéen. Le but de notre travail est l'étude chimique et biologique d'*Acanthus mollis*.

Notre mémoire comporte deux parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, qui porte deux chapitres,
 - ✚ Dans le **premier chapitre** de ce manuscrit nous avons parlé sur les métabolites secondaires des plantes médicinales et l'activité antioxydante des principes actifs.
 - ✚ Au cours de **deuxième chapitre** nous présenterons une étude botanique de la plante sélectionnée.

Introduction Générale

- La seconde partie porte sur une description du matériel utilisé, la démarche expérimentale et les méthodes employées :
- ❖ L'extraction des huiles essentielles et des extraits (aqueux et éthanolique.....) ainsi que les méthodes d'identification de ces derniers,
- ❖ Le criblage phytochimique et la quantification des polyphénols totaux des différents extraits par spectrophotomètre.
- ❖ Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits.

Aussi dans cette partie nous avons rapporté les résultats obtenus : les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante .

Enfin nous terminerons notre travail par une conclusion qui est un ensemble de réflexions achève ce travail.

Ce travail a été réalisé au sein du :

- ✚ Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (**LASNABIO**) - Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou-Bekr-Belkaïd, Tlemcen.
- ✚ Laboratoire de chimie organique, département de chimie, Université Belhadj Bouchaïb, Ain Témouchent.

Chapitre 1 : Les Plantes Médicinales Et Leurs Vertus Thérapeutique

I. Les plantes médicinales

I.1. Définition [5] :

La matière médicale, < Materia Medica >, est à l'origine, l'étude de toutes les matières premières naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée Pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétale. En dehors des plantes strictement médicinales, elle étudie aussi:

- Les plantes toxiques.
- Certains végétaux alimentaires, comme les plantes à caféine et les épices à propriétés physiologiques marquées, les huiles végétales utilisées en diététique, les fruits riches en vitamines.
- Les plantes à usage surtout industriel, mais ayant quelques applications en pharmacie: plantes à fibres (cotonnier, chanvre, lin), plantes oléagineuses (Arachide, Ricin, Soja), plantes à parfums (Lavande, Rose, etc...).

I.2. Définition des métabolites secondaire chez les plantes:

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes[6].

Chez les plantes, les métabolites secondaires sont importants à la survie et à la propagation de l'espèce. Il joue chez celles-ci différents rôles, comme des phéromones ou des signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement [6,7].

I.3. Classification des métabolites secondaires:

On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux [8,9] :

- Les composés phénoliques
- Les alcaloïdes et composés azotes
- Les terpénoïdes.

I.3.1. Les composés phénoliques:

Les composants phénoliques sont des métabolismes secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois) [10].

Ils sont largement utilisée en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, antimicrobiens [11,12].

I.3.2.Les alcaloïdes:

On peut définir de manière simple « un alcaloïde est une substance organique azotée (appartenant au vivant) d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe ». Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique ; les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative [13].

I.3.3.les terpénoïdes:

Les terpénoïdes, qu'on appelle parfois isoprénoïdes, forment une classe large et diverse de composés organiques que l'on rencontre dans la nature, similaires aux terpènes, dérivant d'unités isoprène à cinq carbones assemblées et modifiées de milliers de façons.

Les terpénoïdes de plantes sont beaucoup utilisés en raison de leurs qualités aromatiques. Ils jouent un rôle dans les remèdes en herboristerie traditionnelle et font l'objet de recherche pour découvrir des effets antibactériens, antinéoplastiques ou autres effets pharmaceutiques.

II. Les Huiles Essentielles :

Les huiles essentielles (essences = huiles volatiles) sont : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation» [14]. Plus récemment, la norme AFNOR NF T 75-006 (octobre1987) a donné la définition suivante d'une huile essentielle : «Produit obtenu à

partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec».

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatils constitués de plusieurs dizaines de composés [15], se retrouvent dans toutes les parties de la plante (écorces, racines, feuilles, fleurs et fruits) et dans toutes les régions climatiques du globe. Les facteurs environnementaux comme la température, l'irradiante et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle.

Les terpènes sont les constituants majoritaires des huiles essentielles, elles sont construites à partir de plusieurs entités isopréniques (Figure 1).

Les composants des huiles essentielles peuvent être classés également en deux groupes principaux:

- 1- les hydrocarbures : qui consistent les terpènes
- 2- Les composés oxygénés, tels que les esters, aldéhydes, cétones, alcools. Parfois la présence aussi des composés azotés et soufrés [15].

II.1. Les terpènes

II.2.1. Définition des terpènes [4, 15, 16]

Les terpènes sont des molécules très volatiles fréquentes dans la nature, surtout dans les plantes où ce sont les principaux constituants des huiles essentielles. Les terpènes sont issus du couplage d'au moins 2 unités isopréniques à 5 carbones (Figure 1).

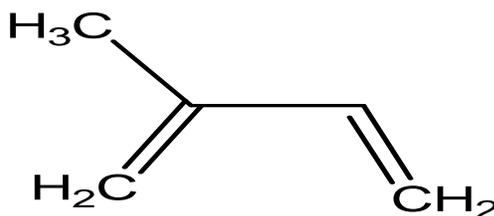


Figure 01: Structure de l'unité isoprénique.

II.2.2. Historique sur les terpènes [5]

Les substances monoterpéniques étaient parfaitement connues au début du XXe siècle. Par ailleurs, ce n'est qu'en 1910 que Semler détermine la structure correcte du premier composé sesquiterpénique; le β -santalène. Il faut attendre ensuite trois ans pour que Keschbaum en 1913 établisse la structure du trans-2 trans-6 farnésol (Figure 2); c'est la deuxième structure sesquiterpénique décrite avec précision depuis, les nombre des terpènes naturels connus s'est actuellement voisine de 5000, compte-tenu des mono, sesqui, di, tri, et polyterpéniques.

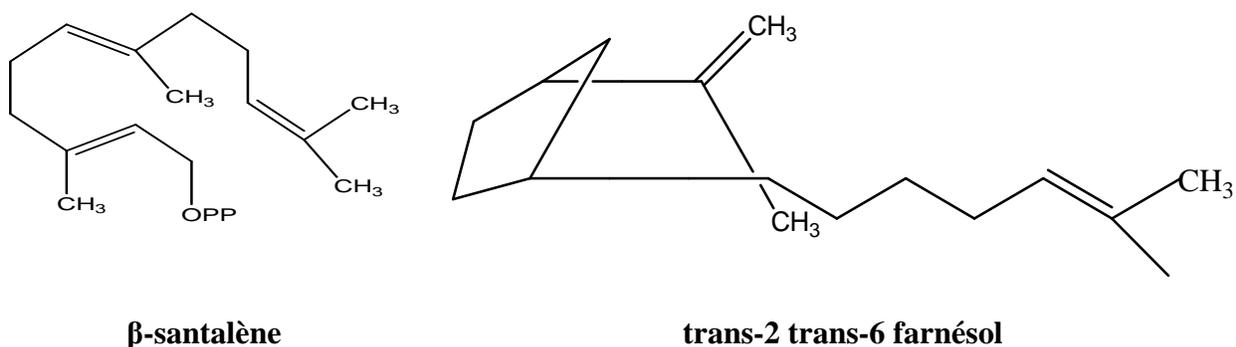


Figure 2: Structure de deux composés terpéniques.

II.3. Les différentes classes des terpènes

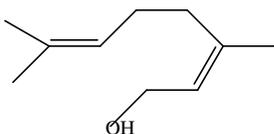
II.3.1. Monoterpène [5]

Ces composés contiennent deux unités de l'isoprène (C₁₀). Ils sont largement distribués dans la nature, en particulier dans les huiles essentielles. Ils sont importants dans l'industrie des parfums.

❖ Exemples de monoterpènes

a- Acycliques

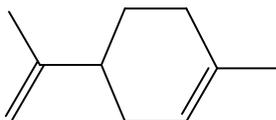
Alcool



Nérol (géranium)

b- Monocycliques

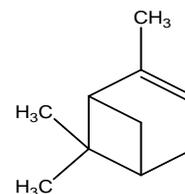
Carbure



Limonène (citron, pin, menthe)

c- Bicycliques

Carbure



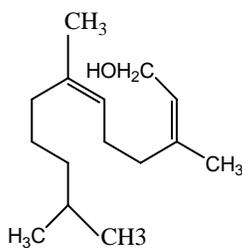
α -pinène (pin)

Figure 03 : Structure de quelques monoterpènes

II.3.2. Sesquiterpènes [16]

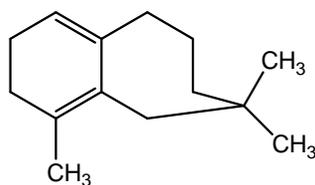
Ils contiennent trois unités de l'isoprène (C15). Ils sont trouvés dans beaucoup de systèmes vivants mais en particulier dans les plus hautes plantes

a- Acycliques



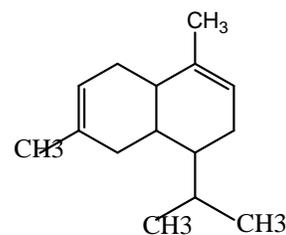
Farnésol (Tilleul)

b- Monocycliques



humulène (Houblon)

c- Bicycliques



cadiène (goudron de Cade)

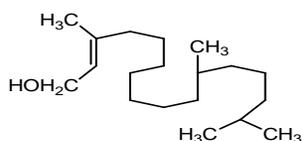
Figure 04 : Structure de quelques Sesquiterpènes

II.3.3. Diterpènes [5]

Contiennent 20 atomes du carbone dans leurs squelettes de base. Ils sont composés de quatre unités de l'isoprène. Ils existent dans presque tout le règne végétal et appartiennent à plus que 20 types structurels.

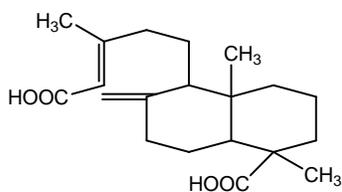
❖ Exemples de Diterpènes

a- chaîne ouverte



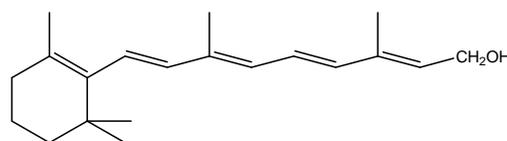
Phytol

c-dicyclique



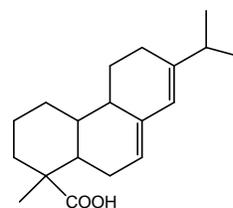
Acide agathique

b-monocyclique



Vitamine A

d- tricyclique



Acide abiétique (ou colophane)

Figure 05 : Structure de quelques diterpènes

III. Méthodes d'extractions [5]

Les huiles essentielles sont extraites principalement par différentes méthodes parmi les quelles:

- ✓ L'hydrodistillation.
- ✓ L'entraînement à la vapeur de l'eau.
- ✓ micro-onde.
- ✓ par des solvants organiques (soxhlet).
- ✓ Au CO₂ supercritique

IV. Activité Biologique :

L'organisation mondiale de la santé « OMS » certifie que les plantes médicinales sont constituées d'une panoplie de molécules caractérisées par des structures riches, complexes et variées par conséquent elles devraient être étudiées intensivement afin de mieux comprendre leurs propriétés et leur efficacité [16]

V.1. Activité Antioxydantes :

Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. Dans l'organisme, la respiration cellulaire génère des espèces réactives de l'oxydation qui peuvent être à l'origine des radicaux, les radicaux libres en excès sont responsables de dommages cellulaires, notamment sur l'ADN, et peuvent favoriser des maladies. A l'inverse, les antioxydants luttent contre le stress oxydatif responsable de vieillissement cellulaire. Ils auraient donc un effet anti-âge.

Dans les aliments, le pouvoir antioxydant est mesuré par l'indice ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacité d'adsorption des radicaux libres). Les aliments ayant un indice ORAC élevé sont surtout des fruits et des légumes (kiwi, agrumes, pommes, fruits rouges, chou, épinard, carottes...) mais aussi d'autres aliments comme le chocolat, les épices, le vin rouge, les coquillages, le thé, certains compléments alimentaires proposent des produits riches en antioxydants. Des cosmétiques contiennent aussi des molécules antioxydantes aussi des molécules antioxydantes pour lutter contre les effets du vieillissement sur la peau [17].

Exemples de molécules antioxydantes :

Parmi les molécules antioxydantes, on trouve par exemple :

- Des vitamines : E, C, A
- Des minéraux : sélénium, zinc
- Des molécules complexes : polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes
- Des enzymes comme la glutathion peroxydase dismutase, ces enzymes jouent un rôle de protection antioxydante naturelle.[17]

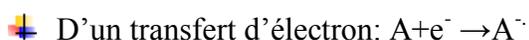
V.2.Radicaux Libres

- **Définition:**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules, possédant un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire). La tendance des électrons non appariés à interagir avec les autres molécules ou atomes voisins, pour former des liaisons covalentes, procure aux radicaux libres une très grande instabilité.

- **Formation des radicaux libres :**

La formation des radicaux libres peut être le résultat :



V.3. Effet Des Radicaux Libres Sur Les Molécules Biologique :

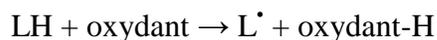
Les lipides

La peroxydation lipidique est un exemple frappant du dommage oxydatif dans les différentes structures cellulaires. La peroxydation des glycolipides, phospholipides et de cholestérol survient suite aux réactions déclenchées par les espèces radicalaires telles que le radical peroxy et le radical hydroxyle.

L'oxydation des lipides est initiée par l'arrachement d'un hydrogène situé entre deux doubles liaisons; formant un radical diène conjugué qui s'oxyde en radical peroxy. Ce dernier évolue en peroxyde en contact avec un autre acide gras pour produire un nouveau radical diène conjugué (réaction en chaîne). Les hydroperoxydes et les radicaux peroxy se transforment soit en d'autres espèces moléculaires ou propagent le processus de peroxydation lipidique.

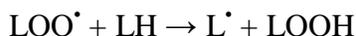
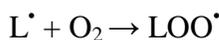
La peroxydation, lipidique se déroule selon trois étapes:

- ***L'initiation :**

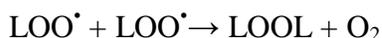
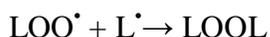


L'oxydation est initiée par l'arrachement d'un atome d'hydrogène sur le carbone (α) adjacent de la double liaison; cette réaction est limitante.

***La propagation : en présence de l'oxygène (O₂):**



***La terminaison:**



La combinaison des deux radicaux est limitée par la basse concentration des radicaux et par les facteurs stériques.

✓ L'ADN

Les études expérimentales sur l'action des ROS sur l'ADN ont mis en évidence quatre grands types de lésions:

- ❖ Modification des bases nucléiques.
- ❖ Apparition des sites abasiques.
- ❖ Apparition des adduits de l'ADN.
- ❖ Cassure de simple ou double brin.

L'ADN mitochondrial est plus sensible au stress oxydatif à cause de l'absence des histones et la génération des ROS dans ce site, de même pour les cellules en division car leur ADN est nu et non enroulé.

Le déséquilibre dans la balance oxydants/antioxydants contribue au développement des cancers par différents mécanismes:

- Modulation des gènes d'expressions.
- Induction des altérations génétiques.

Les protéines

Les protéines sont très sensibles à l'attaque du radical hydroxyle (HO[•]) qui peut dénaturer les sites actifs des protéines enzymatiques. Les ROS sont à l'origine des changements fonctionnels, des fragmentations et une augmentation des attaques protéolytiques des protéines.

L'accumulation des protéines oxydées peut être à l'origine de nombreuses maladies telles que la maladie d'Alzheimer et la dystrophie musculaire.

Les glucides

Les ROS attaquent les mucopolysaccharides particulièrement les proteoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans les conditions physiologiques en présence

des traces d'ions métalliques libérant le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et le cetoaldehyde, entraînant l'hydrolyse des protéines ou leur glycation.

V.4.Méthode d'évaluation de l'activité des antioxydants

L'activité antioxydants des plantes médicinales est évaluée soit par le dosage des produits, soit par la mesure l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres.

Parmi les tests d'évaluation l'activité antioxydants :

- Test au DPPH
- Test de la réduction de fer FRAP
- Méthode de TRAP
- Méthode de PFRAP

V.4.1.Définition de test DPPH:

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (á,á-diphénylâ picrylhydrazylâ) fut l'un des premiers radicaux libres utilise pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composes phénoliques[18,19] . Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (Figure 6) [20].

Le DPPH, un radical libre de couleur violette, est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires [21].

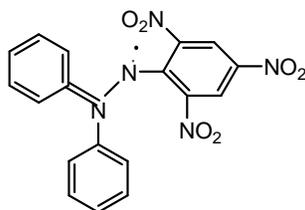


Figure 06: Structure chimique du radical libre DPPH
(2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)

V.4.2. Définition de test FRAP (ferric reducing-antioxidant power):

Le test FRAP permet d'évaluer le pouvoir antioxydant des aliments, en déterminant cette fois leur capacité de réduction des ions ferriques en ion ferreux. La teneur en antioxydants est déterminée par comparaison avec des solutions contenant des concentrations connues en ions ferreux.

La valeur calculée par le test FRAP s'exprime en **mmol d'antioxydants par 100 g d'aliment**.

Voici comment interpréter les valeurs FRAP des aliments [22] :

- $0 < \text{indice FRAP} < 1,5$: capacité antioxydante basse
- $1,5 < \text{indice FRAP} < 3$: capacité antioxydante moyenne
- $3 < \text{indice FRAP} < 10$: capacité antioxydante élevée
- $\text{indice FRAP} > 10$: capacité antioxydante très élevée

V.4.3. Définition de test TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter):

Le TRAP (paramètre antioxydant piégeant le radical pyroxyde total) la chimiluminescence augmentée par le luminol (CL) [23,24] était exploité pour surveiller les réactions impliquant le radical pyroxyde.

Le signal CL est entraîné par la production de radicaux dérivés du luminol, résulte de la décomposition thermique de l'AAPH.

La valeur TRAP a été déterminée à partir de la durée de la période au cours de laquelle le l'échantillon a éteint le signal de chimiluminescence, en raison de la présence de antioxydants.

Le test d'inhibition de la peroxydation lipidique: La peroxydation lipidique

la méthode d'essai d'inhibition utilise un système de type Fenton ($\text{Co (II)} + \text{H}_2\text{O}_2$), à induire une peroxydation des lipides (par exemple des acides gras) [23,25].

L'acide α -linoléique a été choisi comme substrat modèle. C'était mélangé avec l'échantillon analysé, ainsi qu'avec le mélange de type Fenton, pour induire peroxydation lipidique. Après la fin de l'incubation, la concentration des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) a été mesurée, l'indice de peroxydation lipidique. La peroxydation lipidique a été exprimée en nmoles de TBARS pour 1 ml de mélange acide α -linoléique / échantillon analysé.

V.4.4. Définition de test PFRAP (ferricyanure réducteur de potassium): [26,27]

Une augmentation de l'absorbance peut être corrélée à la capacité de réduction des antioxydants/extraits antioxydants. Les composés avec antioxydant capacité à réagir avec le ferricyanure de potassium, pour former du potassium ferrocyanure.

Ce dernier réagit avec le trichlorure ferrique, produisant du ferrique le ferrocyanure, un complexe de couleur bleue, avec une absorbance maximale.

Chapitre 02 : Etude Botanique d'*Acanthus Mollis*

I. Description botanique:

L'acanthé molle (*Acanthus mollis*) est une plante *vivace* qui appartient à la *famille* des Acanthacées. Originnaire du bassin méditerranéen, elle inspira les artistes locaux, notamment les sculpteurs qui l'immortalisèrent au sommet des colonnes des temples.

Dans son milieu naturel l'acanthé apprécie les sols rocailloux, bien drainés où elle forme de vastes touffes au fil des années.

- + **Feuilles** : vert foncé pouvant atteindre 1 mètre de longueur et presque autant de largeur est luisant et profondément lobé. Il sert d'écrin à sa hampe florale spectaculaire qui dépasse alors le feuillage de plus d'un mètre. Se déployant en été, la grappe porte de nombreuses fleurs blanches bordées de pourpre.
- + **Racine** : épaisse, fibreuse, horizontale, de 50 à 70 centimètres, droite, ferme, un peu anguleuse et pubescente.
- + **Fleurs** : grandes, d'un blanc jaunâtre ou rougeâtre, sessiles, formant un bel épi; chaque fleur munie d'une bractée ovale, épineuse, qui la soutient (de juillet à octobre).
- + **Calice** de quatre divisions dont deux latérales, la supérieure plus grande, tenant lieu de lèvre supérieure à la corolle, qui a un tube court et qui s'allonge en une seule lèvre large et trilobée; quatre étamines didynames à filets gros, style les dépassant.
- + **Fruit**: capsules ovales à deux loges, dans chacune une seule graine roussâtre [28].



Figure 07 : *Acanthus mollis*

II. Culture [12]:

L'acanthé n'est guère cultivée que comme plante d'ornement; à peu près indifférente sur le sol, elle préfère cependant une terre profonde, douce et légère, et une exposition chaude; on la sème de graines vers la fin de mars, on éclaircit en mai en espaçant de 0.10 m, en automne on transplante, elle exige une grande surface; on peut aussi la propager par œilletons plantés à la fin de l'hiver, d'ailleurs elle se propage d'elle-même.

Parties usitées:

Les feuilles, les fleurs et les racines [29].

Récolte:

Les feuilles, que l'on emploie de préférence vertes, doivent être cueillies avant la floraison, quand on veut les conserver [29].

III. Bienfaits de l'acanthé molle sur la santé:

Les bienfaits de l'acanthé a feuilles molles sont connus depuis l'Antiquité, en particulier son effet tonique et stimulant. Cette plante entrait dans la composition de boissons administrées aux guerriers pour reprendre des forces après le combat.

L'acanthé molle soulage les dérèglements digestifs, diarrhées, colites et entérites.

L'acanthé molle est utilisée pour soigner les bronchites et les infections respiratoires. Les bienfaits de l'acanthé molle sont reconnus pour ses effets toniques et stimulants sur l'organisme.

L'acanthé molle a des vertus cicatrisantes pour soigner les blessures et les plaies [30].

IV. Comment utiliser l'acanthé molle [30]:

On utilise les racines réduites en poudre.

Faire une tisane a base d'acanthé molle:

Buvez une tasse trois fois par jour en cas de troubles digestifs ou 1 tasse 1 fois le soir avant le coucher.

Mettre 1 gr de racines d'acanthé molle, soit environ 1 quart de cuillère a café, dans un bol.

Ajouter de l'eau bouillante.

Couvrir et laisser reposer une dizaine de minutes pour laisser le tout infuser.

Buvez une tasse de tisane d'acanthé molle 0 minutes avant les repas en cas de troubles digestifs, après les repas en cas de diarrhées.

Buvez maximum tasses par jour.

Les feuilles d'acanthé molle peuvent être mangées en salade.

 **Cultiver et planter l'acanthé molle dans un jardin:**

L'acanthé molle pousse en Europe, en Asie et dans certaines régions de l'Amérique du Nord.

Acanthé molle aime les terrains secs Au jardin, acanthé molle repousse les insectes.

- **Type de plante:** plante aromatique ou médicinale.
- **Plantation ou semis de l'acanthé molle:** avril, mai.
- **Floraison de l'acanthé molle:** mai, juin, juillet, août.
- **Récolte de l'acanthé molle:** septembre, octobre.

Chapitre 03 : Partie Expérimental – Résultats Et Discussion

I-Matériel végétal

Les différentes parties d'*Acanthus mollis* ont été récoltées à partir de la région de Nedroma, commune située à l'ouest de la wilaya de Tlemcen (Algérie), au cours de mois de Juillet 2019. Elles ont été séchées et conservées à température ambiante à l'abri de la lumière jusqu'au jour de leur utilisation.

II-Préparations des extraits :

II -1- Extraction avec des solvants à polarité croissante par chauffage à reflux :

II-1-1-Description du montage à reflux [31] :

Un chauffage à reflux permet de chauffer un mélange réactionnel, à pression atmosphérique, sans que les vapeurs des composés chimiques contenus dans le ballon son évaporent.

- Si on chauffait directement le mélange réactionnel dans le ballon, les vapeurs sortant a l'air.
- Si on bouchait le ballon, les gaz formés lors du chauffage feraient rapidement monter la pression dans le ballon, le bouchon sauterait et les vapeurs sortant et perte de la matière .
- dans le cas du montage à reflux, le ballon est surmonté d'un réfrigérant à boules. Comme tout réfrigérant, il est ouvert en haut donc le mélange contenu dans le ballon est à la pression atmosphérique de la salle.

Les vapeurs s'élèvent, vont dans le réfrigérant puis se recondensent et retombent dans le ballon, On garde le mélange réactionnel sous forme liquide dans le ballon.

II-1-2-Principe :

La circulation d'eau dans le réfrigérant à boule, permet de refroidir les vapeurs formées lors du chauffage, provoquant leur liquéfaction (dans la vie courante on dit condensation, à tort). Le liquide résultant retombe dans le ballon, c'est le reflux. Il n'y a donc pas de pertes de matières au cours de ce type de chauffage.

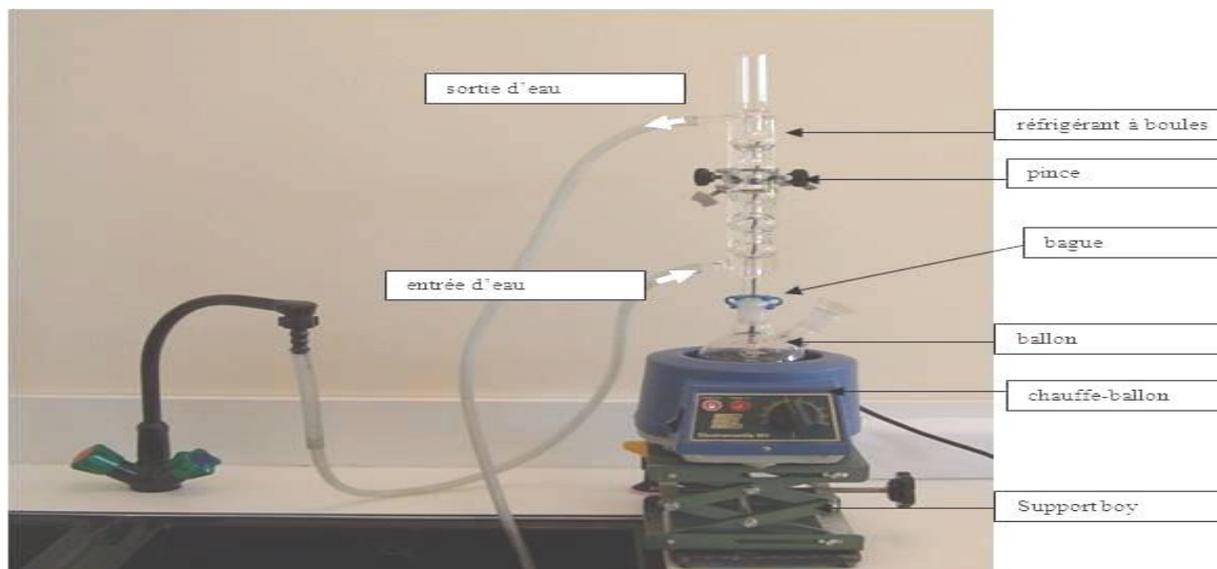


Figure 08 : Montage à reflux

II-1-3- Mode opératoire pour préparer les extraits :

Les extractions ont été réalisées avec un système de trois solvants à polarité croissante :

- Dichloromethane
- L'éthanol
- L'eau

Nous avons pris avec chaque solvant 5g de la plante à l'état sèche, et 180 ml de solvant. Nous laissons le chauffage pendant 3h après .une fois le chauffage est terminé nous filtrons la solution.



Extraction par chauffage a reflux



L'extrait



Filtration des extraits



Evaporation des extraits

Figure 09 : Préparation des extraits

II-2-Calcul des rendements :

La formule suivante nous a permis de calculer les rendements des extraits.

$$\text{Rdt}\% = (\text{EB}/\text{MS}) \times 100$$

Avec :

- ✓ Rdt= Rendement
- ✓ EB= Extrait brut obtenu après l'extraction

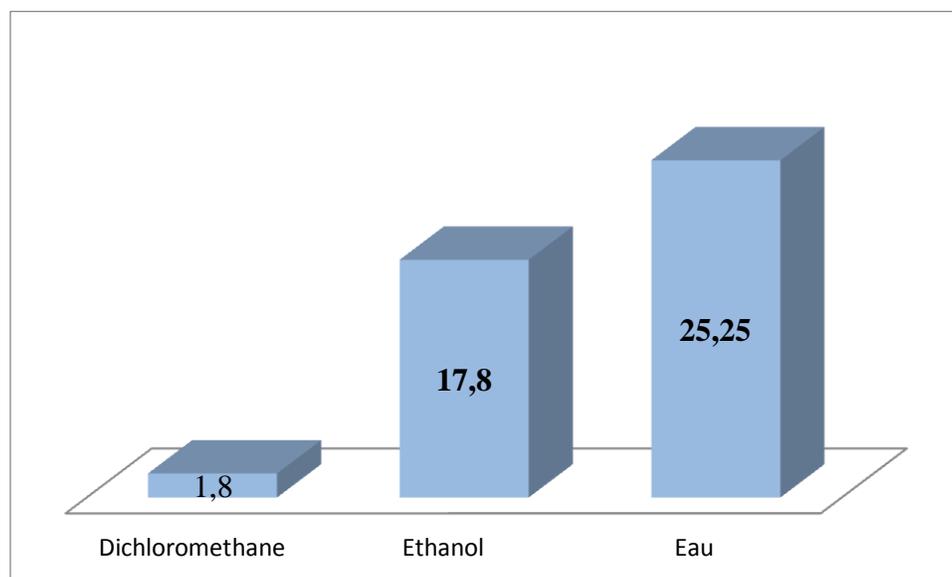
✓ MS = Masse de matière à partir de laquelle l'extraction a été réalisée.

❖ Résultats et Discussion :

Les différents rendements des extraits obtenus sont classés dans le **tableau 01**.

Tableau 01 : Evolution des rendements de la plantes sèche en fonction de la nature du solvant.

Solvant	Aspect physique	Couleur	Masse de l'extrait en g	Rdt en %
Dichloromethane	huileux	Vert Marron	0.09g	1.8%
Ethanol	Solide	Marron	0.89g	17.8%
L'eau distillée	Pâteux	Marron	1.262g	25.25%



Histogramme 01 : Rendements des différents extraits.

D'après l'histogramme 1, Les extractions montrent que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (**25.25%**) et le rendement le plus faible a été obtenu par l'extrait de Dichlorométhane (**1.8%**) et cela due à la polarité des solvants.

III- Etude phytochimique :

Les tests phytochimiques met en évidence la présence des familles des molécules actives alors c'est une étude qualitative utilisé pour connaître les compositions globale des extraits.

Les tests phytochimiques sont basés sur les réactions des colorations et des précipitations.

Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des molécules a bases azotées, le plus souvent hétérocyclique, très majoritairement d'origine végétale, ils peuvent se présenter sous forme de molécules organiques hétérocycliques azotées basique.

Pour déterminer les alcaloïdes nous avons utilisé deux réactifs

- ❖ **Reactif de Mayer** : 5g de KI + 1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.
- ❖ **Reactif de Wagner** : 2g KI + 27g I₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

Dans deux tubes a essai, introduit 0.5 ml de l'extrait, acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl a 1% puis ajouter 0.5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0.5 ml de réactif de Wagner dans le deuxième tube. La formation d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la préséance des alcaloïdes.

Les polyphénols :

✓ **Les tannins :**

Dans un tube a essais, introduire 1 ml d'extrait a analyser et ajouter 0.25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (2%), incubé 15 min a température ambiante .L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre indique la présence des tannins.

✓ **Les flavonoïdes :**

Dans un tube à essais, introduire 1 ml d'extrait à tester ,1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes.

✓ **Les quinones libres :**

Introduire 1 ml de l'extrait dans un tube à essai plus 100µl de lessive de soude (NaOH 10%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libre.

✓ **Les coumarines :**

Dans un tube a essai, ajouter 500µl de NH₄OH a 10% A 1ml de l'extrait, prélever une goutte puis déposer sur un papier filtre et la lecture ce fait sous U.V à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

✓ **Les anthraquinones :**

Dans un tube à essai, déposer 1ml de l'extrait, 1ml de NH₄OH à 10% puis agité. Une coloration violette indique la présence d'anthraquinone libre.

+ **Les terpénoïdes :**

Test de Slakowski : sur 1ml de l'extrait, ajouter 0.4 ml de chloroforme et 0.6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique leur présence.

+ **Les saponines :**

Test de mousse : Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence des saponines.

+ **Les composés réducteurs :**

Dans un tube à essai, ajouter a 1 ml de l'extrait, 2 ml de liqueur de Fehling, incubé les tubes 10 min au bain marie. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

❖ **Résultats et Discussion :**

Les tests qualitatifs phytochimiques effectués sur les différents extraits ont permis de déceler l'existence d'une variété de métabolites secondaires représentés dans les **tableaux 02-04**.

Tableau 02 : Résultats des tests phytochimique de l'extrait par dichlorométhane.

Famille	Test réalisé -/+	Observations
Les Alcaloïdes	Réactif de Wagner	++ Formation d'un précipité brun
	Réactif de Mayer	+ Formation d'un précipité blanc
Les tannins	-	Pas d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre
Les flavonoïdes	-	Pas d'une coloration rose jaune ou rouge
Les quinones libres	++	L'apparition d'une couleur qui vire au jaune
Les coumarines	-	Pas d'une fluorescence intense
Les anthraquinones	-	Pas d'une coloration violette
Les tèrenoïdes	+++	Formation de deux phases + formation d'une couleur marron
Les saponines	-	Pas de formation de mousse
Les composés réducteurs	-	Pas d'un précipité rouge brique

Tableau 03 : Résultats des tests phytochimique de l'extrait par éthanol.

Famille	Test réalisé -/+	Observations
Les alcaloïdes	Réactif de Wagner +	Formation d'un précipité brun
	Réactif de Mayer ++	Formation d'un précipité blanc
Les tannins	+	Formation d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre
Les flavonoïdes	-	Pas d'une coloration rose jaune ou rouge
Les quinones libres	+++	L'apparition d'une couleur qui vire au jaune
Les coumarines	-	Pas d'une fluorescence intense
Les anthraquinones	-	Pas d'une coloration violette
Les terpenoïdes	+++	Formation de deux phases + formation d'une couleur marron
Les saponines	+++	formation d'une mousse de 1cm d' hauteur
Les composés réducteurs	-	Pas d'un précipite rouge brique

Tableau 04 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait aqueux.

Famille	Test réalisé +/-	Observations	
Les alcaloïdes	Réactif de Wagner	+++	Formation d'un précipité brun
	Réactif de Mayer	-	Formation d'un précipité blanc
Les tannins		-	Pas d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre
Les flavonoïdes		-	Pas d'une coloration rose jaune ou rouge
Les quinones libres		+++	L'apparition d'une couleur qui vire au jaune
Les coumarines		-	Pas d'une fluorescence intense
Les anthraquinones		-	Pas d'une coloration violète
Les terpenoïdes		-	Pas de Formation de deux phases +et pas de formation d'une couleur marron
Les saponines		+++	formation d'une mousse de 1cm d' hauteur
Les composés réducteurs		-	Pas d'un précipite rouge brique

DéTECTÉ : +

NON DÉTECTÉ : -

- La plante contient des quinones libres qui sont détectés au niveau de la partie aérienne de la plante.
- L'ajout de l'I₂ aux trois extraits a permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes au niveau de tous les extraits.
- Les saponines sont présent au niveau de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique.
- L'ajout du Chloroforme et l'acide sulfurique dans tous les extraits a permis de mettre en évidence la présence des terpènes au niveau de l'extrait dichlorométhane et extrait éthanolique et nous avons remarqué leur absence dans l'extrait aqueux.

●La partie aérienne de notre plante étudiée est riche en composés pouvant être actifs. Nous avons conclu que l'éthanol est le meilleur solvant qui permet une bonne extraction des différentes familles de molécules chimiques.

IV-Extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction.

Pour notre travail nous avons choisis l'extraction par hydrodistillation.

IV-1-Principe et protocole:

Lorsqu'on chauffe le ballon qui contient la solution aqueuse, l'eau se vaporise. Cette vapeur casse les cellules végétales, libérant les molécules d'intérêt. Les plus volatiles d'entre elles sont emportées avec la vapeur. Celle-ci est ensuite refroidie dans un condenseur. Et les différentes substances sont récupérées séparément dans de la verrerie de laboratoire. La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (05 h) selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait [32]. Les températures nécessaires à la mise en œuvre de la technique d'hydrodistillation se situent autour de 100 °C pour protéger les molécules odorantes qui intéressent le secteur de la parfume.

Lorsque la vapeur d'eau est apportée de l'extérieur, on parle non plus d'hydrodistillation mais d'entraînement par vapeur.

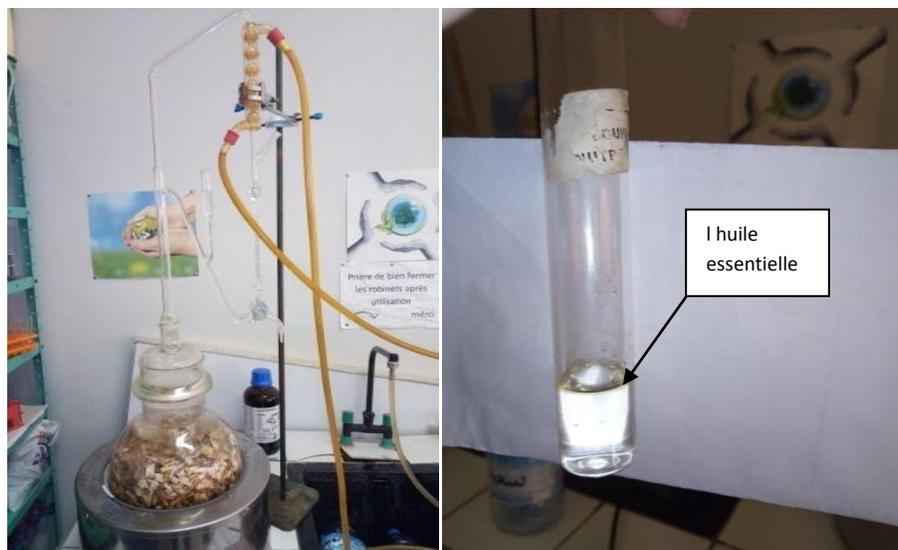


Figure 10 : Extraction de l'huile essentielle de la plante *Acanthus Mollis*.

L'huile essentielle extraite à partir des fruits d' *Acanthus Mollis* a une couleur jaune, portant une odeur forte et caractéristique. Le rendement d'hydrodistillation est de l'ordre 0.01%

Tableau 05: Evolution des rendements d'huile essentiel la plantes sèche.

	Aspect physique	Couleur	Masse en g	Rdt en %
Huile essentielle	Huileux	Jaune	2.8114	0.01%

Une fois l'huile obtenue, l'analyse permet d'identifier et de quantifier les produits qui la composent. L'analyse de la partie volatile est réalisée par deux techniques chromatographiques (CPG & CPG/SM).

La méthodologie d'analyse est basée sur l'utilisation conjointe de la CPG/Ir et de la CPG/SM-IE. L'analyse s'organise en deux étapes, d'une part le calcul des Ir, polaires et apolaires, et la quantification des composés par CPG/Ir et, d'autre par l'analyse par CPG/SM permet d'obtenir les spectres de masse des divers constituants correspondants.

Les analyses ont permis d'identifier plusieurs composés. Les identifications sont établies sur la base des bibliothèques « Arômes » propres au Laboratoire de l'université de Corse et à l'aide des bibliothèques commerciales.

IV-Dosage des polyphénols:

IV-1-Principe :

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes de l'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm.

IV-2-Protocole:

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [33]. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross) [34] en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μ l de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations.

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c.V/m$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

V : volume de l'extrait (ml).

m : masse de l'extrait pur de plante (g).

❖ Résultat et discussion :

Les dosages des polyphénols ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standards. Après la préparation de la gamme des concentrations de l'acide gallique, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 765 nm. Les absorbances obtenues ont été représentées en fonction des concentrations, la courbe d'étalonnage réalisée montre la linéarité de la réponse du détecteur en fonction des différentes concentrations (Figure09).

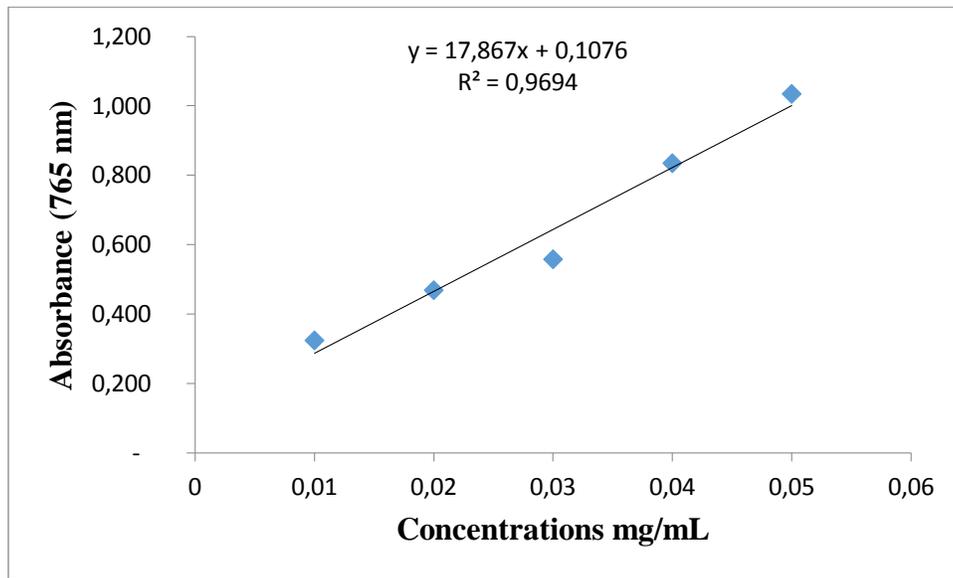


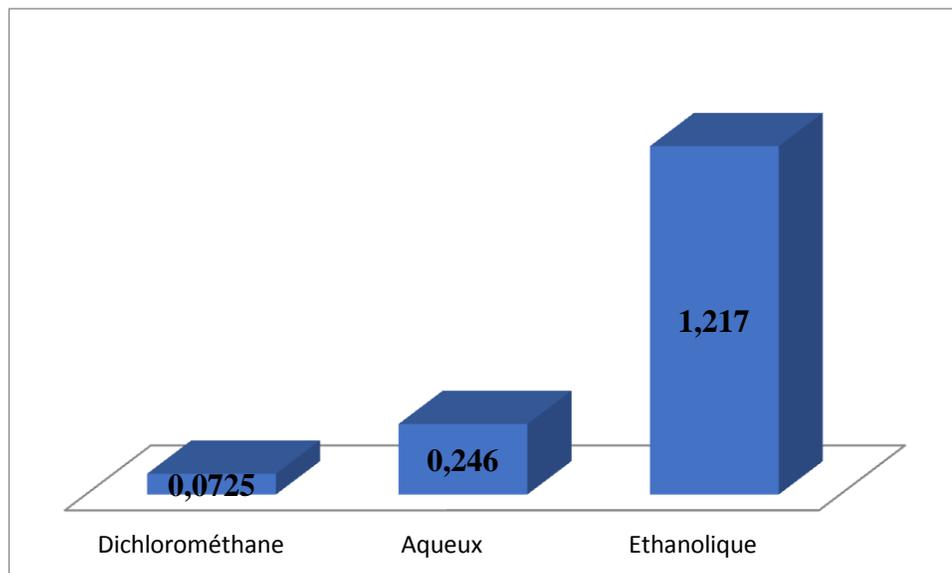
Figure11 : Courbe étalonnage d'acide gallique.

Les analyses quantitatives des phénols totaux, sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées en mg équivalent d'acide gallique et par g de la matière sèche.

D'après la **figure11**, nous remarquons que le coefficient de régression de la courbe d'étalonnage est proche de 1 ($R = 0,969$) ; Cette courbe peut être donc utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols des échantillons.

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits d'*A Mollis* sont représentés ci-dessous (histogramme 02). Dans cette composition nous constatons que l'extrait ethanolique et l'extrait aqueux sont quantitativement plus riches en composés

phénoliques, elles sont de l'ordre de **1.217** mg eq g AG/ g MS **0.246** mg eq g AG/ g MS et suivent par l'extrait de dichlorométhane avec une teneur de **0.0725** mg eq g AG/ g MS



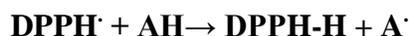
Histogramme 02 : Taux des polyphénols dans les extraits.

V-Evaluation de l'activité anti-oxydante :

V-1-Test au DPPH :

V-1-1Principe:

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH) est réalisé par la méthode décrite par Ammar et al [35] qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺.



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH.

V-1-2-Protocole:

1 ml de 0,0031% solution de DPPH dans l'éthanol est mélangé avec un volume égal d'extraits d'essai à différentes concentrations, puis laisser incuber 30 min à l'abri de la lumière à température ambiante. L'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (U.V/VIS Spectrophotomètre, Optizen POP). Contre un blanc qui contient de l'éthanol pur.

Le contrôle est composé de 1ml de la solution éthanolique de DPPH et de 1ml d'éthanol. L'évaluation de l'activité anti-oxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

Avec:

AC : Absorbance du contrôle.

AT : Absorbance de test effectué.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la CI₅₀, sachant que l'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

Résultat & Discussion

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1-picryldrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée [36]. La comparaison et la validation des résultats sont effectués avec un contrôle positif utilisant l'acide ascorbique.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en CI 50, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. Ces CI 50 sont déterminées à partir des graphes (Figure 12, 13).

Plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. D'après nos résultats l'extrait aqueux a présenté une activité antioxydante (IC₅₀=0.003066 g/L) plus importante que celle du l'extrait éthanolique (IC₅₀=0.02739g/L) et l'extrait de dichlorométhane (IC₅₀=0.271078 g/L). L'huile a présenté une activité anti oxydante très faible (IC₅₀=3.461 g/L).

Les résultats de piégeage de DPPH par les extraits d'*Acanthus mollis* sont en accord avec ceux obtenus par l'examen quantitatif dont on a enregistré que l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique sont les plus élevées en polyphénols totaux, ceci nous permet de penser que les polyphénols seraient responsables de l'activité antioxydante.

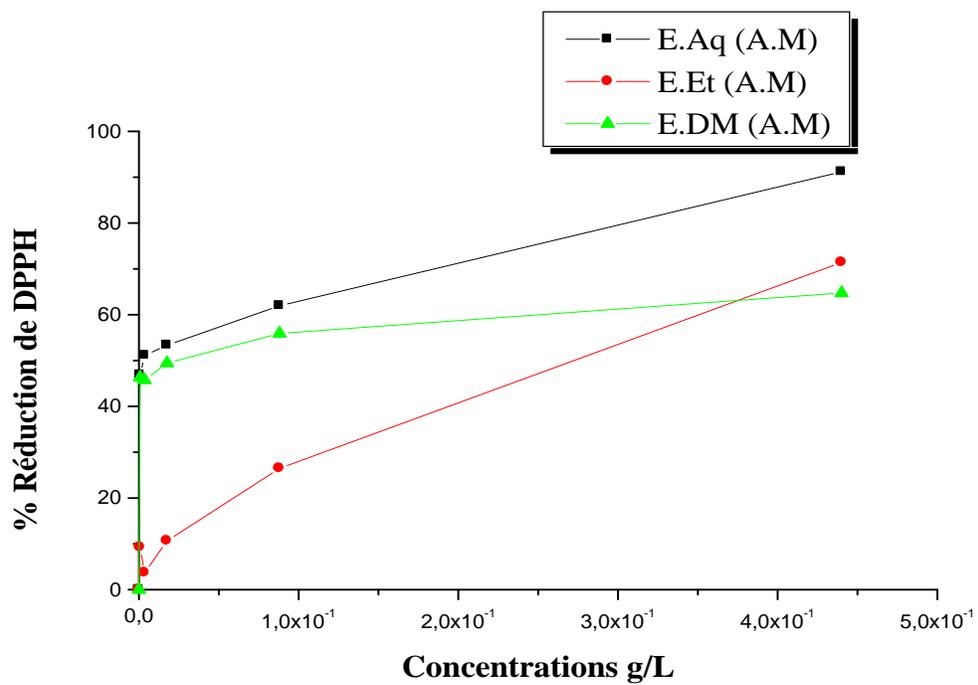


Figure12: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits.

E. Aq. (A.M) : Extrait aqueux d'*A.Mollis*

E. Et. (A.M) : Extrait d'éthanol d'*A.Mollis*

E. DM. (A.M) : Extrait de dichlorométhane d'*A.Mollis*

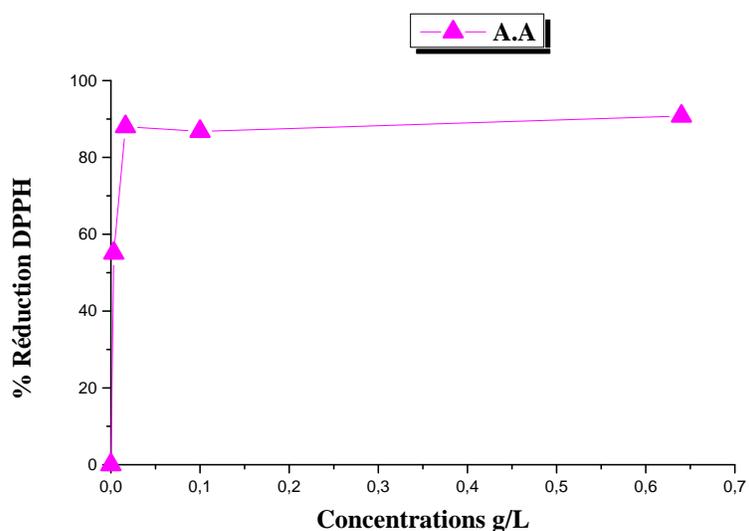
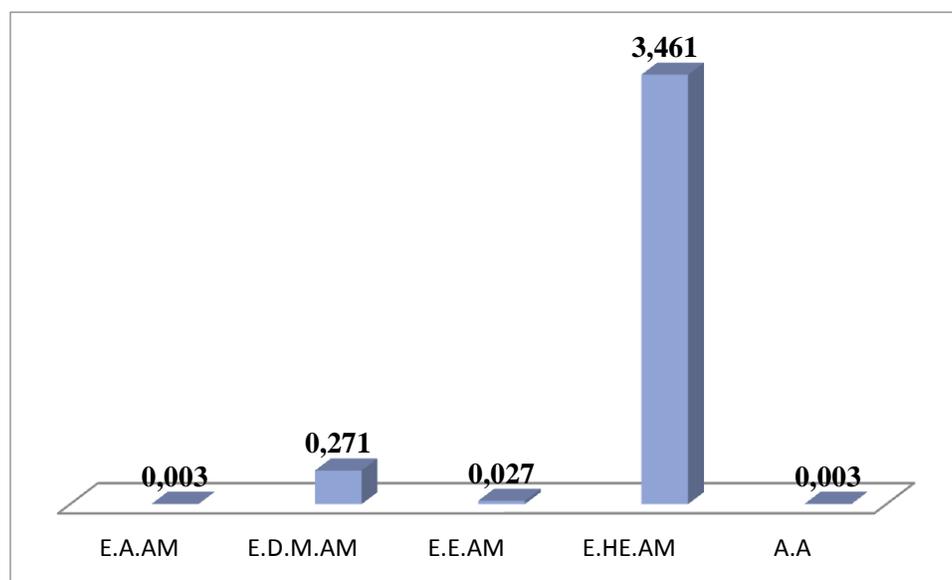


Figure13: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique.

A.A : acide ascorbique



Histogramme03 : IC50 des trois extraits,huile essentielle de la plante *Acanthus Mollis* et de la vitamine C.

E.A.AM	Extrait aqueux d' <i>Acanthus mollis</i>
E.D.M.AM	Extrait de dichlorométhane <i>Acanthus mollis</i>
E.E.AM	Extrait éthanolique <i>Acanthus mollis</i>
EHE.AM	Huile essentielle <i>Acanthus mollis</i>
A.A	Acide ascorbique <i>Acanthus mollis</i>

Conclusion Générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydante a concerné une plante appartient à la famille des Acanthacées, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

L'étude que nous avons réalisée dans le cadre de cet mémoire consiste d'une part l'évaluation phytochimique de la plante, l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, et l'étude de l'activité antioxydante des différent extraits de la plante.

Plusieurs familles de composés chimiques sont détectées dans la partie aérienne d'*Acanthus mollis* tels que: les tèrenoïdes, les alcaloïdes, les quinones libres, les saponines. Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu, cette dernière révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols. Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc cette plante contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

En perspectives, il serait intéressant

- ✓ D'utiliser d'autre méthode pour l'évaluation de l'activité antioxydante telle que FRAP, TRAP, ORAC...ect.
- ✓ L'étude de l'activité antimicrobienne de la plantes

ملخص

جعلت الاختبارات الكيميائية النباتية التي تم إجراؤها الكشف عن التربينويدات والتلويدات والكينونات الحرة والصابونين الكمي لمجموع المركبات الفينولية باعتماد طريقة Folin-Ciocalteu اظهرت ان المستخلصات الايثانولية من الاقنتة لتقدير غنية بالبوليفينول. اظهر تقييم قوة مضادات الاكسدة مسح الجذور الحرة ان المستخلصات (المائية و الايثانولية من الاقنتة) المدروسة جميعها اختزال جيد جدا خاصة بالنسبة (IC50=0.003066 غ/ل) (IC50=0.003066 غ/ل) على التوالي. لها نشاط للمستخلص المائي تشير هذه النتائج الى انه يمكن استخدام هذا النبات في علاج الامراض و الالتهابات التي تتطلب ازالة الجذور الحرة. **الكلمات المفتاحية:** الاقنتة (*Acanthus mollis*), دراسة الكيمياء النباتي , البوليفينول , النشاط المضاد للأكسدة, .

Résumé:

Les tests phytochimiques réalisées ont permis de détecter les tèrepenoïdes, les alcaloïdes, les quinones libres, les saponines.

L'estimation quantitative des composés phénolique totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu a montré que les extraits éthanolique d'*Acanthus mollis* sont riches en polyphénol.

L'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode du piégeage des radicaux libres a montré que les extraits (aqueux et éthanolique d' *Acanthus mollis*) étudiés ont une très bonne activité réductrice, surtout pour l'extrait aqueux, avec des IC50 égale à 0.003066 g/l et 0.02739 g/l respectivement.

Ces résultats obtenus suggèrent que cette plante peut être utilisée pour traiter les maladies et l'inflammation qui nécessitent le piégeage des radicaux libres.

Mots clés: *Acanthus mollis*, etude phytochimique, polyphénols, activité antioxydante.

Abstract:

The phytochemical tests carried out made it possible to detect terpenoids, alkaloids, free quinones and saponins.

The quantitative estimate of total phenolic compounds by adopting the Folin-Ciocalteu method has shown that the ethanolic extracts of *Acanthus mollis* are rich in polyphenol.

The evaluation of the antioxidant power by the method of scavenging free radicals showed that the extracts (aqueous and ethanolic of *Acanthus mollis*) studied all have very good reducing activity, especially for the aqueous extract, with IC50 equal to 0.003066 g / l and 0.02739 g / l respectively.

These results suggest that this plant can be used to treat diseases and inflammation that require the scavenging of free radicals.

Key words: *Acanthus mollis*, phytochemical study, polyphenols, antioxidant activity.