

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Sciences de la Matière



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Chimie  
Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Thème

**ETUDE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DE QUELQUES  
EXTRAITS D'AMARANTHUS CREUNTUS**

**Présenté Par :**

- 1) Melle FOURAL Ikram
- 2) Melle BOUKHELALA Sabrina

**Devant le jury composé de :**

<b>Dr. AZZI Hadjar</b>	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent )	Présidente
<b>Dr. CHAKER Hanane</b>	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent )	Examineur
<b>Dr. FEKIH Nadia</b>	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent )	Encadrant

*Année Universitaire 2020/2021*

# *Remerciements*

*Tout d'abord, nous remercions dieu de nous avoir données la force, et la patience pour réalisés se travail.*

*Merci infiniment à notre encadreur **Mme FEKIH Nadia** Maitre de conférences à l'université Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent, pour ses aides techniques et ses orientations. Pour tous les conseils et l'attention qu'elle nous a prodiguées tout au long de la réalisation de ce travail. Pour sa gentillesse, simplicité, sa sympathie nous sommes très honorés que nous avons la chance de travailler avec elle.*

*Grand et respectueux remerciement va à **Mme AZZI Hadjar** Maitre de conférences à l'université Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent, d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.*

*Grand et respectueux remerciement va à **Mme CHAKER Hanane** Maitre de conférences à l'université Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent, pour avoir accepté de juger et examiné ce travail.*

*On vous remercie surtout pour entretien, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions. Ses remarques et ses critiques seront pour nous une source d'enrichissement.*

*Sans oublier de remercier vivement les membres de l'équipe laboratoire.*

*A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère Saadia et mon père Bouhadjar pour leurs soutiens et leurs sacrifices durant toute ma durée d'étude.*

*A mon frère : Mohammed Amine*

*A mes sœurs : Asmaa, Yasmine*

*A mes chères amies : Sabrina, Kheira, Houaria, et toutes les personnes avec qui nous avons passé des beaux moments au cours de ma carrière universitaire.*

*Ikram*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, ma mère Hadjria et mon père Abdelkader pour leurs soutiens et leurs sacrifices durant toute ma durée d'étude.*

*A mes frères : Abdnacer et sa femme Imene, Ahmed*

*A mes sœurs : Nawel, Khadidja, Amina*

*A mes nièces*

*A mes chères amies : Ikram, Kheira, Houaria, et toutes les personnes avec qui nous avons passé des beaux moments au cours de ma carrière universitaire.*

*Sabrina*

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Classes des métabolites secondaires	04
<b>Figure 02</b> : Structure chimique générale des flavonoïdes	06
<b>Figure 03</b> : Différentes classes de flavonoïdes	06
<b>Figure 04</b> : Exemple d'un tanin condensé	07
<b>Figure 05</b> : Structure de base d'un lignane (couplage en C8-C8')	08
<b>Figure 06</b> : Dibenzylbutane	08
<b>Figure 07</b> : Quelques exemples des alcaloïdes	10
<b>Figure 08</b> : Structure de l'unité isoprénique	11
<b>Figure 09</b> : Quelques exemples des monoterpènes	12
<b>Figure 10</b> : Quelques exemples des sesquiterpènes	13
<b>Figure 11</b> : Quelques exemples des diterpènes	13
<b>Figure 12</b> : Réaction de test de test de DDPH	17
<b>Figure 13</b> : Réaction de test de ABTS	17
<b>Figure 14</b> : Réaction de test de FRAP	18
<b>Figure 15</b> : Test de décoloration du $\beta$ -carotène	18
<b>Figure 16</b> : Test ORAC	19
<b>Figure 17</b> : <i>Amaranthus creuntus L</i>	20
<b>Figure 18</b> : Répartition géographique d' <i>amaranthus creuntus</i>	21
<b>Figure 19</b> : Carte géographique de la région Nedroma	24
<b>Figure 20</b> : Préparation d'A. Creuntus	24
<b>Figure 21</b> : Préparation des extraits	25
<b>Figure 22</b> : Filtration des extraits	26
<b>Figure 23</b> : Evaporation des extraits	26
<b>Figure 24</b> : Dosage des polyphénols	28

<b>Figure 25</b> : Dosage des flavonoïdes	29
<b>Figure 26</b> : Test DPPH	30
<b>Figure 27</b> : Test FRAP	31
<b>Figure 28</b> : Courbe étalonnage d'acide gallique	33
<b>Figure 29</b> : Courbe étalonnage de quercétine	34
<b>Figure 30</b> : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits	36
<b>Figure 31</b> : Variation de l'inhibition du DPPH en Fonction de la concentration d'acide Ascorbique	37
<b>Figure 32</b> : Absorbance en fonction des concentrations d'extrait aqueux	39
<b>Figure 33</b> : Absorbance en fonction des concentrations d'extrait éthanolique	39
<b>Figure 34</b> : Absorbance en fonction des concentrations d'acide ascorbique	39
<b>Figure 35</b> : Absorbance en fonction des concentrations de BHT	39

## **Liste des Histogrammes**

<b>Histogramme 01</b> : rendement des différents extraits d'A. Creuntus	32
<b>Histogramme 02</b> : Taux des polyphénols dans les extraits	34
<b>Histogramme 03</b> : Taux des flavonoïdes dans les extraits	35
<b>Histogramme 04</b> : Valeurs des IC50 des extraits d'amaranthus creuntus	38

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01</b> : Différentes classes des composés phénoliques	04
<b>Tableau 02</b> : Dérivés de l'acides hydroxybenzoïques	05
<b>Tableau 03</b> : Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques	05
<b>Tableau 04</b> : Exemple d'un tanin hydrolysable	08
<b>Tableau 05</b> : Activités biologiques des polyphénols	09
<b>Tableau 06</b> : Activités biologiques des alcaloïdes	11
<b>Tableau 07</b> : Composition nutritionnelle des feuilles	23
<b>Tableau 08</b> : Composition nutritionnelle des graines	23
<b>Tableau 09</b> : Caractéristiques des extraits d' <i>A. creuntus</i>	32
<b>Tableau 10</b> : Résultat du dosage des polyphénols totaux des extraits	33
<b>Tableau 11</b> : Résultat du dosage des flavonoïdes totaux des extraits	35
<b>Tableau 12</b> : Valeurs des IC50 des extraits <i>d'amaranthus creuntus</i>	37

## Liste des abréviations

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

**SOD** : Superoxyde dismutase

**CAT** :Catalase

**GPX** : Glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion sous forme réduites

**GSSG** : Glutathion oxydé

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

**ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6sulphonique)

**FRAP** : Ferric reducing-antioxidant power

**ORAC** : Oxygen radical absorbance capacity

**A. C** : Amaranthus creuntus

**Rdt** : Rendement

**EB** : Extrait brut

**MS** : Masse de matière

**U.V/VIS** : Spectroscopie ultraviolet-visible

**AC** : Absorbance du contrôle

**AT** : Absorbance du test effectué

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

**EAG** : Equivalent d'acide gallique.

**EQ** : Equivalent de quercétine

**E. Aq (A.C)** : Extrait aqueux *d'amaranthus cruentus*

**E. ET (A.C)** : Extrait éthanolique *d'amaranthus cruentus*

**E. AC (A.C)** : Extrait d'acétate d'éthyle *d'amaranthus cruentus*

## Liste des unités

**g** : Gramme

**L** : Litre

**Nm** : Nanomètre

**mg** : Milligramme

**Kg** : Kilogramme

**ml** : Millilitre

**µl** : Microlitre

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**cm** : Centimètre

**mm** : Millimètre

# Table des matières

<b>Introduction générale</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : LES PLANTES MÉDICINALES</b>	
I-Définition d'une plante médicinale	3
II-Phytothérapie	3
III- Utilisation des plantes en médecine traditionnelle	3
IV- Les métabolites secondaires des plantes	3
IV-1- Classification des métabolites secondaires	3
IV-1-1- Les composés phénoliques	4
IV-1-1-2 Les flavonoïdes	5
IV-1-1-3 Les tanins	6
IV-1-1-4 Les lignanes	8
IV-1-1-5 Les activités biologiques des polyphénols	9
IV-1-1-6 Dosage des polyphénols	9
IV-1-2 Les composés azotés (les alcaloïdes)	9
IV-1-2-1 Classification des alcaloïdes	10
IV-1-2-2 Les activités biologiques des alcaloïdes	11
IV-1-3 Les composés terpéniques	11
IV-1-3-2 Les différentes classes des terpènes	12
IV-1-3-3 Les activités biologiques des terpènes	14
IV-2 Les méthodes d'extraction des métabolites secondaires	14
V-Les activités biologiques	14
V-1 Activité antioxydante	14

V-1-1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	14
V-1-1-1 Définition des radicaux libres	14
V-1-2 Les antioxydants	15
V-1-2 -1 Définition	15
V-1-2 -2 Type des antioxydants	15
V-1-3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	16
V-1-3-1 Définition de test DPPH	16
V-1-3-2 Définition de test ABTS	17
V-1-3-3 Définition de test de FRAP	18
V-1-3-4 Définition de la méthode de décoloration du bêta-carotène	18
V-1-3-5 La méthode ORAC	19
V-1-3-6 Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	19

## **CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE D'AMARANTHUS CREUNTUS**

I- Présentation	20
II- Morphologie	20
III- Historique	21
IV- Répartition géographique <i>d'amaranthus creuntus</i>	21
V- Utilisation	21
VI- Propriétés nutritionnelles	22

## **PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES**

I- Matériel végétale	24
I-1- Séchage et broyage	24
II- Préparation des extraits	25
II-1 Extraction avec des solvants à polarité croissante par chauffage à reflux	25

II-1-3 Calcule des rendements	27
III- Dosage des polyphénols	27
IV- Dosage des flavonoïdes	28
V- Evaluation de l'activité antioxydant	29
V-1 Test de piégeage du radical libre DPPH	29
V-2- Test de la réduction du fer FRAP	31

#### **CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION**

I- Les rendements des extraits	32
II- Dosage des polyphénols	33
III- Dosage des flavonoïdes	34
IV- Evaluation de l'activité antioxydant	35
IV-1- Test de piégeage du radical libre DPPH	35
IV- Test de la réduction du fer FRAP	38
<b>Conclusion</b>	<b>41</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>42</b>

## INTRODUCTION GENERALE

**D**epuis plusieurs années, les grandes civilisations (égyptienne, chinoise, romaine, grecque, ...etc.) utilisaient les plantes médicinales dans nombreux domaines car elles ont des propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles [1]. De nos jours, les plantes médicinales sont considérées comme réservoir de nouveaux médicaments et constituent une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies. L'usage thérapeutique des plantes fait partie intégrante des traditions de toutes les cultures [2,3].

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie présente de multiples avantages, elle est proposée des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme. Aujourd'hui, la phytothérapie connaît un renouveau exceptionnel en Occident, notamment dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite [4].

En Afrique, les plantes médicinales sont le moyen la plus utilisée, en particulier dans les zones rurales. Selon l'OMS (2002), plus de 80% de la population africaine utilise des plantes comme traitement pour diverses maladies [5].

Les amarantes (*amaranthus*) appartiennent à la famille des *amaranthaceae*. Ce sont des plantes annuelles comestibles qui étaient autrefois utilisées comme nourriture et médicament. L'espèce la plus cultivée en Afrique (*Amaranthus cruentus*).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales Algériennes. Le but principal de ce travail est l'étude chimique et biologique *d'amaranthus cruentus*.

Notre mémoire comporte deux parties : la première partie est consacrée à une synthèse bibliographique elle porte deux chapitres (chapitre 01 et chapitre 02), et la

## *Introduction générale*

deuxième partie a été consacrée sur la démarche expérimentale, le matériel utilisé et les méthodes employées elle porte deux chapitre (chapitre 03 et chapitre 04).

- Le premier chapitre consiste à faire une étude bibliographique sur les métabolites secondaires des plantes médicinales et l'activité antioxydante et des principes actifs.
- Le deuxième chapitre présente une étude botanique de la plante sélectionnée.
- Au cours du troisième chapitre nous avons cité les méthodes d'extraction par différents solvants organique (eau, éthanol, acétate d'éthyle) cette étape est suivie par le dosage des polyphénols dans la plante, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant une méthode classique, qui est la méthode du test DPPH.
- Le quatrième chapitre portera sur l'exploitation des résultats et la discussion.

Enfin, une conclusion générale qui est l'ensemble des résultats obtenu et les perspectives proposées pour pouvoir compléter cette étude.

## **CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES**

### **I-Définition d'une plante médicinale :**

Une plante médicinale c'est une plante qui possède des propriétés médicamenteuses, utilisé comme une matière première naturelle dans la fabrication des médicaments [6].

### **II- Phytothérapie :**

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées ou des espèces sauvages. Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, où Sous forme de teinture, poudre totale, extraits, etc. [6].

### **III- Utilisation des plantes en médecine traditionnelle :**

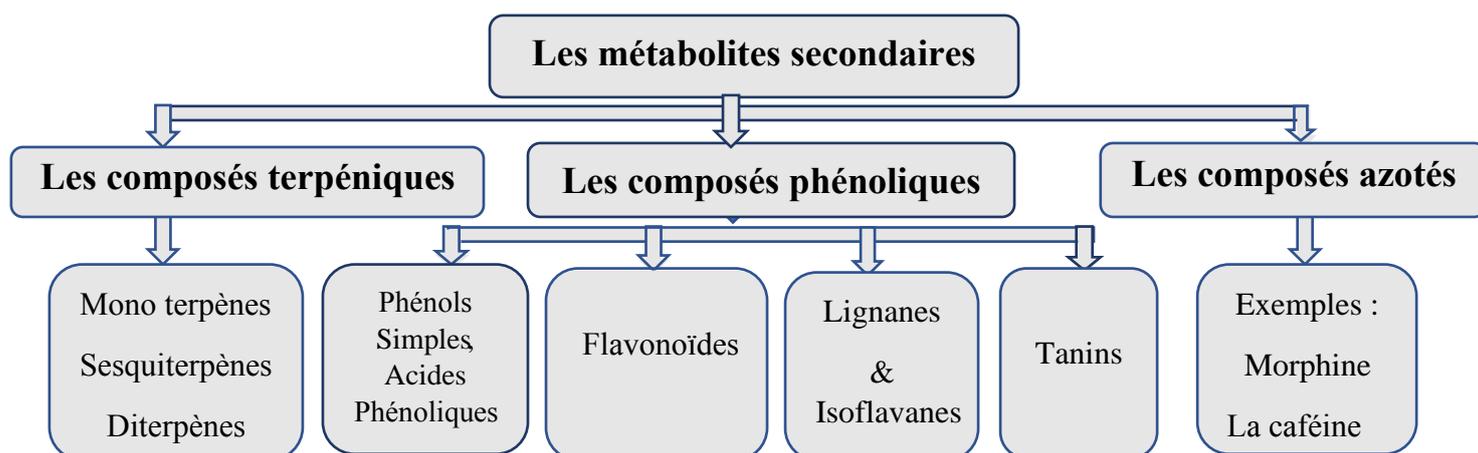
En médecine traditionnelle, il était courant d'utiliser des plantes comme remèdes, car les humains ont toujours utilisé des éléments de leur environnement. Aujourd'hui, de nombreux travaux dans le domaine de l'ethnopharmacologie nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle sont efficaces pour traiter de nombreuses maladies, en plus d'être des plantes non toxiques [7].

### **IV- Les métabolites secondaires des plantes :**

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » sont des molécules relativement complexes dont la signification biologique. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites secondaires sont des éléments essentiels pour la coévolution des plantes avec des organismes, ainsi que des pollinisateurs et des diffuseurs. Ces différentes relations ont abouti à une grande diversité de composés secondaires [8,9].

#### **IV-1- Classification des métabolites secondaires :**

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs groupes : parmi ces derniers, les composés phénoliques (les polyphénols), les composés azotés (les alcaloïdes), et les terpènes (trapénoïdes). Chacune de ces classes contient une très grande variété de composés qui ont un très large éventail d'activités en biologie humaine (**Figure 01**) [8].



**Figure 01** : Classes des métabolites secondaires

#### IV-1-1- Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel il est directement lié au moins à un groupement hydroxyle tels que : éther, ester.....etc. Les polyphénols forment une immense famille de plus de 8000 composés [10,11].

**Tableau 01** : Différentes classes des composés phénoliques [4].

Squelette carbonée	Classe des composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoïques
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénone et les acides phénylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques ; phénylpropènes
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthones
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1)2	Tannins hydrolysables
(C6-C3)2	Lignanes et néolignanes
(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes
(C6-C3) n	Lignanes
(C6) n	Catéchols
(C6-C3-C6) n	Tannins condensés

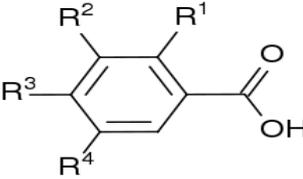
#### IV-1-1-1 Les phénols simples ou acides phénoliques :

Les phénols simples sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucin...). Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique [8].

##### ➤ Les dérivés de l'acides hydroxybenzoïques :

Ils sont composés d'un noyau benzénique et présentent une structure en (C6-C1) [10].

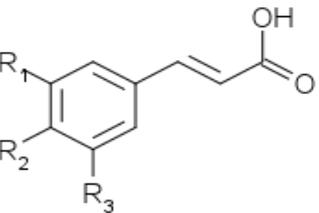
**Tableau 02 :** Dérivés de l'acides hydroxybenzoïques [10].

	<b>R1=R2=R3=R4=H</b>	<b>Acides benzoïques</b>
	<b>R1=R2=R4=H ; R=OH</b>	<b>Acide p-hydroxy benzoïque</b>
	<b>R1=R4=H ; R2=R3=OH</b>	<b>Acide protocatéchinique</b>
	<b>R1=H ; R2=R3=R4=OH</b>	<b>Acide gallique</b>
	<b>R1=H ; R2=R4=OCH3 ; R3=OH</b>	<b>Acide syringique</b>
	<b>R1=OH ; R2=R3=R4=H</b>	<b>Acide salicylique</b>
	<b>R1=R4=OH ; R3=R4=H</b>	<b>Acide gentisique</b>

##### ➤ Les dérivés de l'acide hydroxycinnamiques :

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique [10].

**Tableau 03 :** Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques [10].

	<b>R1=R2=R3=H</b>	<b>Acide cinnalique</b>
	<b>R1=R3=H ; R2=OH</b>	<b>Acide p-cinnamique</b>
	<b>R1=R2=OH ; R3=H</b>	<b>Acide caféique</b>
	<b>R1=OCH3 ; R2=OH ; R3=H</b>	<b>Acide férulique</b>
	<b>R1=R3=OCH3 ; R2=OH</b>	<b>Acide sinapique</b>

#### IV-1-1-2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone (2-phenyl chromone). Il existe plus de 5000 flavonoïdes. Structuellement, les flavonoïdes ont un squelette de base de 15 atomes de carbone combinés en trois cycles appelés A, C et B [11,12].

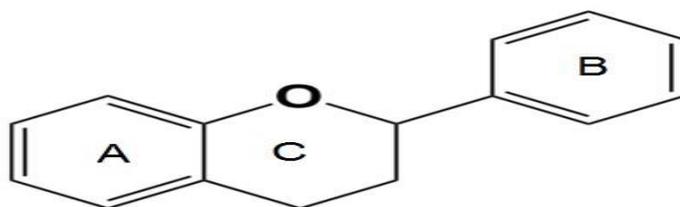


Figure 02 : Structure chimique générale des flavonoïdes [10].

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes [10].

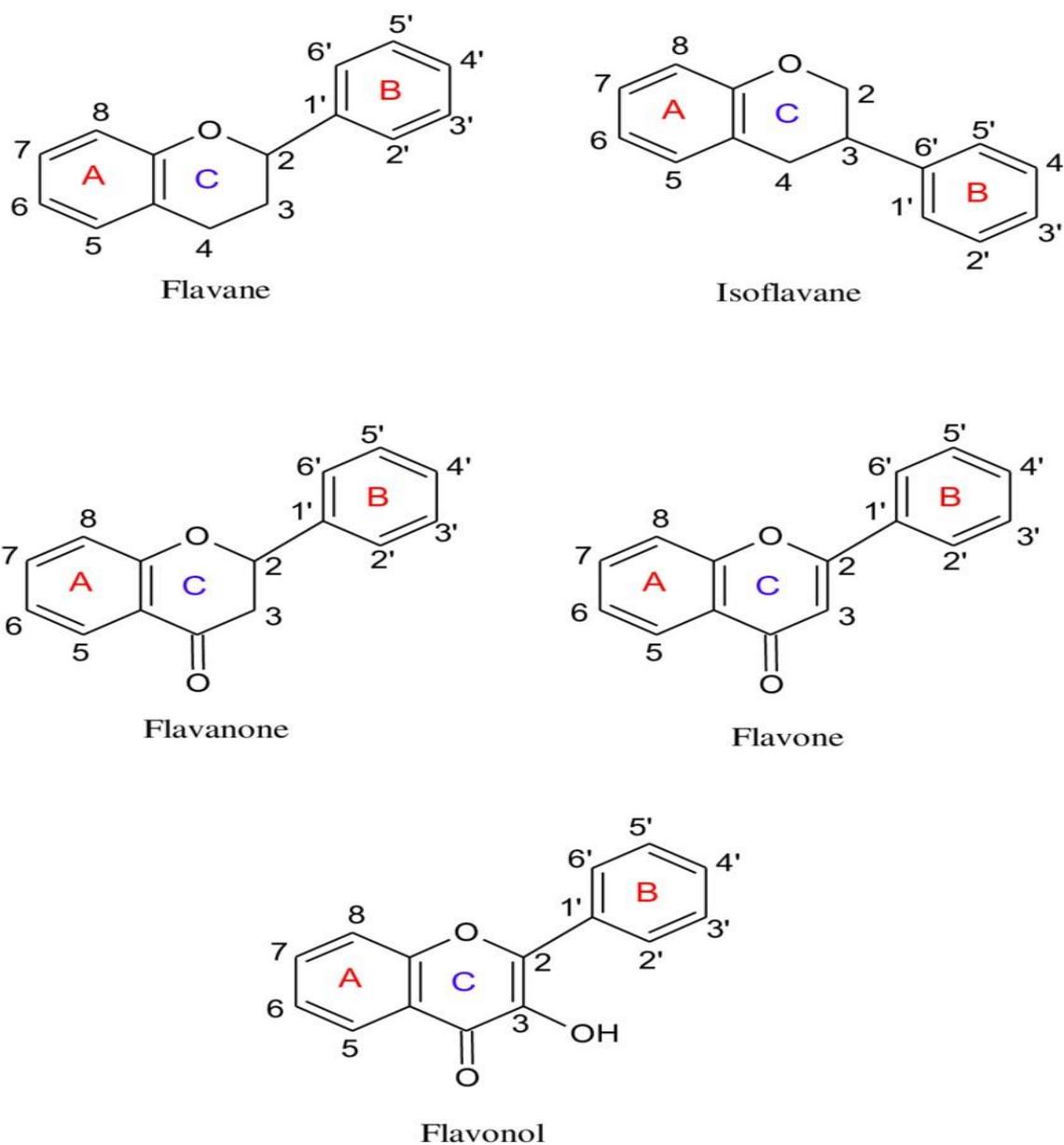


Figure 03 : Différentes classes de flavonoïdes.

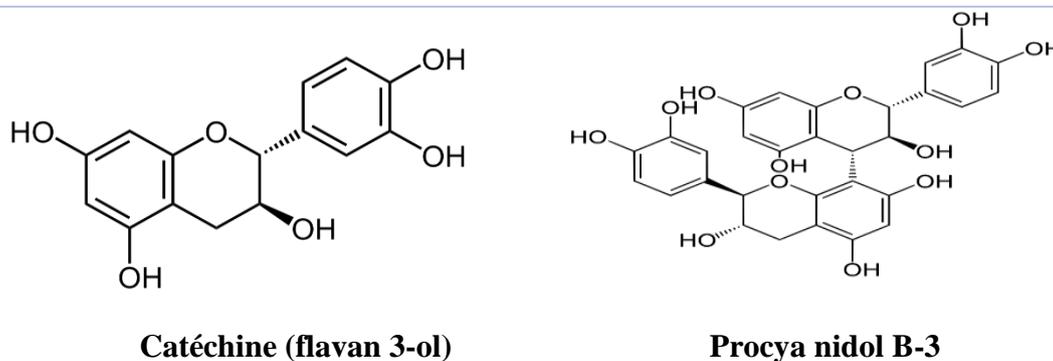
#### IV-1-1-3 Les tanins :

Les tanins sont des composés présentant des cycles aromatiques greffés d'une ou plusieurs hydroxyles libres ou non. Ils sont des polyphénols hydrosolubles de masse molaire comprise entre 500 et 3000 g/mol [13,14].

Les tanins peuvent se diviser en deux classes : les tanins condensés (ou catéchiques) et les tanins hydrolysables (ou pyrogalliques)

##### ➤ Les tanins condensés :

Les tanins condensés sont des polymères d'unités flavan uniques, liées entre elle par des liaisons C4 – C8. Les précurseurs sont des flavan-3 ols (catéchine et épicatechine) et flavan-3,4 diols [13].

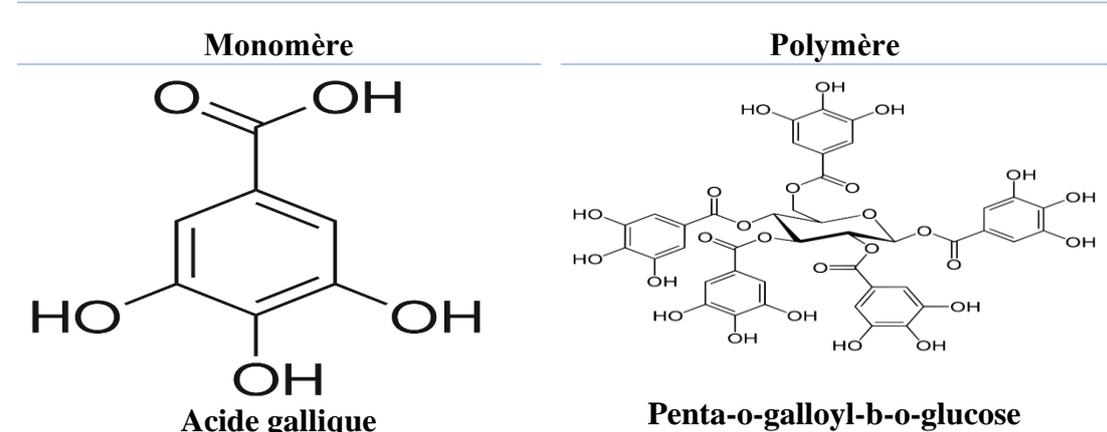


**Figure 04 :** Exemple d'un tanin condensé [13].

##### ➤ Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des esters de sucre simple (glycose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques (acide gallique et acide ellagique), Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes [13,15].

Tableau 04 : Exemple d'un tanin hydrolysable [13].



#### IV-1-1-4 Les lignanes :

Les lignanes sont des composés phénoliques formés de deux unités monolignols liées entre elles par leur carbone central (C8). Ces mêmes unités de base servent aussi aux végétaux pour synthétiser un long polymère [16,17].

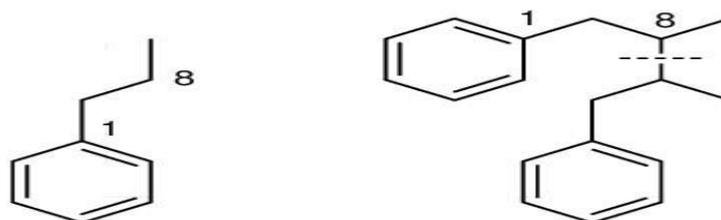


Figure 05 : Structure de base d'un lignane (couplage en C8-C8')

➤ Exemple d'un lignane : dibenzylbutane

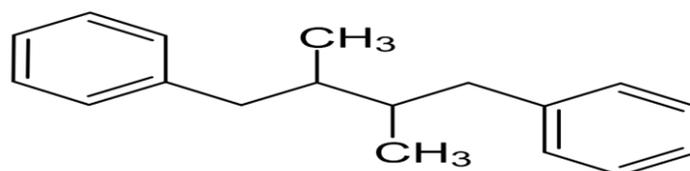


Figure 06 : Dibenzylbutane

#### IV-1-1-5 Les activités biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont une source importante pour les chercheurs de l'industrie pharmaceutique en raison de leurs propriétés biologiques importantes (**Tableau 05**).

**Tableau 05** : Activités biologiques des polyphénols [18].

Polyphénols	Les activités biologique
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydantes
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, dilatoires, antibactériennes, anti carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, antithrombotique, anti-allergique
Tannins galliques et catéchiqes	Antioxydantes
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques

#### IV-1-1-6 Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été découvert en 1965. Il est utilisé pour caractériser divers extraits de plantes. Dans notre laboratoire, nous utilisons ce dosage pour traiter un nombre important d'échantillons à partir d'une petite matière végétale. Le contenu total de polyphénols a été estimé selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique  $H_3PW_{12}O_{40}$  et d'acide phosphomolybdique  $H_3PMo_{12}O_4$ , qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_3$ ) [19].

#### IV-1-2 Les composés azotés (les alcaloïdes) :

Un alcaloïde est une substance organique, basique (goût amer), azotée, généralement hétérocyclique, d'origine végétale (rarement animale), à caractère alcalin et présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Douée de propriétés physiologiques remarquables (toxiques ou thérapeutiques), telle que la morphine, la nicotine, la cocaïne et la quinine [20,21].

#### IV-1-2-1 Classification des alcaloïdes :

##### ➤ Selon leurs structures

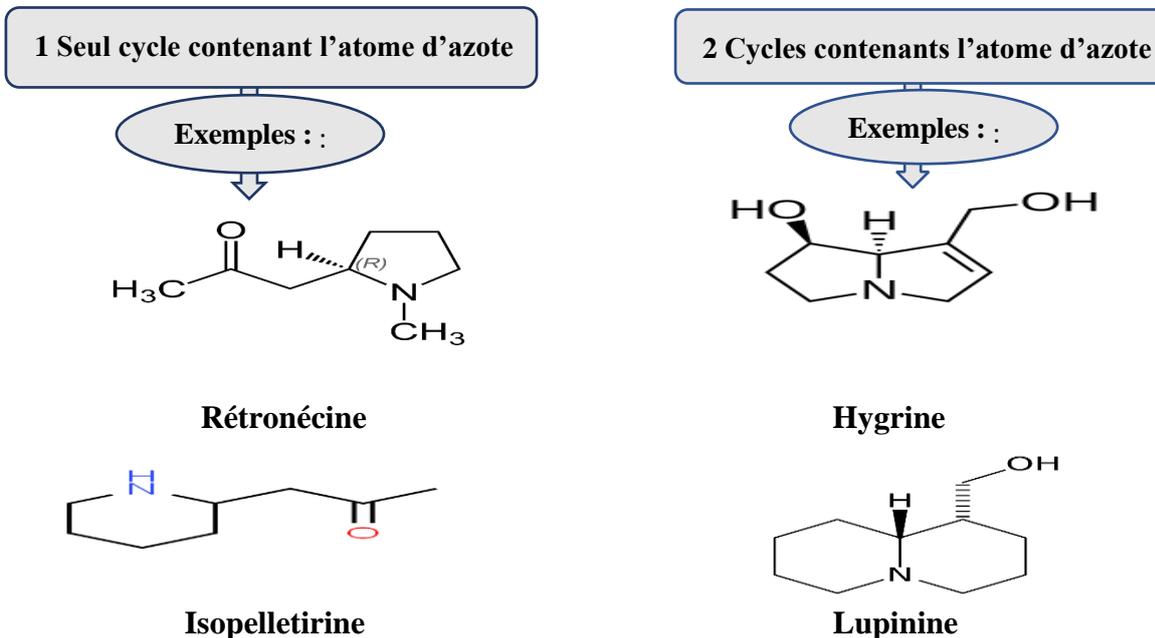


Figure 07 : Quelques exemples des alcaloïdes.

##### ➤ Selon l'origine biosynthétique

###### Les alcaloïdes vrais :

Les alcaloïdes vrais sont dérivés d'acides aminés et ont un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ces substances sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme sel, soit comme N-oxyde [20,21]

###### Les pseudo-alcaloïdes :

Les pseudo-alcaloïdes présentent toutes les propriétés des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés [21].

###### Les proto-alcaloïdes :

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont solubles dans l'eau. Ils sont produits in vivo à partir d'acides aminés [21]

#### IV-1-2-2 Les activités biologiques des alcaloïdes :

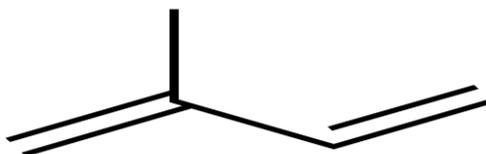
Les alcaloïdes ont de nombreux avantages biologiques et sont souvent utilisés comme sédatifs et narcotiques (**Tableau 06**).

**Tableau 06** : Activités biologiques des alcaloïdes [20,21].

Les activités biologiques	Les alcaloïdes
Antitumoraux	Vincalécoblastine, Vincristine, Taxol, Camptothécine
Antalgiques	Morphine, Codéine
Spasmolytiques	Tubocurarine et Papaverine
Vasodilatateurs	Vincamine et Ajmalicine
Emétiques	Émétine
Antitussifs	Codéine
Antiarythmiques	Quinidine et Ajmaline
Antipaludiques	Quinine

#### IV-1-3 Les composés terpéniques :

Les terpènes sont des composés organiques volatiles largement répandus dans le règne végétal. Le nom terpène dérive de térébenthine c'est une huile essentielle obtenu après distillation de l'oléorésine de pin. La structure des terpènes est issue du couplage d'au moins 2 unités isopréniques à 5 atomes des carbones (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) [22,23].



**Figure 08** : Structure de l'unité isoprénique

#### IV-1-3-1 Règle isoprénique :

Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent [22] :

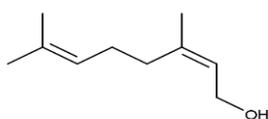
- Monoterpènes ( $C_5 \times 2$ )
- Sesquiterpènes ( $C_5 \times 3$ )
- Diterpènes ( $C_5 \times 4$ )
- Triterpènes ( $C_5 \times 3$ ) + ( $C_5 \times 3$ )
- Tétraterpènes ( $C_5 \times 4$ ) + ( $C_5 \times 4$ )

#### IV-1-3-2 Les différentes classes des terpènes :

##### ➤ Monoterpènes :

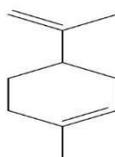
Les monoterpènes contiennent deux molécules d'isoprène ( $C_5H_x$ )<sub>2</sub>, donc 10 atomes de carbones. Ils sont soit linéaires, soit contiennent des cycles.

##### a- Linéaire



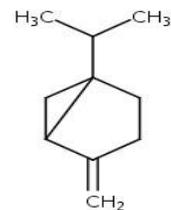
Nérol

##### b- Monocyclique



Limonène

##### c- bicyclique



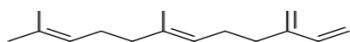
Sabinène

Figure 09 : Quelques exemples des monoterpènes

##### ➤ Sesquiterpènes :

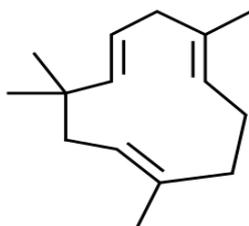
Les sesquiterpènes contiennent trois molécules d'isoprène ( $C_5H_x$ )<sub>3</sub>, donc 15 atomes de carbones. Ils sont soit linéaires, soit contiennent des cycles.

**a-Linéaire**



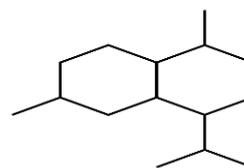
Farnésène

**b- Monocyclique**



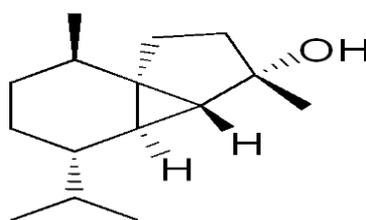
Humulène

**c- Bicyclique**



Cadinène

**d-Tricyclique**

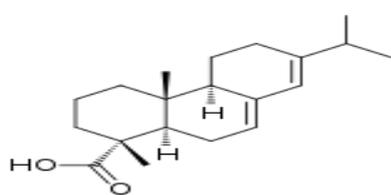


Cubébol

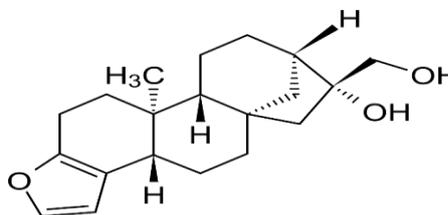
**Figure 10 :** Quelques exemples des sesquiterpènes

➤ **Diterpènes :**

Les diterpènes contiennent quatre molécules d'isoprènes ( $C_5H_8$ )<sub>4</sub>, donc 20 atomes de carbones. Ils sont rarement linéaires et majoritairement cycliques



Acide abiétique



Cafestol

**Figure 11 :** Quelques exemples des diterpènes

#### **IV-1-3-3 Les activités biologiques des terpènes :**

Les terpènes possèdent un grand nombre d'activités biologiques parmi ces dernières [23] :

- Antiseptique
- Antifongique
- Anti-inflammatoire
- Antibactérienne
- Anxiolytique
- Antidépresseur
- Bronchodilatateur
- Antioxydante

#### **IV-2 Les méthodes d'extraction des métabolites secondaires**

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des métabolites secondaires parmi les quelles :

- Extraction par solvant organique
- Hydrodistillation
- L'expression à froid
- Extraction par fluide à l'état supercritique.

#### **V-Les activités biologiques :**

Les plantes médicinales contiennent des composés qui ont de nombreuses activités biologiques, parmi ces activités : activité antioxydante

#### **V-1 Activité antioxydante :**

L'oxydation est un phénomène chimique générée par des radicaux libres, qui provoque la rouille des métaux, le flétrissement des légumes et des fruits et la modification de la couleur et du goût des aliments. Il existe un équilibre parfait entre la production d'ERO et les systèmes de défenses antioxydantes [24,25].

### **V-1-1 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :**

Les (ERO) sont des radicaux libres dérivés de la molécule d'oxygène. Les principaux (ERO) sont : le superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ) et le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ). Il existe également des (ERO) non radicalaires tels que : le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) [26].

#### **V-1-1-1 Définition des radicaux libres :**

Les radicaux libres sont définis comme toute molécule (ou atome) contenant un ou plusieurs électrons célibataires. Cette molécule extrêmement instable, elle attaque la molécule stable la plus proche en arrachant ses électrons pour obtenir sa stabilité. Et la molécule attaquante, à son tour, devient un radical libre [26,27].

### **V-1-2 Les antioxydants :**

#### **V-1-2-1 Définition :**

Les antioxydants sont des molécules présentes à une faible concentration par rapport à un substrat oxydable, et ils sont capables de détruire les espèces réactives de ce substrat, Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces pour former un composé stable [26,27].

#### **V-1-2-2 Type des antioxydants :**

On distingue deux sources d'antioxydants [26] :

##### **🚦 Les antioxydants endogènes :**

Il existe deux types de systèmes de défense : enzymatiques et non enzymatiques

##### **➤ Les antioxydants enzymatiques :**

Le système enzymatique constitué principalement de trois enzymes :

- **La superoxyde dismutase (SOD)** : est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène.



- **La catalase (CAT)** : la catalase transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.



- **La glutathion peroxydase (GPX)** : en présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites (GSH), la glutathion peroxydase transforme le peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau.



➤ **Les antioxydants non enzymatiques :**

Les antioxydants non enzymatiques sont : des antioxydants petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, ubiquinone ...), et des protéines (transferrine, ferritine, ...).

✚ **Les antioxydants exogènes :**

Les antioxydants qui peuvent être renforcées par des apports exogènes sont les médicaments (les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants...), et les antioxydants naturels (vitamine C, vitamine E, flavonoïdes, les composés phénoliques...).

**V-1-3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :**

On peut évaluer l'activité antioxydante des plantes médicinales soit par le dosage de produits, soit en mesurant l'efficacité du composé à piéger les radicaux libres. Parmi les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante : test DPPH, test ABTS, test FRAP

**V-1-3-1 Définition de test DPPH :**

DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) c'est un radical libre possède un électron célibataire sur un atome du pont d'azote. Il a une couleur Violet et une bande d'absorption caractéristique à 517 nm.

Le DPPH évalue l'activité antioxydante à l'aide d'un spectrophotomètre, la couleur de DPPH passe du violet (DPPH•) au jaune (DPPH-H) à 517 nm, Ce changement de couleur s'est produit parce que le DPPH a absorbé l'hydrogène libéré par l'antioxydant [28].

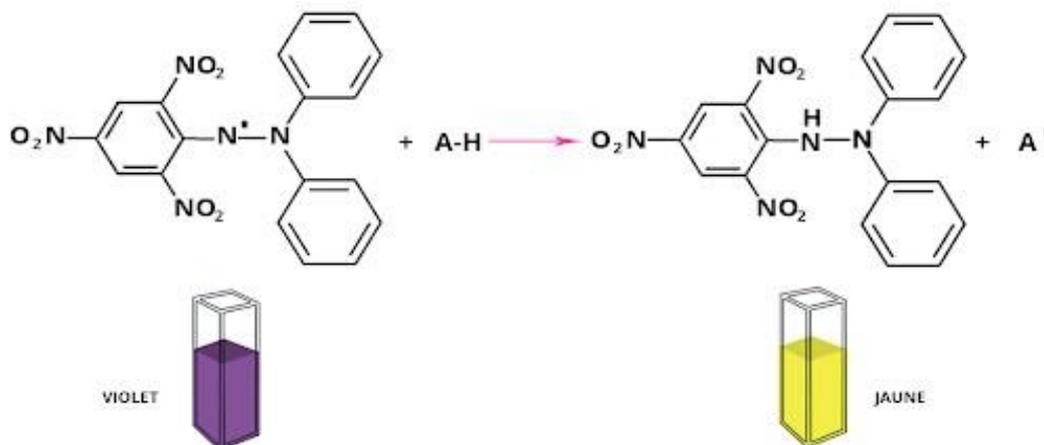


Figure 12 : Réaction de test de test de DPPH

### V-1-3-2 Définition de test ABTS :

Pour effectuer ce test, l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6sulphonique)) incolore est d'abord oxydé avec du persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) pour former le radical cationique  $ABTS^{+\bullet}$  de coloration bleu-vert. L'addition d'un composé antioxydant engendre la réduction du radical  $ABTS^{+\bullet}$  en ABTS. L'évaluation de l'activité antioxydante est déterminée par la décoloration de la solution, laquelle le radical  $ABTS^{+\bullet}$  présente une bande d'absorption caractéristique à 734 nm [28].

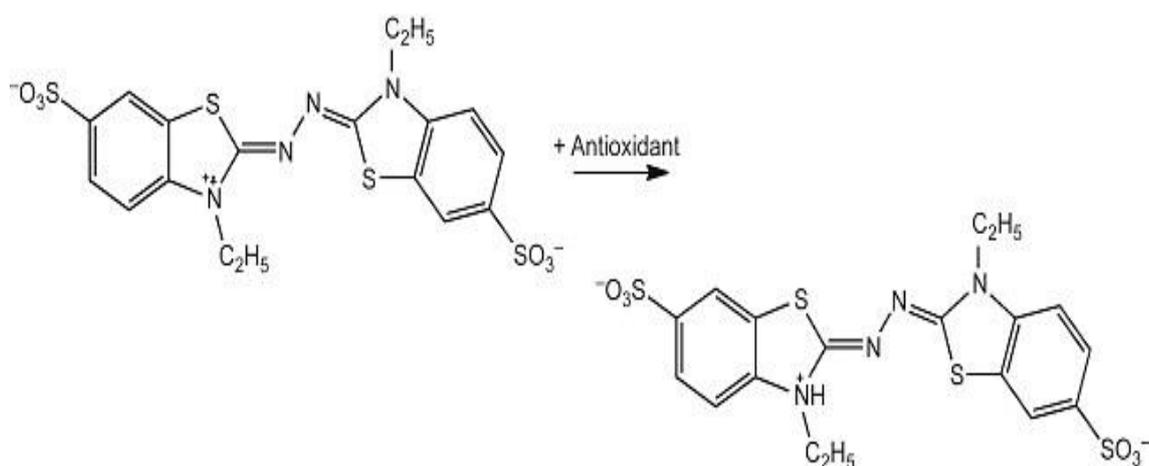


Figure 13 : Réaction de test de ABTS

### V-1-3-3 Définition de test de FRAP :

FRAP (ferric reducing-antioxidant power) c'est un test simple et peu coûteux qui évalue les antioxydants présents dans l'échantillon. Il utilise la capacité réductrice de l'antioxydant à réagir avec le complexe tripyridyltriazine ferrique ( $Fe^{3+}$ -TPTZ) et produit la forme tripyridyltriazine ferreux ( $Fe^{2+}$ -TPTZ) de fer ferreux coloré. Le changement d'absorbance à 600 nm peut alors être comparé à un standard pour déterminer le potentiel antioxydant dans un échantillon donné [28,29].

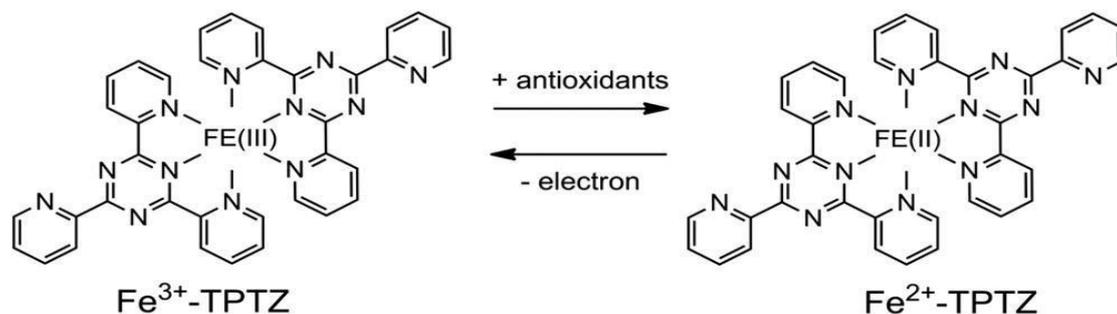


Figure 14 : Réaction de test de FRAP

### V-1-3-4 Définition de la méthode de décoloration du bêta-carotène :

La décoloration du bêta-carotène est une méthode simple et rapide basée sur la mesure spectrophotométrie dans le visible à 470 nm, la décoloration bêta-carotène résultant de son oxydation par les produits de dégradation de l'acide linoléique, cette oxydation est catalysée par la chaleur (50°C), L'ajout d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux retarde la cinétique de décoloration du bêta-carotène [30].

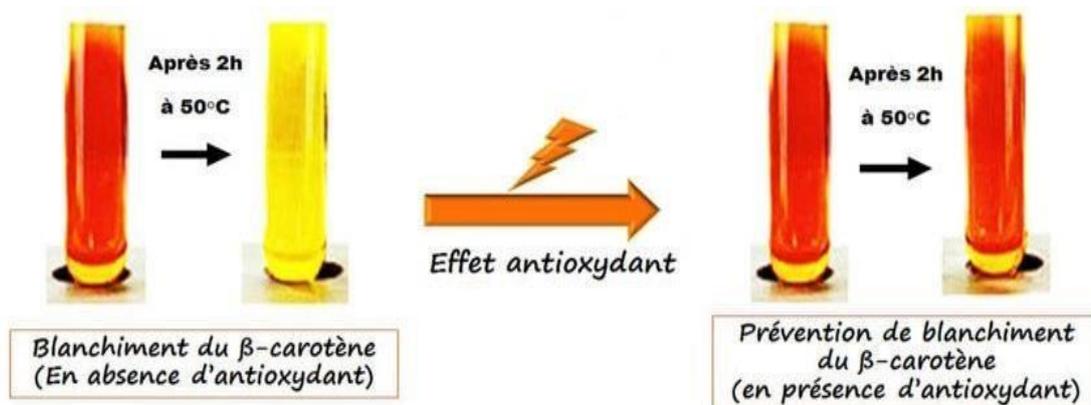


Figure 15 : Test de décoloration du  $\beta$ -carotène.

### V-1-3-5 La méthode ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) :

Le test ORAC a été développé par Pryor et Cao aux Etats-Unis, dans le but d'évaluer la capacité antioxydante des composés présents dans un extrait, Cette méthode mesure la dégradation d'une molécule cible oxydée par les radicaux peroxydes générés à partir du AAPH (2,2'-azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride) à 37°C. La présence d'antioxydants dans l'échantillon va retarder la dégradation de molécule cible [31].

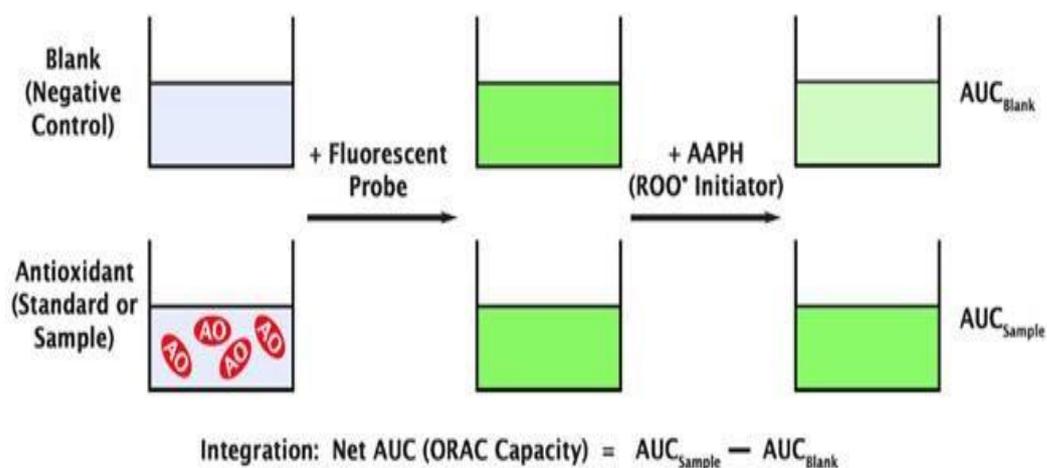


Figure 16 : Test ORAC

### V-1-3-6 Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging activity) :

Cette méthode est basée sur l'absorbance du peroxyde d'hydrogène dans le domaine de l'UV. Lorsque la concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diminue par les composés piègeurs, la valeur d'absorption de ces derniers diminue également à 230 nm, Les échantillons sont également absorbés à cette longueur d'onde, ce qui nécessite une mesure du blanc [32].

## CHAPITRE II : ETUDE BOTANIQUE D'*AMARANTHUS CRUENTUS*

### I- Présentation :

L'amarante (*Amaranthus cruentus* L.) est une plante herbacée à feuilles larges appartenant à la famille des Amaranthaceae, qui comprend plus de 800 espèces. C'est une plante annuelle produit de petites graines et elle à un cycle court et peut atteindre 2 mètres de haut, elle est généralement de couleur verte ou pourpre. Les amarantes poussent rapidement lorsqu'ils sont exposés à la lumière du soleil, à des températures élevées et lorsqu'ils sont plantés dans un sol sec [33].

### II- Morphologie :

**Tige :** *l'amaranthus cruentus* Contient une tige principale de couleur verte ou rougeâtre [34].

**Feuilles :** Elles sont alternes pétiolées, de 5 à 12 cm de long, larges et de forme ovale et elles sont généralement lisses et de couleur verte [34,35].

**Fleurs :** Elles sont petites et denses, poussant au sommet des tiges donnant l'apparence d'une brosse, Leur couleur peut être verte ou violet-rouge [34].

**Graines :** sont des graines lenticulaires, leur petit diamètre varie de 0,9 à 1,7 mm et leur poids varie de 1000 à 3000 Graines/g. Leur couleur est noire ou brune [35].



Figure 17 : *Amaranthus cruentus* L

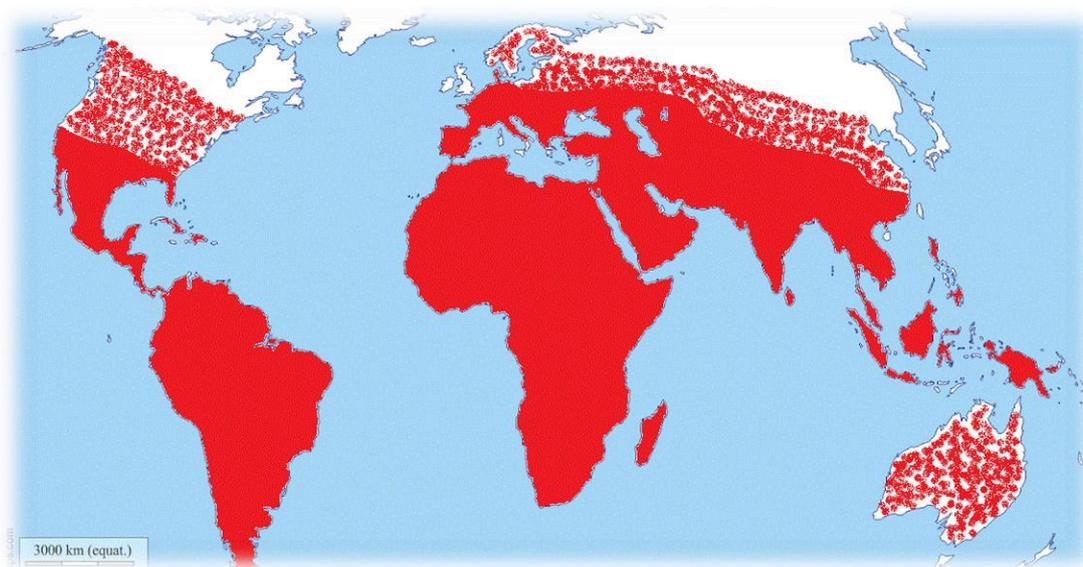
### **III- Historique :**

Pendant plus de 5000 ans et jusqu'à 500 ans, l'amarante était une culture alimentaire importante pour les civilisations inca, aztèque et maya. Sa production a considérablement diminué après la conquête espagnole de l'Amérique, les colonialistes interdisant sa culture car elle était utilisée dans certains rituels religieux [35].

Depuis les années 1970, l'amarante est considérée comme une plante inexploitée et négligée, mais ses remarquables propriétés nutritionnelles ainsi que son adaptation au climat ont suscité l'intérêt des scientifiques au cours des dernières décennies. Aujourd'hui, le souci est une source importante pour l'industrie pharmaceutique [35].

### **IV- Répartition géographique d'*amaranthus creuntus* :**

*L'amaranthus creuntus* pousse dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées, mais surtout en Amérique et en Afrique. On le trouve dans la steppe, Déserts et côtes marines [36].



**Figure 18 :** Répartition géographique d'*amaranthus creuntus*.

### **V- Utilisation :**

*A. cruentus* est utilisé comme nourriture et médicament, et il est également utilisé pour la décoration. Cette plante polyvalente est cultivée pour ses feuilles et pour ses graines.

**V-1- Utilisation d'A. *Creuntus* comme nourriture :**

Les feuilles de *A. creuntus* sont consommées comme légumes et ont le goût des épinards, leurs feuilles sont très populaires en Inde, dans le sud-est de la Chine et dans le Pacifique Sud, et elles constituent une partie importante du régime alimentaire dans certaines régions d'Afrique, au Mexique et dans le sud des États-Unis. Ils utilisent des feuilles d'amarante pour colorer la pâte de maïs [33].

Les graines d'*A. creuntus* sont consommées sous forme de céréales et leur farine est utilisée dans la fabrication de nombreux produits de boulangerie [33].

**V-2- Utilisation d'A. *Creuntus* comme médicament :**

Le *A. creuntus* est réputée comme un réducteur de fièvre et un antipyrétique, ses feuilles sont utilisées dans le traitement de l'eczéma, des troubles menstruels et des coliques, cette plante est utilisée en médecine indienne comme laxatif, diurétique et antipyrétique, et elle est également utilisée pour traiter la bronchite et la lèpre [36].

**V-3- Utilisation d'A. *Creuntus* comme décoration :**

Cette plante est utilisée pour la décoration car ses fleurs poussent dans des épines spectaculaires et ont des couleurs différentes (violet, orange, rouge, vert), c'est ce qui lui donne une belle apparence [35].

**VI- Propriétés nutritionnelles :**

Les graines et les feuilles d'*Amaranthus cruentus* présentent toutes les deux des propriétés nutritionnelles.

**VI- 1-Composition nutritionnelle des feuilles :**

Les feuilles d'*Amaranthus cruentus* contiennent des protéines, des fibres, des lipides, des minéraux, des vitamines, des polyphénols, et des tannins (**Tableau 07**).

**Tableau 07** : Composition nutritionnelle des feuilles [33,35].

<b>Protéines</b>	Méthionine ; lysine ; arginine ; leucine ; aspartate
<b>Minéraux</b>	Ca ;Mg ;Zn ;Na ;K ;P ; Fe
<b>Vitamines</b>	Acide ascorbique (Vitamine C) ; $\beta$ -carotène (Provitamine A) ; Thiamine (Vitamine B1) ; Riboflavine (Vitamine B2) ; Niacine (Vitamine B3)
<b>Polyphénols</b>	Flavonoïdes ; Tanins hydrolysables
<b>Fibres</b>	Les fibres solubles ; les fibres insolubles
<b>Lipides</b>	Acide linoléique ; acide oléique ; acide palmitique

#### VI-2- Composition nutritionnelle des graines :

Les graines d'*Amaranthus cruentus* contiennent des protéines, des fibres, des lipides, des minéraux, des sucres solubles, des vitamines, des polyphénols, et des tannins (**Tableau 08**).

**Tableau 08** : Composition nutritionnelle des graines [33,35].

<b>Protéines</b>	Méthionine ; lysine ; arginine ; leucine ; aspartate
<b>Minéraux</b>	P ; K ; Mg ; Ca ; Na ; Fe ; Zn ; Mn ; Cu
<b>Vitamines</b>	Acide ascorbique (Vitamine C) ; Niacine (Vitamine B3) ; Niacinamide (Vitamine B3) ; Pyridoxine (Vitamine B6) ; Riboflavine (Vitamine B2) ; $\alpha$ -tocophérol (Vitamine E)
<b>Sucres solubles</b>	Glucose ; Galactose ; Fructose ; Maltose ; Saccharose ; Raffinose ; Stachyose ; Inositol
<b>Polyphénols</b>	Flavonoïdes ; Tanins hydrolysables
<b>Fibres</b>	Les fibres solubles ; les fibres insolubles
<b>Lipides</b>	Acide Palmitique ; Acide Stéarique ; Acide Oléique ; Acide Linoléique ; Acide linoléique

## CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

### I- Matériel végétale :

Les différentes parties d'*Amaranthus creuntus* ont été récoltées à partir de la région de Nedroma la wilaya de Tlemcen à l'ouest Algérien.



Figure 19 : Carte géographique de la région Nedroma.

### I-1 Séchage et broyage :

La plante a été récoltée au cours de mois de septembre 2020, puis elle est séchée à l'ombre et à température ambiante pendant une vingtaine de jours. La plante sèche est ensuite finement broyée et conservée dans une bouteille de verre jusqu'au jour de leur utilisation.



Plante séchée

Plante broyée

conservation de la plante

Figure 20 : Préparation d'*A. Creuntus*

## II- Préparation des extraits :

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

#### II-1-1 Principe :

Cette technologie permet d'extraire les composants des matières végétales avec des solvants. Le montage utilisé comprend un ballon contenant du solvant et du matériel végétal, surmonté d'un réfrigérant. Le mélange a été évaporé par chauffage, condensé dans le réfrigérant et retourne dans le ballon [37].

#### II-1-2 Protocole :

Les extractions ont été réalisées avec un système de trois solvants à polarité croissante : acétate d'éthyle, l'éthanol, l'eau

- **Extrait d'acétate d'éthyle** : Nous avons pris 10 g de matière sèche et 150 ml d'acétate d'éthyle. On chauffe le mélange à 180 ° C sous agitation pendant 3 heures.
- **Extrait éthanolique** : Nous avons pris 10 g de matière sèche et 150 ml d'éthanol. On chauffe le mélange à 180 ° C sous agitation pendant 3 heures.
- **Extrait aqueux** : Nous avons pris 10 g de matière sèche et 150 ml d'eau distillée. On chauffe le mélange à 100 ° C sous agitation pendant 3 heures.



Extrait aqueux

Extrait éthanolique

Extrait d'acétate  
d'éthyle

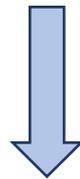
**Figure 21** : Préparation des extraits

- une fois le chauffage est terminé nous filtrons les solutions.



Figure 22 : Filtration des extraits

- Ensuite, les extraits ont été évaporés dans des boîtes de pétri en verre dans l'étuve à 45°C.



Les extraits Après évaporation

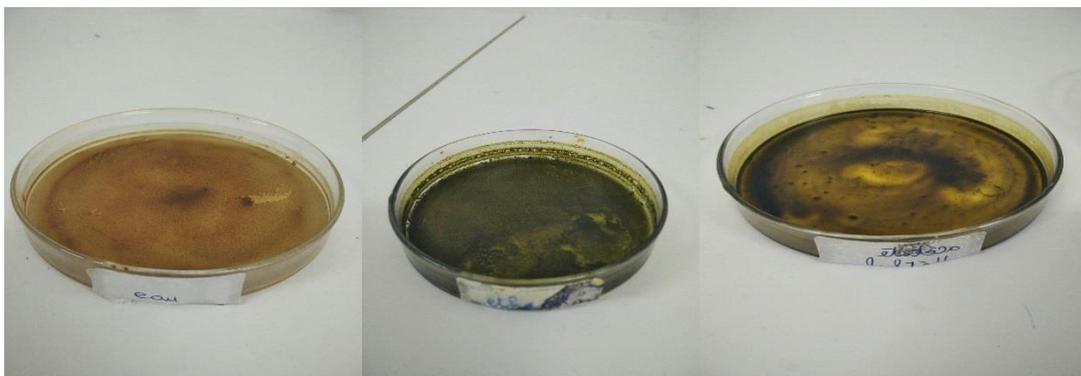


Figure 23 : Evaporation des extraits

### **II-1-3 Calcule 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.

### **III- Dosage des polyphénols :**

#### **III-1 Principe :**

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode adaptée de Singleton et Ross en 1965 avec le réactif Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ), Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes de tungstène bleu et de molybdène. La couleur obtenue, qui a une absorption à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [38,19].

#### **III-2 Protocole :**

- Un volume de 200  $\mu\text{l}$  de chaque extrait est mélangé avec 1 ml du réactif FolinCiocalteu.
- Après 5 min, ajouter 800  $\mu\text{l}$  de la solution de carbonate de sodium à 7.5% Tout est agité par un vortex.
- Le mélange obtenu est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière Pendant 1heures.
- La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations.

Les polyphénols sont déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué.

### Chapitre III : matériels et méthodes

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

$$C = c \cdot V/m$$

**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 la plante (g).



Figure 24 : Dosage des polyphénols

#### IV- Dosage des flavonoïdes :

##### IV-1 Principe :

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée selon la méthode décrite par Marinova. C'est une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm [30,39].

##### IV-2 Protocole :

Dans un tube à hémolyse en verre, 400  $\mu$ l d'extrait, ou d'étalon, ou de l'eau distillée pour le témoin, ont été ajoutés à 120  $\mu$ l de NaNO<sub>2</sub> à 5 %. Après 5 minutes, 120  $\mu$ l d'AlCl<sub>3</sub> à 10 % ont été additionnés, et le milieu est mélangé vigoureusement. Après 6 minutes, un volume de 800  $\mu$ l de NaOH à 1 M a été ajouté au milieu.

L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm contre le témoin. Une solution méthanolique de quercétine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la

### Chapitre III : matériels et méthodes

solution mère à différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

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

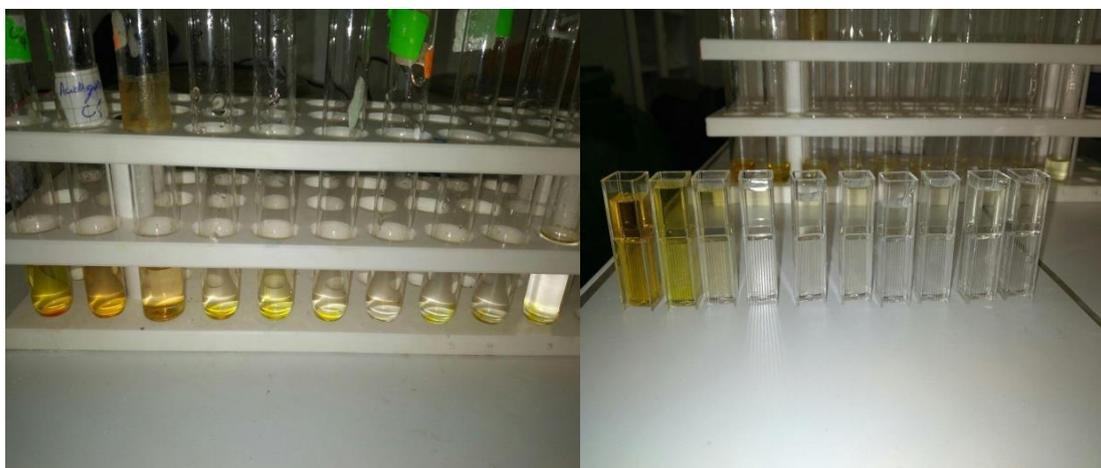
$$C' = c' \cdot V' / m'$$

**C'** : Contenu total des polyphénols (mg équivalent quercétine/g d'extrait plante).

**c'** : Concentration de quercétine (mg/ml).

**V'** : Volume de l'extrait (ml).

**m'** : Masse de la plante (g).



**Figure 25** : Dosage des flavonoïdes.

#### V- Evaluation de l'activité antioxydant :

##### V-1 Test de piégeage du radical libre DPPH :

###### V-1-1 Principe :

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) c'est un radical stable de couleur violet. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leur capacité à lui donner un atome d'hydrogène. La réduction de DPPH est déterminée par un changement de couleur du violet au jaune. Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie [30,40].

**V-1-2 Protocole :**

1 ml de 0,004% solution de DPPH dans l'éthanol est mélangé avec un volume égal d'extraits d'essai à différentes concentrations et maintenu dans l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (U.V/VIS Spectrophotomètre, Optizen POP).

Le contrôle est composé de 1ml de la solution éthanolique au DPPH et de 1 ml d'éthanol.

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

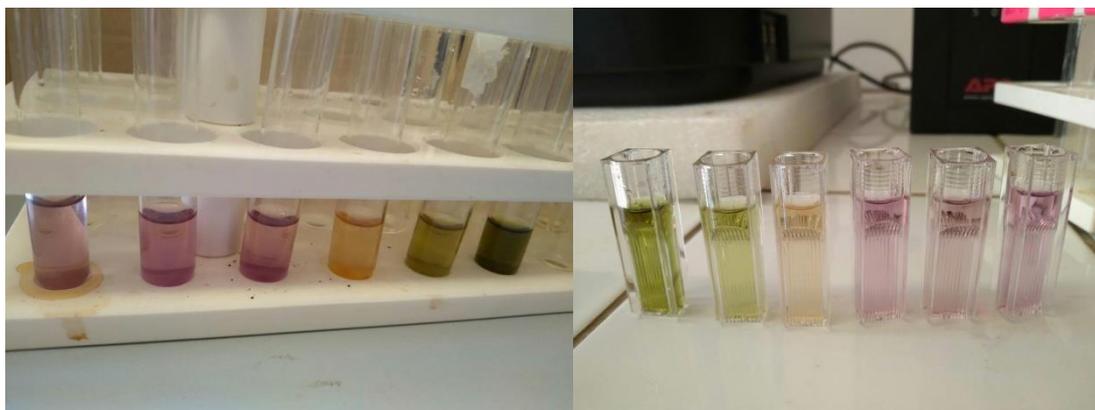
$$\% \text{ Inhibition} = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

Avec :

**AC** : Absorbance du contrôle

**AT** : Absorbance du test effectué.

**Calcul des IC50** : IC50 ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•.



**Figure 26** : Test DPPH

## **V-2- Test de la réduction du fer FRAP :**

### **V-2-1 Principe :**

L'évaluation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe de fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du ferricyanure en fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ), en présence d'antioxydants réducteurs dont la couleur est verte proportionnellement au pouvoir réducteur des extraits [41].

### **V-2-2 Protocole :**

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à  $50^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes ensuite, 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. On prend 2,5 ml du surnageant sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc.



**Figure 27 : Test de FRAP**

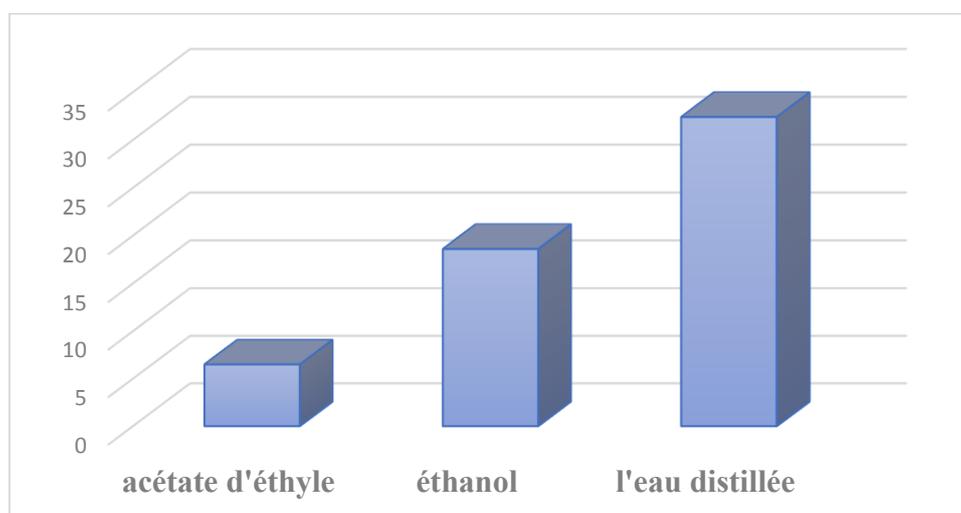
## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

### I- Les rendements des extraits :

Différents extraits d'*amaranthus creuntus* ont été obtenus en utilisant le montage à reflux. Trois solvants de polarité croissante ont été utilisés : Acétate d'éthyle, Éthanol, L'eau distillée. Les différents rendements de l'extraction obtenus en pourcentage (%), ainsi que la couleur, l'aspect des trois extraits sont représentés dans le tableau ci-dessus (Tableau 09).

Tableau 09 : Caractéristiques des extraits d'*A. creuntus*.

Extraits	Aspect physique	Couleur	Rendement en %
Acétate d'éthyle	Pâteux	Vert	6.5
Ethanoïque	Pâteux	Vert foncé	18.6
Aqueux	Solide	Marron	32.4



Histogramme 01 : Rendement des différents extraits d'*A. creuntus*

D'après l'histogramme 01, nous constatons que l'extrait aqueux d'*A. creuntus* enregistre un fort rendement de l'ordre de 32.4%, suivi par celui de l'éthanol (18.6%), nous remarquons aussi que l'extrait d'acétate d'éthyle présente un faible rendement avec un pourcentage de 6.5%.

## II- Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols est déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'analyse quantitative est déterminée à partir l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de la matière sèche (Figure 28).

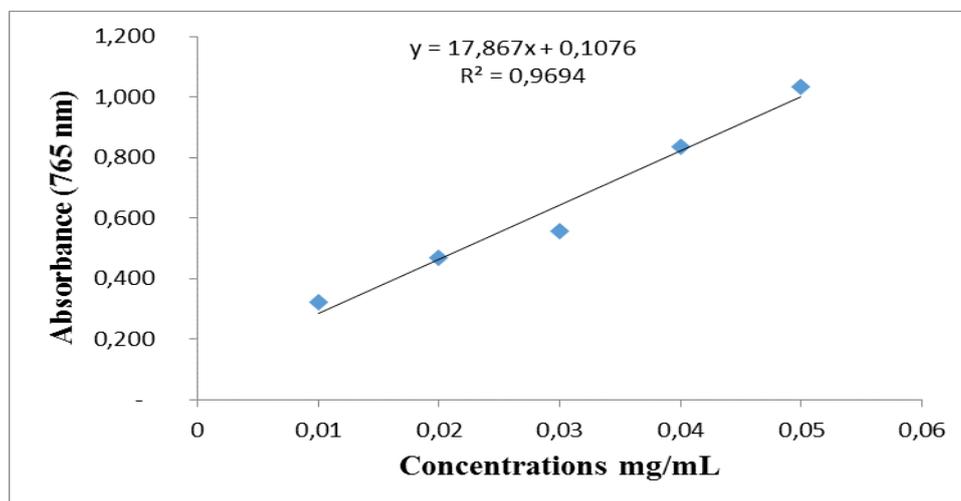
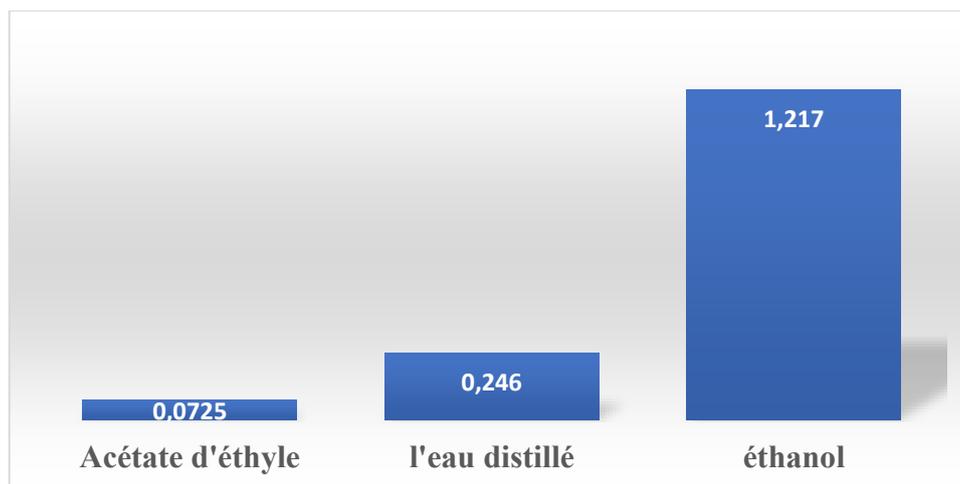


Figure 28 : Courbe étalonnage d'acide gallique.

Les résultats du dosage des composés phénoliques sont représentés dans (Tableau 10).

Tableau 10 : Résultat du dosage des polyphénols totaux des extraits.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux (mg équivalent d'acide gallique par g /g)
Extrait aqueux	0.246
Extrait éthanolique	1.217
Extrait d'acétate d'éthyle	0.0725

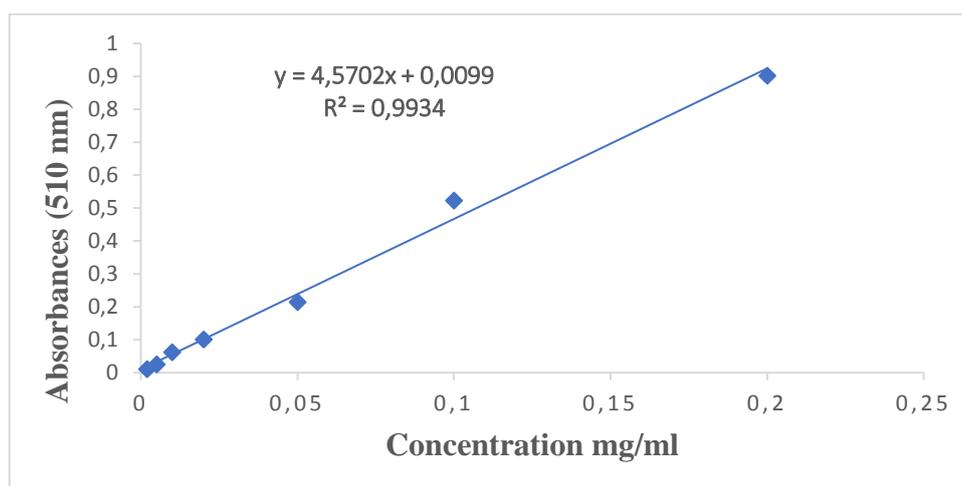


**Histogramme 02 :** Taux des polyphénols dans les extraits.

L'extrait éthanolique d'*A. creuntus* possède une teneur plus élevée en phénols totaux de l'ordre 1.217 mg EAG /g MS. Cette valeur est suivie par l'extrait aqueux (0.246 mg EAG /g MS), et celle de l'extrait d'acétate d'éthyle 0.0725 mg EAG /g MS)

### III- Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode de Marinova. La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Les complexes produits, de couleur jaune, absorbent dans le visible entre 420-510 nm Le quercétine est utilisé comme standard (**Figure 29**).

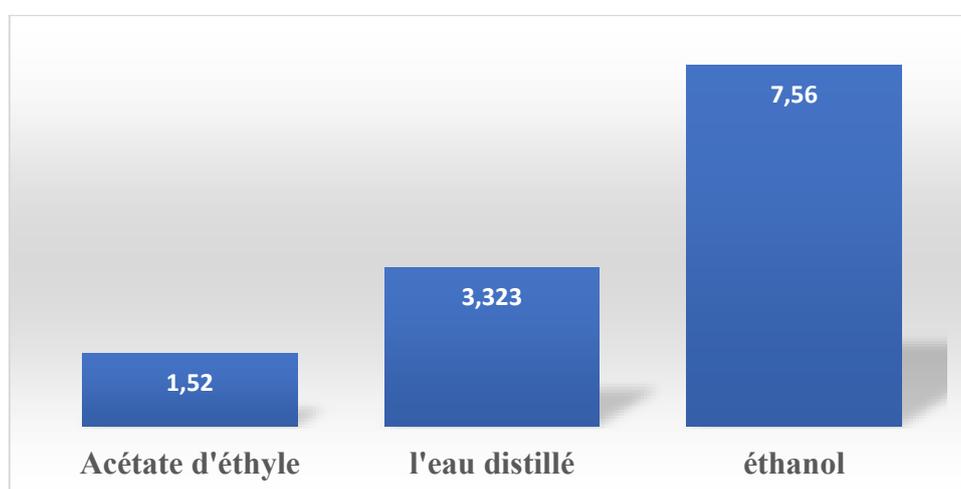


**Figure 29 :** Courbe étalonnage de quercétine.

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés dans (Tableau 11). La teneur en flavonoïdes de chaque extrait de la plante est exprimée en milligramme équivalent en quercétine par gramme de l'extrait sec.

**Tableau 11** : Résultat du dosage des flavonoïdes totaux des extraits.

Extraits	Teneur en flavonoïdes totaux (mgEqQ/g)
Extrait aqueux	3.323
Extrait éthanolique	7.56
Extrait d'acétate d'éthyle	1.52



**Histogramme 03** : Taux des flavonoïdes dans les extraits.

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique a des flavonoïdes plus élevés que l'extrait aqueux. Cependant, Le contenu des flavonoïdes trouvés dans l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux étaient respectivement (7.56 et 3.323 mg EQ /g MS.)

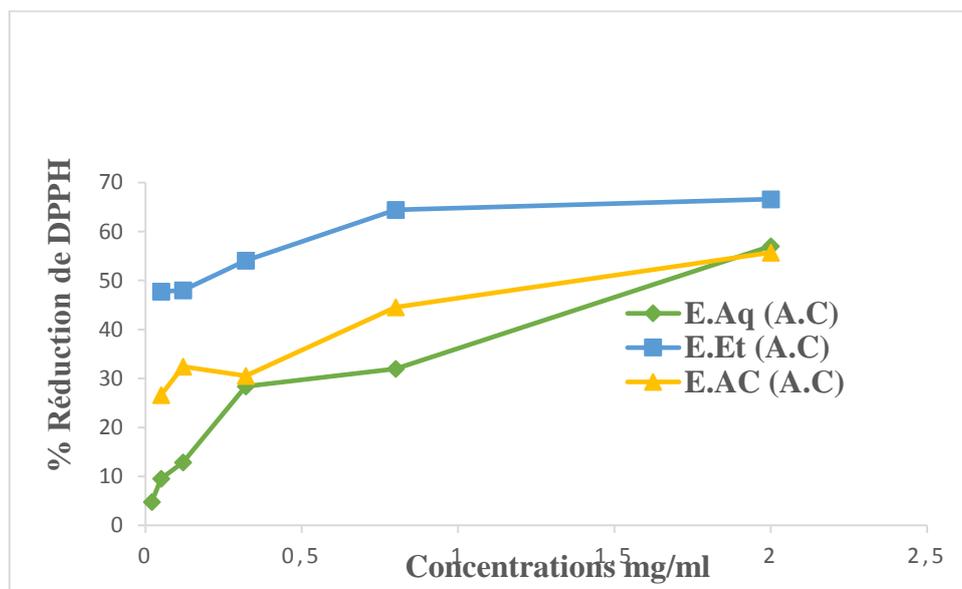
#### IV- Evaluation de l'activité antioxydant :

##### IV-1- Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits était réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényle-1-picrylhydrazil). L'évaluation de l'activité anti-radicalaire doit être interprétée avec précaution du fait que l'absorbance du DPPH entre 515 et 520 nm diminue sous l'action de la lumière, de l'oxygène, en fonction du pH et le type du solvant additionné à l'antioxydant.

#### Chapitre IV : Résultats et Discussion

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits. Les figures suivantes rapportent les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées de chaque extrait. Nous avons remarqué que la plus faible activité radicalaire (57.2 et 52%) a été exposée par l'extrait aqueux et l'extrait d'acétate d'éthyle de 2 mg/mL, tandis que la plus forte activité (66.82 %) a été exposée par l'extrait éthanolique à une concentration de 0.8 mg/mL.

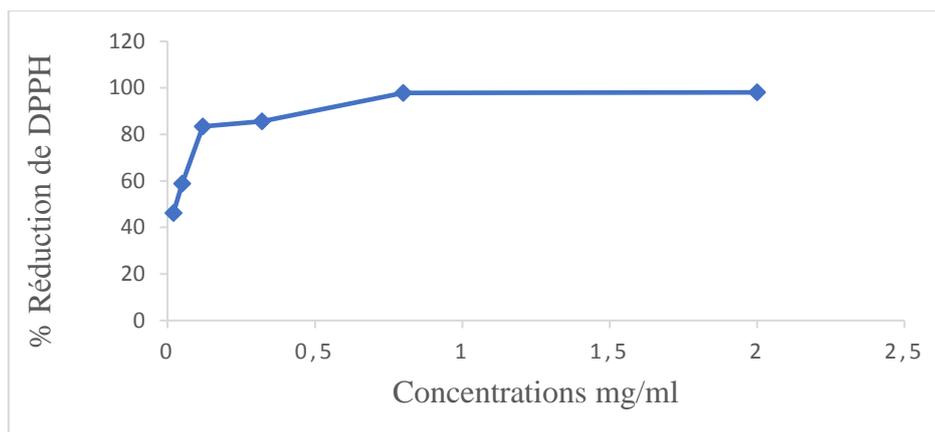


**Figure 30 :** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits.

**E. Aq (A.C) :** Extrait aqueux *d'amaranthus cruentus*

**E. ET (A.C) :** Extrait éthanolique *d'amaranthus cruentus*

**E. AC (A.C) :** Extrait d'acétate d'éthyle *d'amaranthus cruentus*

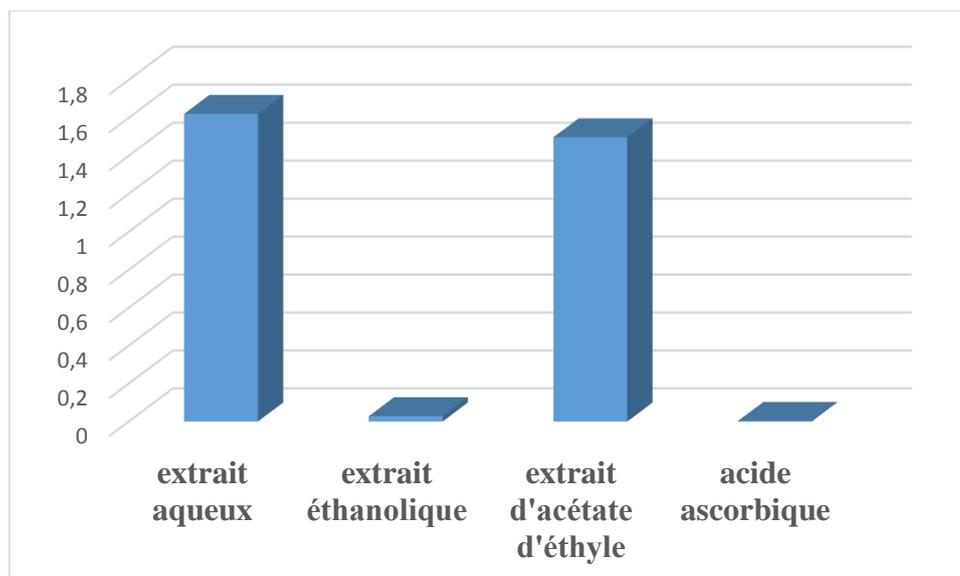


**Figure 31** : Variation de l'inhibition du DPPH en Fonction de la concentration d'acide ascorbique

L'activité DPPH est généralement présentée par la valeur IC<sub>50</sub> (Concentration de l'inhibiteur causant 50% d'inhibition) ; calculée pour chaque extrait, elle permet de les classer entre eux. Plus l'IC<sub>50</sub> est petite, plus la molécule est antioxydante. À partir des graphes représentés dans les figures 25 et 26 nous avons déterminé les IC<sub>50</sub> des extraits *d'amaranthus creuntus*. Les valeurs des IC<sub>50</sub> sont représentées dans le tableau au dessus et dans Histogramme 04.

**Tableau 12** : Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits *d'amaranthus creuntus*.

Extraits	IC 50 (mg/ml)
Extrait d'eau distillé	1.621
Extrait éthanolique	0.028
Extrait d'acétate d'éthyle	1.498
Acide ascorbique	0.003

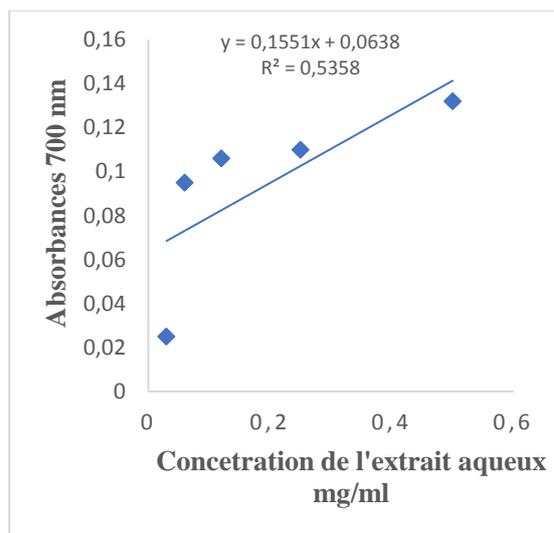


**Histogramme 04 :** Valeurs des IC50 des extraits *d'amaranthus creuntus*.

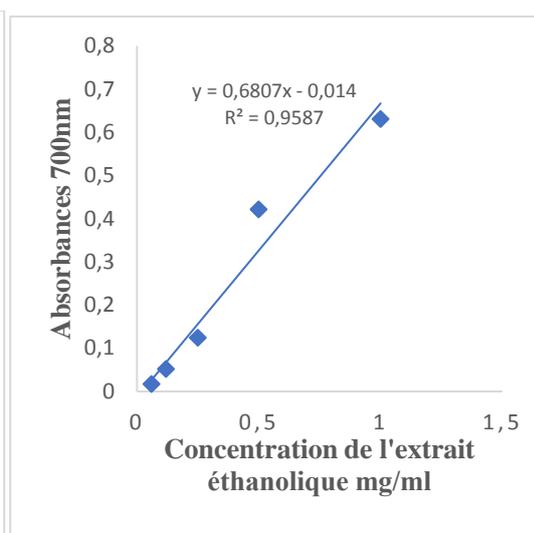
Les résultats révèlent que tous les extraits testés ainsi que l'acide ascorbique pris comme référence, sont des antiradicalaires. Cependant l'extrait éthanolique a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée avec IC50 de 0.028 mg/ml suivie par l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux avec (IC50 respectivement : 1.621 et 1.498 mg/ml)

#### **IV- Test de la réduction du fer FRAP :**

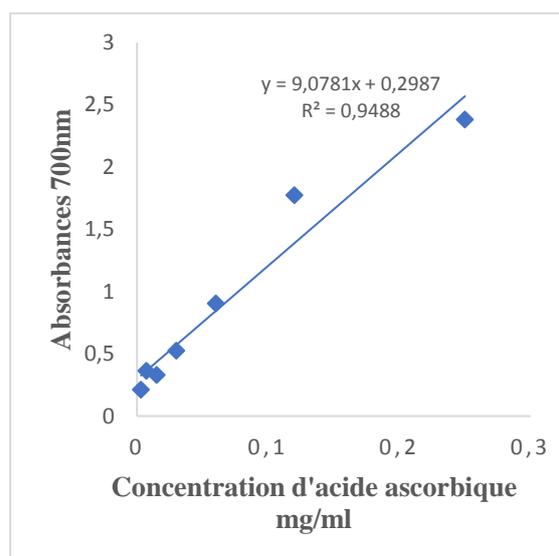
Les résultats du test de réduction du fer (FRAP) obtenus sont exprimés en absorbances en fonction des concentrations des extraits. Les figures suivantes rapportent les absorbances en fonction des concentrations utilisées de chaque extrait.



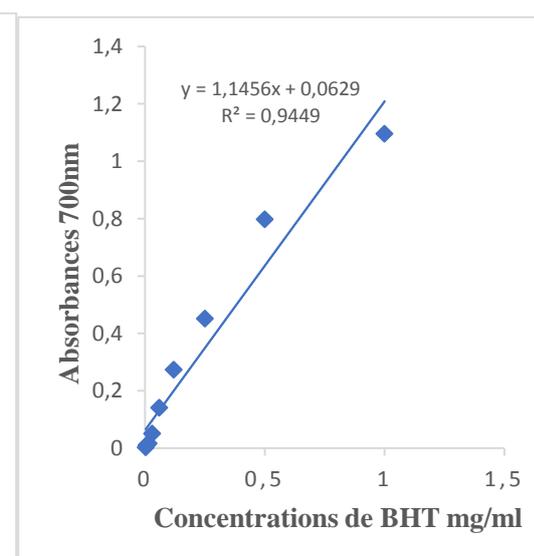
**Figure 32 :** Absorbance en fonction des Concentrations d'extrait aqueux



**Figure 33 :** Absorbance en fonction des Concentrations d'extrait éthanolique



**Figure 34 :** Absorbance en fonction des Concentrations d'acide ascorbique



**Figure 35 :** Absorbance en fonction des concentrations de BHT

Les résultats obtenus par la méthode FRAP confirment que le grand potentiel antioxydant des extraits d'*amaranthus creuntus* a une bonne affinité avec les ions  $Fe^{3+}$ . C'est La capacité à réduire les radicaux libres par l'extrait aqueux est due à ses propriétés chimiques riches en composés phénoliques. Ces composés, grâce à leurs propriétés oxydoréductrices, Ils agissent comme agents réducteurs, donneurs uniques d'hydrogène et d'oxygène.

#### *Chapitre IV : Résultats et Discussion*

En fonction de ces résultats, il existe une relation entre la teneur totale en phénol et l'activité antioxydante. En effet, il est extrêmement important de souligner qu'il existe une corrélation positive entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composés phénoliques dans les extraits.

## CONCLUSION GENERALE

L'Algérie possède un important patrimoine botanique par sa richesse et sa biodiversité dans les zones côtières, les chaînes de montagnes, les hauts plateaux, les steppes et les oasis sahariennes. Cette richesse botanique est grande et comprend des milliers d'espèces de plantes qui offrent divers intérêts médicaux et autres. Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs.

Notre travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante médicinale *Amaranthus creuntus* à la famille Amaranthaceae. Cette famille est connue par sa richesse en divers métabolites secondaires d'un grand intérêt biologique tels que les polyphénols.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui sont différentes en fonction des solvants utilisés dans l'extraction, les résultats montrent que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé et cela due à la polarité de l'eau.

La teneur en polyphénols totaux pour les trois extraits a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique d'*A. Creuntus* contient la plus grande quantité de composé phénolique Par rapport à l'extrait aqueux et l'extrait d'acétate d'éthyle, Cela indique que l'éthanol est le meilleur solvant pour extraire les polyphénols d'*A. creuntus*. Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), les résultats montrent que L'extrait éthanolique contient la plus grande quantité des flavonoïdes, C'est donc aussi le meilleur solvant pour extraire les flavonoïdes d'*A. Creuntus*.

L'activité antioxydante des extraits d'*A. Creuntus* été évaluée par méthodes de piégeage de radical libre DPPH, et la méthode de la réduction du fer FRAP. Les résultats ont montré que les trois extraits possèdent une activité antioxydante très importante, grâce à leur constituants (polyphénols).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Lahsissene, H., A. Kahouadji, et al. (2009). "Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental)." *Lejeunia*, revue de botanique.
2. Alkhatib, R. (2010). Etude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeochytris* Korovin et *Ferula lycia* Boiss (Apiacées), Université du Droit et de la Santé-Lille II.
3. AREF, M. and M. HEDED (2015). "Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf)."
4. ATTOU, A. (2011). "Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent."
5. Dro, B., D. Soro, et al. (2013). "Evaluation de l'abondance de plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le Nord de la Côte d'Ivoire." *Journal of Animal & Plant Sciences* 17(3): 2631-2646.
6. MOHAMMEDI, Z. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie.
7. Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae).
8. Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
9. Bermudez-Torres, K., L. Legal, et al. (2013). "Exploitation des métabolites secondaires de la plante hôte." *Interactions insectes-plantes*: 279.
10. BELLOUM, I. and N. ABDESSATTAR (2019). "Etude phytochimique et l'effet antioxydant de l'extrait méthanolique de l'espèce *Solanum nigrum* L."

## **Références Bibliographiques**

11. Daas Amiour, S. (2009). Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) Et évaluation in vitro de leur activité biologique, Université de Batna 2.
12. Pérez Trueba, G. (2003). "Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes." *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 22(1): 0-0.
13. Zimmer, N. and R. Cordesse (1996). "Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants." *Productions animales* 9(3): 167-179.
14. Doat, J. (1978). "Les tanins dans les bois tropicaux." *BOIS & FORETS DES TROPIQUES* 182: 37-54.
15. Rira, M. (2019). Les tanins hydrolysables et condensés: une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical, Université Clermont Auvergne.
16. Tribalat, M.-A. (2016). "Étude métabolomique de lin (*Linum usitatissimum*) mutant pour la voie de biosynthèse des lignanes."
17. Lainé, E., C. Hano, et al. (2007). "Les lignanes phytoestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus?" *Phytothérapie* 5(3): 121-128.
18. Diallo, A. (2005). "Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd.(Myrtaceae)." PhD. of the University Bamako, Mali: 38-47.
19. Boizot, N. and J.-P. Charpentier (2006). "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." *Cahier des Techniques de l'INRA*: 79-82.
20. Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
21. Belila, S. and Z. Ounis (2018). "Contribution à l'étude phytochimique et biologique des alcaloïdes de la partie aérienne de *Pergularia tomentosa* L."
22. Lamarti, A., A. Badoc, et al. (1994). "Biogénèse des Monoterpènes–II–La chaîne isoprénique." *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 133: 79-99.
23. Guitton, Y. (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques, Université Jean Monnet-Saint-Etienne.

## **Références Bibliographiques**

24. Rolland, Y. (2004). "Antioxydants naturels végétaux." *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 11(6): 419-424.
25. Pincemail, J., K. Bonjean, et al. (2002). "Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante." *Nutrition clinique et métabolisme* 16(4): 233-239.
26. Mourad, B., Z. M. Mihoub, et al. (2011). "Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L." Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbes-Setif.
27. Negreche, S. and A. Benattia (2019). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits du *Juniperus oxycedrus*, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila.
28. Bougandoura, N. and N. Bendimerad (2013). "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq." *Nature & Technology*(9): 14.
29. Griffin, S. P. and R. Bhagooli (2004). "Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 302(2): 201-211.
30. Didi, M. (2020). "EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE COFFEE PARCHMENT." *Scientific Study and Research*.
31. Tolba, I. (2016). Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus, Université du Québec à Trois-Rivières.
32. Bakli, R., H. Nouadri, et al. (2018). "Evaluation de l'activité biologique d'*Artemisia Campestris* L. in vitro (Asteraceae)."
33. Sayed Ahmad, B. (2018). Étude de l'agroraffinage de graines d'Apiaceae, Lamiaceae et Chenopodiaceae pour la production de molécules biosourcées en vue d'application en industrie cosmétique.
34. Hadjer, L. S. e. Z. R. e. G. (2013) la flore spontanée de la plaine d'el-outaya (ziban).
35. Beghin, C. and S. Lutts (2019) " Étude de l'effet de la salinité du sol sur la valeur nutritionnelle des feuilles de *Amaranthus cruentus*."
36. Ghorab ép Bouhedjar, H. and Z. Kabouche (2017). Etude phytochimique et évaluation du potentiel biologique de *Salsola tetragona* Del. et *Traganum nudatum* Del.(Amaranthaceae ex. Chenopodiaceae).

## ***Références Bibliographiques***

37. Petera, R. A.(2009) "CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE DE LA PLANTE MIRABILIS JAPALA LINN.(NYCTIAGINACEAE)."
38. OUADAN, L., M. Mahjoubi, et al. (2018). "Étude phytochimique et ethnobotanique, dosage des polyphenols totaux de l'huile essentielle et des extraits du thymus capitatus."
39. Kouamé, T. K., S. Siaka, et al. (2021). "Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae)." *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 15(1): 97-105.
40. Merouane, A., A. Noui, et al. (2014). "Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle." *International journal of biological and chemical sciences* 8(4): 1865-1870.
41. Noussaiba ZAGHEZ, R. H. (2019). "Étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos Scoparius* «Guezzah»."

## ملخص:

*Amaranthus cruentus* هو جنس نبات من عائلة Amaranthaceae ، مما يجعله عنصرًا مهمًا لخصائصه الطبية العديدة، ولكن ليس هذا فقط بالإضافة إلى تزيين حدائقنا.

تم الحصول على المستخلصات المائية والإيثانولية وأسيئات الإيثيل بطريقة الاستخلاص مع إنتاجية على التوالي (32.4% ، 18.6% و 6.5%) ؛ يحتوي المستخلص الإيثانولي على جرعة أعلى من مادة البوليفينول يليه المستخلص المائي ومستخلص أسيئات الإيثيل على التوالي (1.217 مغ/غ ، 0.246 مغ/غ و 0.0725 مغ/غ).

أثبتت نتائج النشاط المضاد للأكسدة أن المستخلص الإيثانولي له أعلى نشاط (مغ/مل  $IC_{50} = 0.028$ ) يليه مستخلص أسيئات الإيثيل والمستخلص المائي بترتيب (مغ/مل  $CI = 1.621$  و  $CI = 1.498$  مغ / مل) الكلمات المفتاحية : *Amaranthus cruentus* ، نشاط مضاد للأكسدة ، بوليفينول ، مستخلص المائي

EA ، مستخلص الاثانولي EE ، مستخلص إيثيل الأسيئات EAE

## Résumé :

*Amaranthus cruentus* est un genre de plante de la famille des amaranthaceae en font un élément important pour leur nombreuse propriété médicinale mais pas seulement cela en plus pour la décoration de nos jardins.

Les extraits aqueux, éthanolique et acétate d'éthyle ont été obtenus par la méthode d'extraction les rendements avec respectivement (32.4%, 18.6% et 6.5%) ; l'extrait éthanolique possède une teneur plus élevée en dosage de polyphénols suivi par aqueux et celle de l'extrait d'acétate d'éthyle par respectivement (1.217mg/g, 0.246mg/g et 0.0725mg/g).

Les résultats de l'activité antioxydante prouver que l'extrait éthanolique s'agit d'une activité antioxydante la plus élevée ( $IC_{50}=0.028\text{mg/ml}$ ), suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux avec respectivement ( $IC=1.498\text{mg/ml}$  et  $IC=1.621\text{mg/ml}$ ).

**Mots clés :** *Amaranthus cruentus*, activité antioxydante, polyphénols, EA extrait aqueux, EE extrait éthanolique, EAE extrait acétate d'éthyle.

## Summary :

*Amaranthus cruentus* is a genus of plant in the Amaranthaceae family, making it an important element for their numerous medicinal properties, but not only that in addition to decorating our gardens.

The aqueous, ethanolic and ethyl acetate extracts were obtained by the extraction method with yields respectively (32.4%, 18.6% and 6.5%); the ethanolic extract has a higher dosage content of polyphenols followed by aqueous and that of ethyl acetate extract by respectively (1.217mg / g, 0.246mg / g and 0.0725mg / g).

The results of the antioxidant activity prove that the ethanolic extract has the highest antioxidant activity ( $IC_{50} = 0.028\text{mg/ml}$ ), followed by the ethyl acetate extract and the aqueous extract with respectively ( $CI = 1.498\text{mg/ml}$  and  $CI = 1.621\text{mg/ml}$ ).

**Key words :** *Amaranthus cruentus*, antioxidant activity, polyphenols, EA aqueous extract, EE ethanolic extract, EAE ethyl acetate extract.

