



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



Université Echahid Hamma Lakhdar. El Oued
Faculté de la Technologie

Mémoire de Fin d'Etude
En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences et Technologies

Filière: Génie des Procédés

Spécialité: Génie chimique

Présenté par:
Guemari Fathi

Thème

**Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
et les polyphénols de la plante médicinale "*Neurada
procumbens L*" dans le sud de Sahara algérienne**

Soutenu le 03 /06/2018

Devant le Jury:

M ^{ed} Menaceur Souheila	MAA	Présidente	Université d'El Oued.
M ^{ed} Boubekri Cherifa	MCA	Examinatrice	Université d'El Oued.
M ^f Salemi Said	MAA	Rapporteur	Université d'El Oued.

2017/2018

Remerciements

*Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce
modeste travail.*

*Je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force
A l'esprit de mon père, que Dieu ait pitié de lui et prenne pitié de tous
les musulmans morts.*

À la chère mère.

Je tiens à remercier : professeurs membre de jury.

*A mon très chère femme Mehri Zakia, en signe d'amour et de gratitude
pour m'avoir supporté, soutenu et surtout compris en permanence, pour
ces sacrifices, ces encouragements, sa fidélité et sa gentillesse. Sans lui,
je ne saurais pu progresser et en arriver à l'achèvement de ce travail.*

*A mes chers frères et sœurs, Idris, Hamza, Youssef, Melouda et Karima
et Henda et Najete et Khadija ainsi qu'à leurs petites familles.*

*J'adresse mes très sincères remerciements à Monsieur L. Salah,
Professeur à l'université de Hama Lakhdar El oued pour son soutien et
ses précieux conseils.*

*Pr. S. Said, et tous les conseils qu'il a pu me fournir, les efforts, la
gentillesse, et le support que j'ai reçu lors des moments les plus
difficiles de ce travail.*

*À tous les ingénieurs du laboratoire, T. Ali, M. Laouini, B. Djamila, M.
Dia, M. Founesse, Bouchera. Sana*

*Tout personne a participé de près ou de loin dans la réalisation de mon
travail.*

A tous ceux qui m'aiment.

G. Fathi

Résumé

Ce travail est une contribution à l'étude de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, flavanol totaux. L'activité antioxydante et de l'activité antibactérienne de la plante *Neurada procumbens* L. dans la région d'Oued Souf a été évaluée. La teneur en composés phénoliques totaux dans les différents extraits est estimés par la méthode de Folin-Ciocalteu. La méthode spectrophotométrique utilisée pour l'estimation des taux de flavonoïdes totaux, taux de flavanols totaux. La mesure l'activité antioxydante est réalisée par deux méthodes, la capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est qui a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène et par Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydante à piéger de radical DPPH. L'activité antibactérienne évaluée par la méthode de diffusion en gélose ou encore méthode de disque. A cet effet, nous avons utilisé les différentes méthodes (spectrophotométrie UV-visible, spectrophotométrie infrarouge FT-IR, chromatographie liquide à haute performance HPLC) qui permettant de donner des informations sur chaque milieu d'extraction pour comparer entre eux. Nous avons trouvé que les extraits de cette plante sont riches en polyphénols totaux. Présentent une propriété antioxydante très élevée. Nos extraits n'ont pas montré d'activité contre les bactéries.

Mots clés : *Neurada procumbens* L, polyphénols totaux, DPPH, activité antioxydante, activité antibactérienne.

الملخص

هذا العمل هو مساهمة في دراسة محتوى البوليفينول الكلي الفلافونويد الكلي والفلافانول الكلي. تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا لنبته السعدان المتواجدة في منطقة وادي سوف. يقدر محتوى مركبات البوليفينول الكلية في المستخلصات المختلفة بطريقة Folin-Ciocalteu. طريقة الطيف الضوئي المستخدمة لتقدير نسبة الفلافونويد الكلي والفلافانول الكلي. النشاط المضاد للأوكسدة ويتم بواسطة طريقتين، يتم تقييم إجمالي مستخلصات مضادات الأوكسدة (CAT) بواسطة طريقة phosphomolybdène و DPPH تستند هذه الطريقة على قياس قدرة مضادات الأوكسدة على اعتراض DPPH الراديكالي. نشاط مضاد للجراثيم يتم تقييمه بواسطة طريقة القرص. لإنجاز هذا البحث تطلب استعمال طرق وتقنيات مختلفة وهي مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV-Vis، ومطيافية الأشعة تحت الحمراء FT-IR، كروماتوغرافيا عالية الأداء HPLC حيث وجدنا أن مستخلصات أوراق وأغصان هذه النبتة غنية بالمكونات الفيتو كيميائية كمادة البوليفينول الكلي الفلافونويد الكلي والفلافانول الكلي. كما أظهرت نشاط تثبيطي قوي كمضاد للأوكسدة ضد الجذور الحرة ل DPPH و CAT. كما لم تظهر لنا المستخلصات نشاط فعال ضد البكتيريا.

الكلمات المفتاحية : نبتة السعدان، مضاد الأوكسدة، مضاد البكتيريا، DPPH، البوليفينول الكلي.

Liste des abréviations

Abréviation	Designations
AAE	Acide ascorbique équivalente
BHA	Tertiobutyl hydroxyanisole
BHT	Tertiobutyl hydrox toluène
CAT	Capacité anioxydante totale
DPPH	1,1- diphenyl-2-pierylhydrazyl
FT-IR	Spectrophotométrie de l'infrarouge
GAE	Acide gallique équivalente
HPLC	Chromatographie liquide de haute performance
MS	Masse sèche
QE	Quercétine équivalente
RE	Rutine équivalente
UV- visible	Spectrophotométrie ultra violet

Liste des tableaux

Désignations	Page
<i>Chapitre II : Etude sur les polyphénols</i>	
Tableau II-1. Principales classes de composés phénoliques.	14
<i>Chapitre III : Matériel et méthode</i>	
Tableau III-2. Cinétique de séchage de l'échantillon des feuilles <i>Neurada procumbens</i> L	21
Tableau III-3. Cinétique de séchage de l'échantillon des branches <i>Neurada procumbens</i> L	22
Tableau III-4. Cinétique de séchage de l'échantillon de la plante <i>Neurada procumbens</i> L	22
Tableau III-5. Quantité d'eau et matière sèche pour les trois échantillons de la plante.	23
Tableau III-6. Masse des extraits de trois échantillons de <i>Neurada procumbens</i> L	23
Tableau III-7. Les rendements d'extraction de trois échantillons de <i>Neurada procumbens</i> L.	24
Tableau III-8. L'absorption des trois échantillons de <i>Neurada procumbens</i> L.	24
Tableau III-9. L'absorption de l'acide gallique a l'éthanol a différent concentration	25
Tableau III-10. L'absorption des trois échantillons de <i>Neurada procumbens</i> L.	26
Tableau III-11. L'absorption quercétine à l'éthanol a différent concentration.	26
Tableau III-12. L'absorption des trois échantillons de <i>Neurada procumbens</i> L.	27
Tableau III-13. L'absorption quercétine à l'éthanol a différent concentration.	28
Tableau III-14. Présente la concentration et l'absorption et pourcentage d'inhibition des feuilles.	30
Tableau III-15. Présente la concentration et l'absorption et pourcentage d'inhibition des branches.	30
Tableau III-16. Présente la concentration et l'absorption et pourcentage d'inhibition de <i>Neurada procumbens</i> L.	31
Tableau III-17. Présente l'absorption des trois extraits de <i>Neurada procumbens</i> L.	32
Tableau III-18. L'absorption de l'acide gallique a l'éthanol a différent concentration.	33

Liste des tableaux

Tableau III-19. Souches bactériennes testées pour l'activité antibactérienne.	39
<i>Chapitre IV: Résultats et discussion</i>	
Tableau III-20. La capacité antioxydant totale des trois échantillons.	44
Tableau III-21. Concentration des polyphénols des feuilles de <i>Neurada procumbens</i> L.	46
Tableau III-22. Concentration des polyphénols des extraits des branches de <i>Neurada procumbens</i> L.	47
Tableau III-23. Concentration des polyphénols des extraits de variété <i>Neurada procumbens</i> L.	47

Liste des figures

Désignations	Page
Chapitre I : Généralités Généralités sur l'espèce <i>Neurada Procumbens</i> L	
Figure I-1. Photos de la plante de <i>neurada procumbens</i> L dans le Sahara.	04
Figure I-2. Photos de la plante de <i>neurada procumbens</i> L dans le Sahara.	04
Figure I-3. Les feuilles de la plante.	04
Figure I-4. Les branches de la plante.	04
Figure I-5. La plante <i>neurada procumbens</i> L.	04
Figure I-6. Répartition géographique de <i>neurada procumbens</i> L dans le monde.	05
Figure I-7. Figuration schématique de la plante de <i>neurada procumbens</i> L.	05
Figure I-8. Figuration pour les descriptions de la plante de <i>neurada procumbens</i> L.	06
Chapitre II : Etude sur les polyphénols	
Figure II-9. Structure du noyau phénol.	07
Figure II-10. Structure des polyphénols.	08
Figure II-11. Structure de base des flavonoïdes	12
Figure II-12. Structures de base des principaux Flavonoïdes.	12
Figure II-13. Structure de base des flavanol.	13
Figure II-14. Classification de tanins leurs structures chimique.	15
Figure II-15. Structures et classifications des composes phénoliques.	17
Figure II-16. la molécule biradical libre de dioxygène.	18
Chapitre III : Matériel et méthode	
Figure III-17. Cinétique de séchage de l'échantillon des feuilles <i>Neurada procumbens</i> L	21
Figure III-18. Cinétique de séchage de l'échantillon des branches <i>Neurada procumbens</i> L	22
Figure III-19. Cinétique de séchage de l'échantillon de la plante <i>Neurada procumbens</i> L	22

Liste des figures

Figure III-20. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.	25
Figure III-21. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux.	27
Figure III-22. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavanol totaux.	28
Figure III-23. Réduction du radical libre DPPH.	29
Figure III-24. Effet d'extrait des feuilles de <i>Neurada procumbens</i> L sur le radical DPPH.	30
Figure III-25. Effet d'extrait des branches de <i>Neurada procumbens</i> L sur le radical DPPH.	31
Figure III-26. Effet d'extrait de <i>Neurada procumbens</i> L sur le radical DPPH.	32
Figure III-27. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	33
Figure III-28. Le spectre de FT-IR des feuilles de <i>Neurada procumbens</i> L.	34
Figure III-29. Le spectre de FT-IR des branches de <i>Neurada procumbens</i> L.	35
Figure III-30. Le spectre de FT-IR de <i>Neurada procumbens</i> L.	35
Figure III-31. Profil chromatographique HPLC de les feuilles de <i>Neurada procumbens</i> L.	37
Figure III-32. Profil chromatographique HPLC des branches de <i>Neurada procumbens</i> L.	38
Figure III-33. Profil chromatographique HPLC de la plante <i>Neurada procumbens</i> L.	38
Chapitre IV: Résultats et discussion	
Figure III-34. Le pourcentage des Polyphénols dans les trois extraits de la plante.	42
Figure III-35. Le pourcentage des Flavonoïdes dans les trois extraits de la plante.	43
Figure III-36. Le pourcentage des Flavanol dans les trois extraits de la plante.	43
Figure IV-37. La Capacité anioxydante totale des extraits des échantillons.	45
Figure III-38. Teste antibactérienne des feuilles de <i>Neurada procumbens</i> L.	49
Figure III-39. Teste antibactérienne des branches de <i>Neurada procumbens</i> L.	50
Figure III-40. Teste antibactérienne de <i>Neurada procumbens</i> L.	51

Sommaire

<i>Introduction Générale</i>	01
<i>Chapitre I : Généralités botaniques</i>	
I Introduction	03
I.1 Définition de la plante médicinale	03
I.2 description de la plante <i>neurada procumbens</i> L	03
I.3 répartition de la plante <i>neurada procumbens</i> L	05
I.4 descriptions de la plante <i>neurada procumbens</i> L	06
<i>Chapitre II : Etude bibliographique</i>	
II.1. Les composés phénoliques	07
II.1.1 Le phénol	07
II.1.2 Les Polyphénols	07
II.2. Classification des composés phénoliques	09
II.2.1 Acides phénoliques	09
II.2.2 Les Flavonoïdes	09
II.2.2.1 Propriétés physico-chimiques	10
II.2.2.2 Activité antioxydante et antibactérienne	10
II.2.2.2.1 Activité antioxydante	10
II.2.2.2.2 Activité antibactérienne	10
II.2.2.3 Sources	11
II.2.2.4 Indications	11
II.2.2.5 Propriétés	11
II.2.2.6 Les Flavanols	13
II.2.2.6.1 Propriétés médicinales	13
II.2.3 Les tanins	15
II.2.3.1 Les tanins hydrolysables	15
II.2.3.2 Les tanins condensés	15
II.3. Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques	16
II.4. Structures et classifications des composés phénoliques	16
II.5. Rôle des polyphénols dans les plantes	17
II.6. Radicaux libres	18
II.6.1 Rôle des radicaux libres	18

II.6.1.1 Rôle des radicaux libres chez l'homme	18
II.6.1.2 Rôle des radicaux libres chez les plantes	18
II.7. Activité antioxydante	19
<i>Chapitre III : Partie expérimentale</i>	
III.1. Matériels et méthodes	20
III.1.1. Réactifs chimiques et appareillage	20
III.1.2. Matériels végétaux	21
III.2 Méthodologie	21
III.2.1. Préparation des extraits	21
III.3. Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et flavanol totaux	24
III.3.1 Dosage des polyphénols totaux	24
III.3.2 Courbes d'étalonnages des dosages polyphénols totaux (PPT)	25
III.3.3 Dosage des flavonoïdes totaux	26
III.3.4 Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïdes totaux (FVT)	26
III.3.5 Dosage des flavanol totaux	27
III.3.6 Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavanol totaux (FLT)	27
III.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits	28
III.4.1 Le test DPPH	28
III.4.2. Le test DPPH pour les feuilles de <i>neurada procumbens</i> L	29
III.4.3. Le test DPPH pour les branches de <i>neurada procumbens</i> L	30
III.4.4. Le test DPPH pour la Plante de <i>neurada procumbens</i> L	31
III.5. Activité antioxydante totale (CAT)	32
III.5.1. Méthode de la Capacité anioxydante totale (CAT)	33
III.6. La spectrophotométrie IR	34
III.6.1. Principe de la machine IR	34
III.6.2 Préparation des échantillons	34
III.6.3. Analyses structurales des échantillons	34
III.6.3.1. Analyses structurales des feuilles de <i>neurada procumbens</i> L	34
III.6.3.2. Analyses structurales des échantillons des branches de <i>neurada procumbens</i> L	35
III.6.3.3. Analyses structurales des échantillons de la variété <i>neurada procumbens</i> L	35
III.7. Chromatographie liquide de haute performance (HPLC)	36
III.7.1. Appareillage	36

III.7.2. L'Analyse par HPLC des composés phénoliques	37
III.7.2.1 Chromatogrammes HPLC d'extrait des feuilles de <i>Neurada procumbens</i> L	37
III.7.2.2 Chromatogrammes HPLC d'extrait des branches de <i>neurada procumbens</i> L	37
III.7.2.3 Chromatogrammes HPLC d'extrait de la plante de <i>neurada procumbens</i> L	38
III.8. Evaluation de l'activité antibactérienne	39
III.8.1. Méthode de diffusion en milieu gélose (méthode des disque)	39
III.8.2. Provenance des souches	39
<i>Chapitre IV: Résultats et discussion</i>	
IV.1. Résultats et discussions des PPT, FVT et FLT	42
IV.1.1 Résultats des Polyphénols totaux pour les trois échantillons	42
IV.1.2 Résultats des Flavonoïdes totaux pour les trois échantillons	42
IV.1.3 Résultats des Flavanol totaux pour les trois échantillons	43
IV.2. Résultats et discussions d'activité antioxydant DPPH	44
IV.2.1. Résultats d'activité antioxydant DPPH	44
IV.2.2 Discussions d'activité antioxydant DPPH	44
IV.3. Résultats et discussions de la Capacité anioxydante totale (CAT)	44
IV.3.1. Résultats de la Capacité anioxydante totale (CAT)	44
IV.3.2 discussions de la Capacité anioxydante totale (CAT)	44
IV.4. Résultats et discussions de la d'analyse structurales pour les échantillons <i>Neurada procumbens</i> L par FT-IR	45
IV.4.1. Discussion d'analyse structurales pour les feuilles de variété <i>Neurada procumbens</i> L par FT-IR	45
IV.4.2. Discussion d'analyse structurales pour les branches de la plante par FT-IR	46
IV.4.3. Discussion d'analyse structurales de <i>neurada procumbens</i> L Par FT-IR	46
IV.5. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits	46
IV.5.1. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits des feuilles	46
IV.5.2. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits des branches	46
IV.5.3. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits de <i>Neurada procumbens</i> L	47
IV.6. Résultats et discussions d'antibactérienne des trois échantillons	48

IV.6.1. Résultats d'antibactérienne des trois échantillons	48
IV.6.2. Discussions d'antibactérienne des trois échantillons	48
Conclusion générale	52

Introduction Générale

INTRODUCTION GENERALE

Depuis la préhistoire, l'être humain recherche dans son environnement (plantes, animaux, pierres, esprits) de quoi soulager ses maux et traiter ses blessures. La médecine moderne occidentale a rejeté la plupart de ces recours pour développer des médicaments chimiques et une technique de soins sophistiquée. Elle continue cependant d'utiliser certains remèdes à base de plantes médicinales. Une tendance récente conduit même à rechercher dans les plantes de nouveaux produits de substitution pour certaines maladies cancer, paludisme. Plus de 200 000 espèces végétales sur les 300 000 recensées de nos jours sur l'ensemble de notre planète vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et d'ailleurs. L'histoire de la médecine montre l'importance de ces espèces dans les thérapies, toutes les sociétés traditionnelles ayant puisé, pour leurs soins de santé, dans cette pharmacopée végétale d'une très grande richesse [1].

Les plantes médicinales sont des végétaux supérieurs dont les branches, les feuilles, les fleurs, les graines, l'écorce ou tout autre organe peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques, officinales, pour la santé [2]. Notamment en phytothérapie et naturopathie pour guérir par les plantes.

On qualifie de plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les branches, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelée phytothérapie. Parmi les principes actifs les plus courants des plantes médicinales [3]. on peut nommer les polyphénols, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes.

Aujourd'hui, les agents antioxydants de source naturelle ont suscité un intérêt particulier car ils peuvent protéger le corps humain contre les maladies causées par les radicaux libres avec sans effets secondaires; ceci est contraire aux agents antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroquinone tertiaire (BHQT) largement commercialisés dans l'industrie alimentaires, leur application provoquent un potentiel risque et toxicité pour la santé humain [4]. Aussi ils ont été trouvés à exposer des maladies cancérogène, mutagène, [5,6]. Pour cette raison la recherche de molécules bioactives d'origine naturelle a constitué d'ailleurs un des axes prioritaires de dernière années, la recherche de molécules bioactives à partir des plantes peut s'effectuer selon plusieurs stratégies : une approche ethnopharmacologique qui consiste à utiliser le savoir des médecines traditionnelles, une approche chimiotaxonomique qui s'intéresse à des taxons connus pour

Introduction générale

renfermer des métabolites secondaires particuliers (composés phénoliques), ou encore un criblage systématique des espèces et ou toute combinaison des précédentes.

Les composés phénoliques ou les Polyphénols sont l'un des plus important groupe de composés présents dans les plantes, où sont largement distribués, comprenant au moins 8000 différentes structures connues [7]. Les polyphénols sont également des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ces composés sont signalés présentent une activité antioxydant remarquable et jouent un rôle d'inhibiteur des radicaux libres efficaces comme anion superoxyde, hydroxyle, oxyde de nitrique, peroxyde de nitrogène et activité antimicrobienne [8-11].

La situation géographique de cette plante dans tout le Sahara. Espèce Sahara-arabique. Espèce dans la Sahara-Algérie. Espèce Sahara-El-oued en face à la gazelle d'or [12].

L'objectif de notre étude est d'estimer la teneur de cette espèce végétale en ces composés actifs essentiels, les polyphénols totaux, les flavonoïdes totaux, les flavanols totaux, obtenus dans les trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L. les feuilles, les branches et la plante complet. Aussi l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.

Notre travail se répartit donc comme suit :

- ✓ Etude botanique de la plante *Neurada procumbens* L (classification, description, et utilisation).
- ✓ Etude de la définition, la structure, la classification, et l'activité biologique des polyphénols.
- ✓ Extraction de la matière végétale de la plante par macération dans l'éthanol 96°.
- ✓ Analyse des extraits par les méthodes colorimétriques et chromatographie liquide de haute performance (HPLC) et spectrophotomètres FTIR.
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par deux méthodes, le capacité antioxydante totale et le piégeage du radical libre DPPH.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits par méthode de diffusion en milieu gélose (méthode des disque).

On termine ce travail par une conclusion générale donnant un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus durant ce travail ainsi que les perspectives qui feront l'objectifs d'ultérieurs travaux et une liste complète des références bibliographiques pour l'ensemble des chapitres.

Chapitre I : Généralités
sur l'espèce
Neurada Procumbens L

I Introduction :

La Section des Plantes Médicinales a démarré au Centre ORSTOM de Cayenne en juillet 1974. Son but consiste à faire l'inventaire ethnobotanique et phytochimique préliminaire de la flore guyanaise en général et des plantes utilisées dans la pharmacopée traditionnelle en particulier. Il s'agit de relever d'une part les propriétés thérapeutiques des plantes et d'autre part de mettre en évidence leurs constituants chimiques susceptibles d'avoir une action pharmacodynamique [13].

I.1 Définition de la plante médicinale :

- Il existe plusieurs définitions pour désigner une plante médicinale mais, pour faire simple, le terme désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des substances appelées principes actifs, pouvant être utilisés à des fins thérapeutiques sans effets nocifs aux doses recommandées [14].
- Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie [15].
- On qualifie de plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les branches, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelée phytothérapie. Parmi les principes actifs les plus courants des plantes médicinales, on peut nommer les polyphénols, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes [16].

I.2 description de *Neurada procumbens* L :

Plante couchée à feuilles laineuses, ovales dentées. Petites fleurs blanches. Les fruits, sortent de disques horizontaux sont à graine unique, ils sont garnis de pointes hérissées aux formes variées qui s'accrochent aux animaux ce qui permet la dissémination de cette plante. La plante conserve au collet le carpelle dont elle est issue. Riches en eau, les feuilles sont consommées par les Touaregs en tant que salade. Autre mode de consommation : arracher les plantes, enlever la racine, garder les fruits frais, bien laver le tout, piler l'ensemble et en faire des boules. Peut-être mélangé avec d'autres plantes et céréales. C'est très nourrissant et riche en eau (idem talkach). Constitue pour les animaux un des meilleurs pâturages, donne une bonne remontée de lait, et la plante étant riche en eau, les animaux n'ont pas besoin de boire. Et la saturation géographique dans tout le Sahara. Espèce saharo-arabique [17]. En représente l'image

de La plante *Neurada procumbens* L dans la (Figure 1,2), et les trois échantillons après récoltes et lavage à l'eau distillée et la séparation des échantillons les feuilles, les branches, et l'en garde la plante complète dans la (Figure 3,4,5).



Figure I-1. Photos de la plante de *Neurada procumbens* L dans le Sahara.



Figure I-2. Photos de la plante de *Neurada procumbens* L dans le Sahara.



Figure I-3. Les feuilles de la plante. **Figure I-4.** Les branches de plante. **Figure I-5.** *Neurada procumbens* L

I. 3 répartition de la plante *Neurada procumbens* L dans le monde :



Figure I-6. ● Répartition géographique de *Neurada procumbens* L dans le monde.

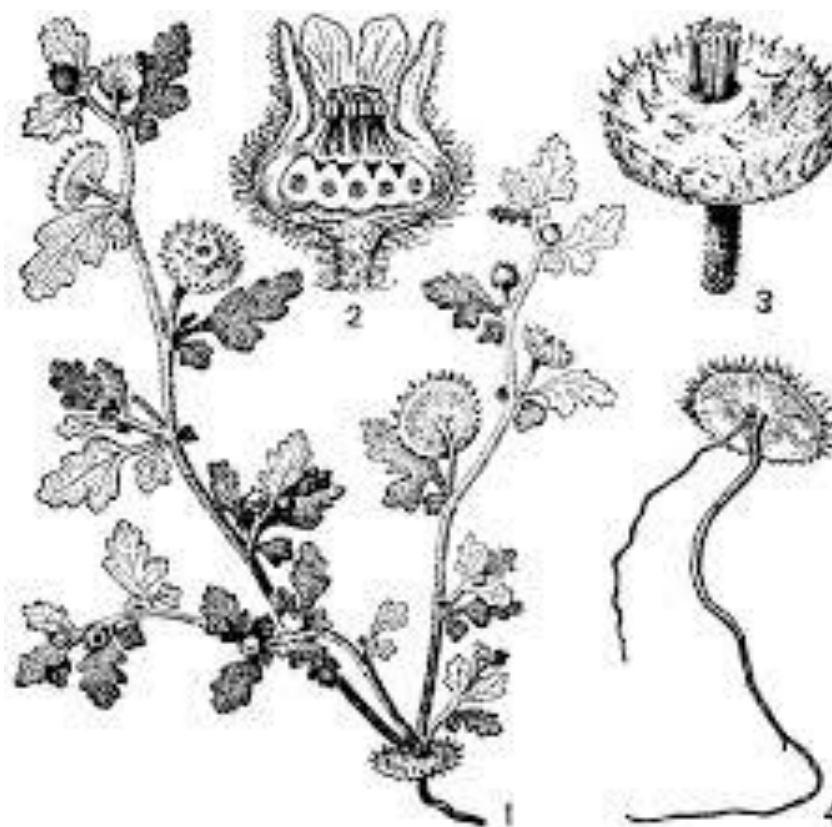


Figure I-7. Figuration schématique de la plante de *Neurada procumbens* L.

I. 3 Descriptions de la plante *Neurada procumbens* L :

Plante annuelle prostrée, herbe cannière laineuse, racine jusqu'à 180 mm de long, branches diffuses ou couchées, 100-322 mm de long. Feuilles de 6-25 x 4-15 mm. Ovale oblongs, pinnatilobés, lobes obtus, 1-3 (4) de chaque côté, densément poilus avec des poils courts ou longs, simples et ramifiés; bistipuler, stipules minute; pétiole de 3-8 mm de long, densément poilu. Pédicelles de 3-6 mm de long dans le fruit. Récipient de 5,6 mm de diamètre avec 5-épineux, subulé, bractéoles. Sépales 5, aigus, aussi longs ou plus larges que les bractéoles alternées, connivent ci-dessus, tube plat, épineux, formant un disque avec les carpelles matures, les dents externes triangulaires, l'intérieur lancéolé. Pétales 5, 2-4,3 x 1,4-2 mm, insérés sur la gorge du tube du calice, obovale ou oblancéolée, blanc verdâtre, distinctement veinés, exsertant légèrement les sépales. Étamines 10, c. 2 mm de long, filament mince, glabre, avec des anthères largement ovales, 0,5 x 0,5 mm. Carpels 10, partiellement connatés, chacun ovulé; styles plus longs que les étamines, spinescent, modérément tomenteux, accrescent et dur dans les fruits; minute de stigmatisation, capitellate. Fruit sec, plan-orbiculaire, de 8-15 mm de diamètre, convexe au-dessus, plat en dessous, persistant en collier autour des jeunes racines des plantules même après que la plante a atteint sa maturité. Graines courbées d'environ 2,5 x 1,5 mm, non endospermiques, avec une extrémité distale effilée; testa brun foncé, brillant. $2n = 14$ [18].

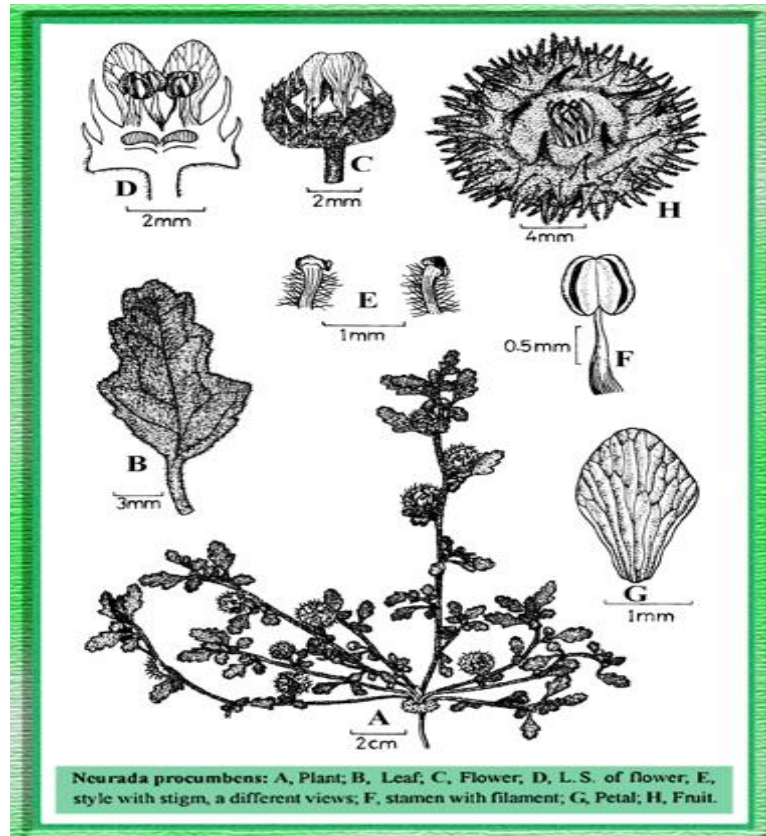


Figure I-8. Figuration pour les descriptions de la plante de *Neurada procumbens* L.

Chapitre II : Etude sur les polyphénols

II.1. Les composés phénoliques:

II.1.1 Le phénol:

En chimie organique, les polyphénol ou les composés phénolique sont des composés chimiques aromatiques portant une fonction hydroxyle –OH (Figure II-9). Les dérivés portant plusieurs fonctions hydroxyle sont appelés des polyphénols.

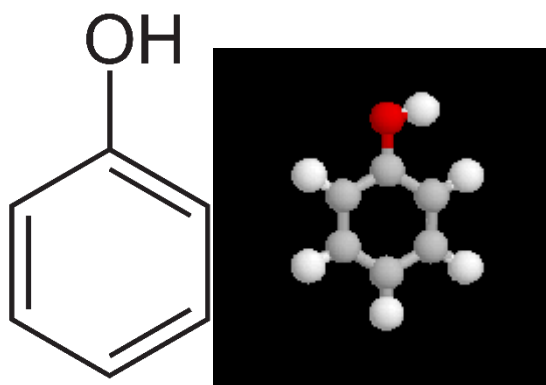


Figure II-9. Structure du noyau phénol.

II .1.2 Les Polyphénols:

Le terme polyphénol ou composés phénoliques remplace l'ancien terme de tanin végétal. Présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Polyphénols (Figure II-10). Habituellement utilisés pour l'ensemble de ces composés.

Polyphénols des plantes sont les plus actifs antioxydants. Maladies chroniques et dégénératives : Athérosclérose, maladies vasculaires, diabète, cancer, Alzheimer, Parkinson [19]. Les composés phénoliques (8000 molécules connues) sont une des principales classes de métabolites secondaires des plantes. Leurs structures et fonctions sont très diverses. Ils possèdent, au minimum, un cycle aromatique portant un à plusieurs groupes hydroxyles. Les acides phénoliques (acide gallique) représentent les formes les plus simples et les tanins, les formes les plus polymérisées de plus de 30000 Dalton. Les principaux polyphénols présents dans les fruits sont les acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), les stilbénoides et les flavonoïdes, dont les tanins condensés [20].

Le terme « polyphénol » a été introduit en 1980[21]. en remplacement de l'ancien terme de « tanin végétal ». L'expression « **composés phénoliques** » est aussi employée avec la même valeur.

Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles[22]. La désignation « polyphénols » est consacrée par l'usage et,

alors qu'elle ne devrait concerner que les molécules portant plusieurs fonctions hydroxyle phénolique, elle est habituellement utilisée pour l'ensemble de ces composés.

Le terme « biophénol » fut inventé par Romeo et Uccella en 1996[23] pour désigner les phénols bioactifs dans les olives en remplacement du terme « polyphénol » plus commun mais plus vague d'un point de vue chimique. Utilisé au départ uniquement dans la chimie des olives, le terme a gagné en popularité et est actuellement utilisé par les chercheurs faisant référence aux phénols végétaux en général.

Il s'ajoute à cette définition le fait qu'ils possèdent un pouvoir antioxydant élevé.

Les polyphénols se divisent en plusieurs familles dont les plus populaires sont les **tanins** et les **flavonoïdes**. Ces derniers se divisent en quatre catégories principales :

- les flavanols
- les flavones
- les anthocyanines

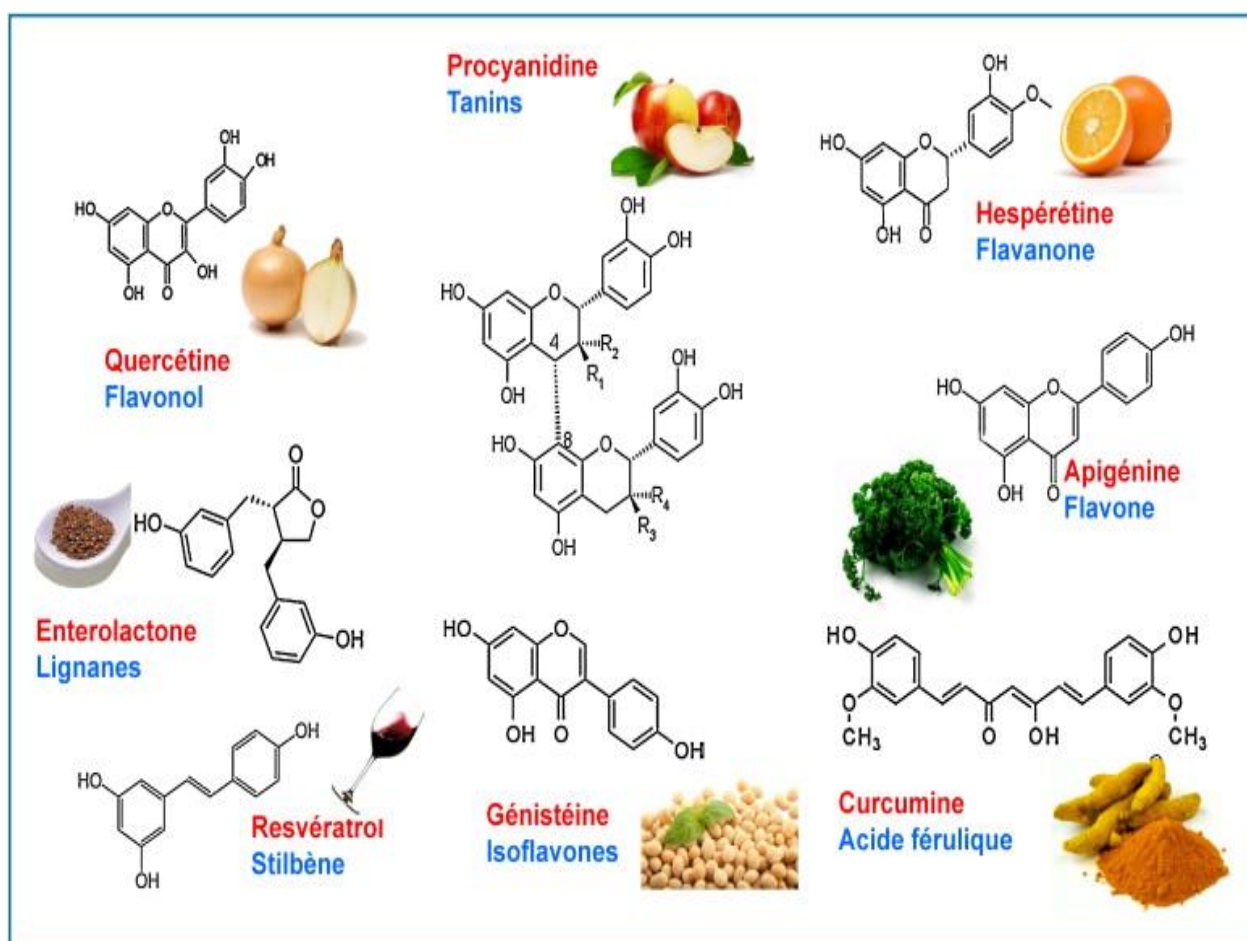


Figure II-10. Structure des polyphénols.

II.2. Classification des composés phénoliques

Les polyphénols naturels regroupent donc un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants[24]. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques[25] (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, de plus de trente mille daltons, comme les tanins (acide tannique).

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques et coumarines, en naphthoquinones, en stilbénoides (deux cycles en C₆ liés par deux atomes de carbone), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et anthocyanes, et en formes polymérisées : lignanes, lignines, tanins condensés. Ces squelettes carbonés de base sont issus du métabolisme secondaire des plantes, élaborés par la voie du shikimate [26].

Deux principales classes sont largement répandues : [27].

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques),
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines

Plus rares, les coumarines, les stilbènes ne seront pas décrit en détail ici.

II.2.1 Acides phénoliques

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

- Les acides hydroxybenzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique.

II.2.2 Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes n'ont pris leur essor dans la pharmacopée occidentale que depuis quelques années, même si leur biodisponibilité n'est pas encore complètement élucidée. Ils ont été isolés par le scientifique Eugène Chevreul en 1814, mais n'ont été réellement découverts qu'en 1937, par **Albert Szent-Györgyi**, qui a mis en exergue leur influence pour réduire la perméabilité des vaisseaux sanguins. Ce scientifique hongrois a reçu le prix Nobel pour ses recherches sur la vitamine C et les propriétés biochimiques des flavonoïdes. (Figure II-11).

Le terme "flavonoïdes" proviendrait de "flavedo", qui désigne la couche externe des écorces d'oranges. On appelle flavonoïdes des **composés polyphénolique** présents dans de nombreux organismes (végétaux, fruits et légumes), que ce soit au niveau de leurs feuilles, de

leurs tiges, de leurs fleurs, de leurs fruits ou du pollen. Il s'agit de pigments colorés qui confèrent à ces organismes la large palette de couleurs qu'ils empruntent. Ils les protègent principalement de l'oxydation et des rayons solaires agressifs. Les flavonoïdes participent également à donner du goût aux fruits et aux légumes. On en compte près de 4 000 variétés regroupées en quatre groupes : la **quercétine** (oignon, brocoli...), les **flavonones** (citron), les **catéchines** (thé, vin rouge) et les **anthocyanines** (fruits rouges, raisin...).

Les flavonoïdes ont été prioritairement mis en évidence par le vin rouge, avec le célèbre "french paradox", c'est-à-dire la faible mortalité notoire chez les habitants des régions méditerranéennes, dont le régime alimentaire serait essentiellement basé sur une consommation de vin rouge et de graisses saturées. (Figure II-12).

II.2.2.1 Propriétés physico-chimiques :

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. L'extraction par macération est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou éthanol ou de mélanges méthanol-eau ou de éthanol-eau parfois d'acétonitrile-eau.

II.2.2.2 Activité antioxydante et antibactérienne :

II.2.2.2.1 Activité antioxydante:

Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydes mais ils peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives (ion superoxyde, radical OH[•], oxygène singulet), inhiber la lipoxigénase ou encore chélater les métaux[28].

La limitation principale de cette activité antioxydante est la faible biodisponibilité des flavonoïdes après ingestion d'aliments riches dans ces composés. La faible quantité absorbée entre en concurrence avec les autres piègeurs de radicaux libres (α -tocophérol, ascorbates et glutathione) présents dans des concentrations très supérieures[29].

Exception faite du tractus gastro-intestinal et peut-être du sang, l'action potentielle des polyphénols comme piègeurs de radicaux libres n'a probablement aucune signification physiologique dans la plupart des organes [30].

II.2.2.2.2 Activité antibactérienne:

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antibactériennes [31]. Des synergies ont été mises en évidence pour certaines de ces molécules. Des études *in vivo* sur animaux se sont révélées encourageantes (quercétine chez le cochon d'inde infectés par *Shigella*,

sophoraisoflavone en injection intrapéritoneale chez des souris infectées par *Salmonella thyphimurium*).

De nombreux ptérocarpanes sont connus comme bactéricides ou bactériostatiques, en particulier vis-à-vis des bactéries Gram + [32]. Pour ces composés, il semble que la présence de 2 groupements hydroxyles libres soit essentielle à l'activité antibactérienne [32].

II.2.2.3 Sources:

Les agrumes, les oignons, la vigne rouge, les pommes, les fruits rouges, l'hamamélis, le gingko, le noisetier, les fines herbes, l'ortie, le poireau... représentent les fruits, légumes ou plantes qui renferment le plus de flavonoïdes. On en trouve également dans le café, le thé, le vin, la bière ou le chocolat (le cacao). Il semble préférable de manger (autant que possible) les fruits et légumes crus, afin de conserver tout le bénéfice des flavonoïdes.

II.2.2.4 Indications :

Les flavonoïdes sont essentiellement préconisés pour leur action antioxydante. Ils contribuent à protéger l'organisme des méfaits liés à la pollution, à l'ingestion de substances toxiques (alcool, tabac...) ou encore à l'exposition au soleil, méfaits responsables du vieillissement cellulaire et de la sénescence.

On trouve les radicaux libres dans l'organisme. Pour l'éviter ou les réagir avec des autres produits.

II.2.2.5 Propriétés:

Les flavonoïdes sont essentiellement connus par ses activités antioxydantes. Ils participent à combattre les radicaux libres, ces molécules issues de l'oxygène et de l'azote, mises en cause dans de nombreux processus dégénératifs, accélérant le vieillissement des tissus et cellules. Le stress oxydatif occasionné par ces radicaux libres semble fragiliser la bonne santé de l'organisme. Les défenses naturelles servent à limiter leur effet, mais, parfois, l'organisme ne peut pas se défendre seul, notamment chez les personnes âgées, et nécessite de trouver de nouvelles armes à travers l'alimentation.

Il semble aujourd'hui indispensable pour le bien-être de l'organisme d'avoir une alimentation variée et de manger au moins cinq fruits et légumes par jour. Les sources d'antioxydants naturels se trouvent principalement dans les fruits et légumes colorés, et dans certaines céréales. Selon certaines études, leur action dans la lutte contre les radicaux libres serait même plus efficace que celle des vitamines C et E. En tout cas, ils améliorent l'action de ces vitamines sur l'organisme en augmentant leur absorption et en retardant leur élimination.

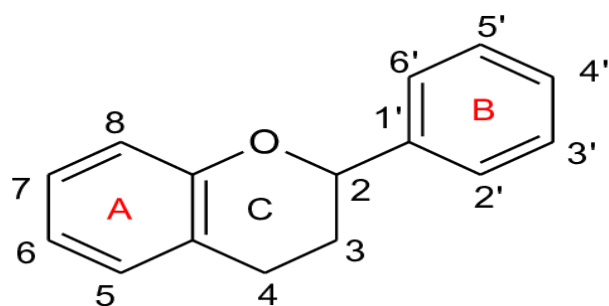


Figure II-11. Structure de base des flavonoïdes

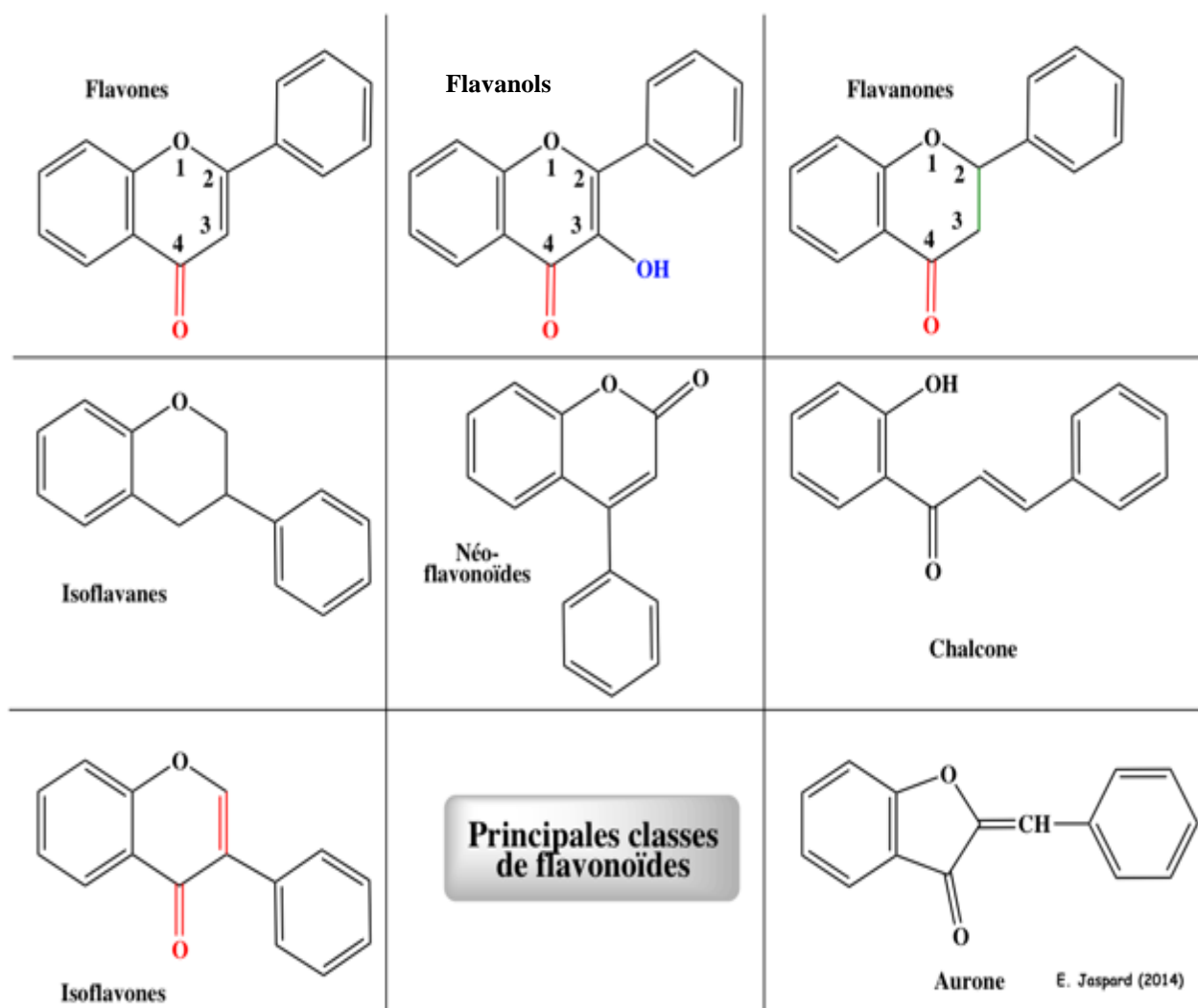


Figure II-12. Structures de base des principaux Flavonoïdes.

II.2.2.6 Les Flavanols :

Les flavanols totaux sont des composés qui appartiennent à la famille de Flavonoïdes qui sont largement répandus (Figure II-13) les flavanols tels que la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol sont la plupart du temps présents sous forme d'O-glycosides. La conjugaison est le plus souvent en position 3 du noyau aromatique C, bien que des substitutions en positions 5,7,4',3' et 5' soient possibles. Le nombre d'aglycones est assez faible, mais il existe un très grand nombre de conjugués, le kaempférol ayant à lui seul 200 conjugués avec des motifs osidiques différents. Il existe une forte variabilité en concentration selon la saison et la variété prise en compte [33]. Leur structure est plane. Quatre flavanols sont majoritairement présents dans le raisin: le kaempférol, la quercétine (5-10 mg/kg), la myricétine et l'isorhamnétine. Les dérivés de la quercétine sont toujours prédominants. La teneur moyenne maximale en flavanols du raisin est de l'ordre de 50 mg/kg mais peut varier entre 10 et 285 mg/kg.

II.2.2.6.1 Propriétés médicinales

Les flavanols sont de bons antioxydants et anti-inflammatoires.

Les diverses méthodes de mesure du pouvoir antioxydant des composés phénoliques donnent des résultats très différents [34]. La moyenne pondérée des résultats obtenus par quatre méthodes différentes donne le classement suivant des flavanols :

Myricétol-3-rhamnoside > Myricétol > Quercétol, Rutoside > Kaempférol-3-glucoside > Kaempférol.

Une étude de 8 ans portant sur un échantillon de plus de 180 000 personnes a montré qu'une prise alimentaire de flavanols (quercétol, kaempférol et myricétol) était associée à un risque réduit du cancer du pancréas [35].

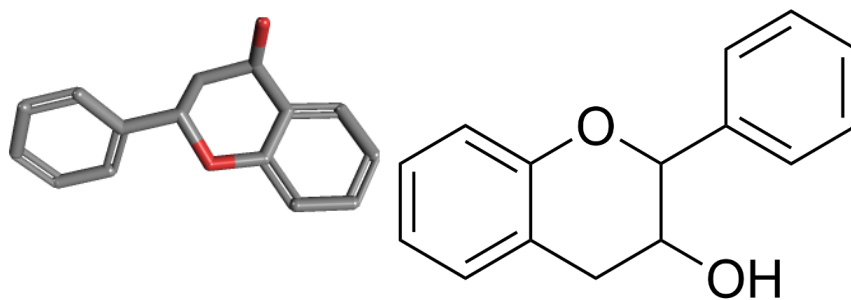
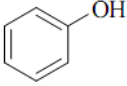
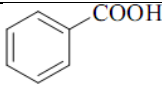
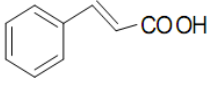
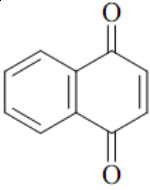
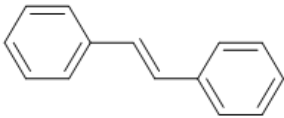
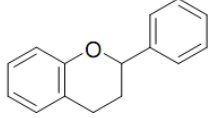


Figure II-13. Structure de base des flavanol.

Tableau II-1. Principales classes de composés phénoliques [36].

Squelette carboné	Classes	Exemple	Origine	Structures de base
C6	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïques	Epices, fraise	
C6-C3	Acides Hydroxycinnamiques, Phenylpropènes, Coumarines, Isocoumarines, Chromones	Acide caféique, acide Férulique, Myristicin, eugénol, Scopolétine, Myristicine, eugénol, Eugenine	Pomme de terre, Pomme, citrus	
C6-C4	Naphtoquinones polyphénols	Juglone, plumbagine	Noix	
C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine		
C6-C2-C6	Stilbènes, Anthraquinones	Resvératrol, Anthraquinones	Vigne	
C6-C3-C6	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daïdzéine	Fruit, légumes,	
(C6-C3)2	Lignanes, Neolignanes	Daidzéine, Pinorésinol	Pin	
(C6-C3-C6)2	Biflavonoides	Amentoflavone		
(C6-C3) <i>n</i>	Lignines		Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki	
(C6-C3-C6) <i>n</i>	Tanins condensés			

II.2.3 Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux. On distingue: les tanins hydrolysables et condensés. (Figure II-14).

II.2.3.1 Les tanins hydrolysables

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique [37]. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude [38,39].

II.2.3.2 Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A. Ci-dessus est représenté le modèle de structure d'un tanin de type B [40].

Si R = H ou OH, la structure représente respectivement un procyanidine ou un prodelphinidine. La liaison 4-6 en pointillés est une alternative de liaison interflavanique. On note la présence d'unité terminale dans une telle structure [41].

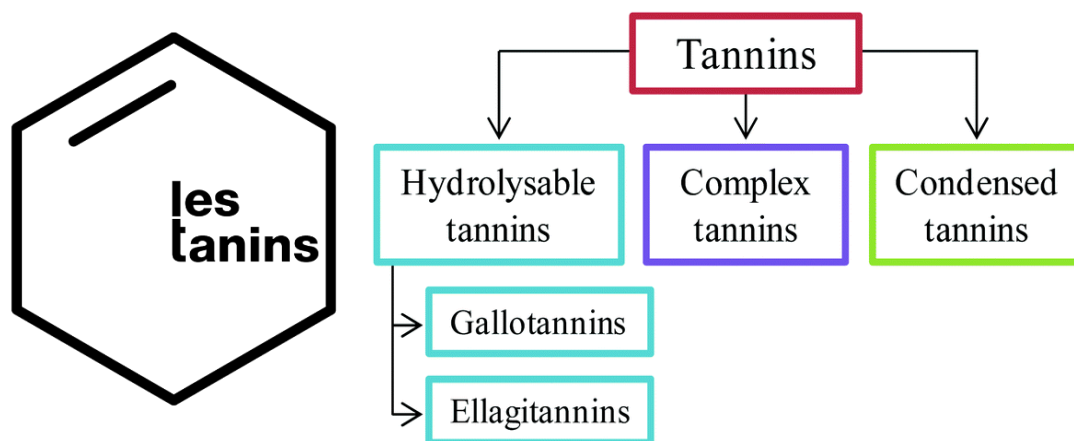


Figure II-14. Classification de tanins leurs structures chimique.

II.3. Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques

Les polyphénols semblent jouer un rôle important à la fois dans la protection contre le cancer et les maladies cardio-vasculaires [42]. L'action protectrice contre le cancer s'expliquerait par un mécanisme assez semblable à celui des prébiotiques par leur capacité à sélectionner un type particulier de microbiote [43], en particulier pour les cancers du système digestif (estomac, côlon, etc.).

II.4. Structures et classifications des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate, celles de l'acide shikimique conduisant après trans-amination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs dérivés et celles de l'acétate conduisant aux poly-cétoesters ou polyacétates (malonate). La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique [44].

Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques : de ce fait, on peut les retrouver très souvent présents sous ces formes. Les composés phénoliques peuvent être répartis en deux grands groupes : les Flavonoïdes et les non-flavonoïdes. (Figure II-15).

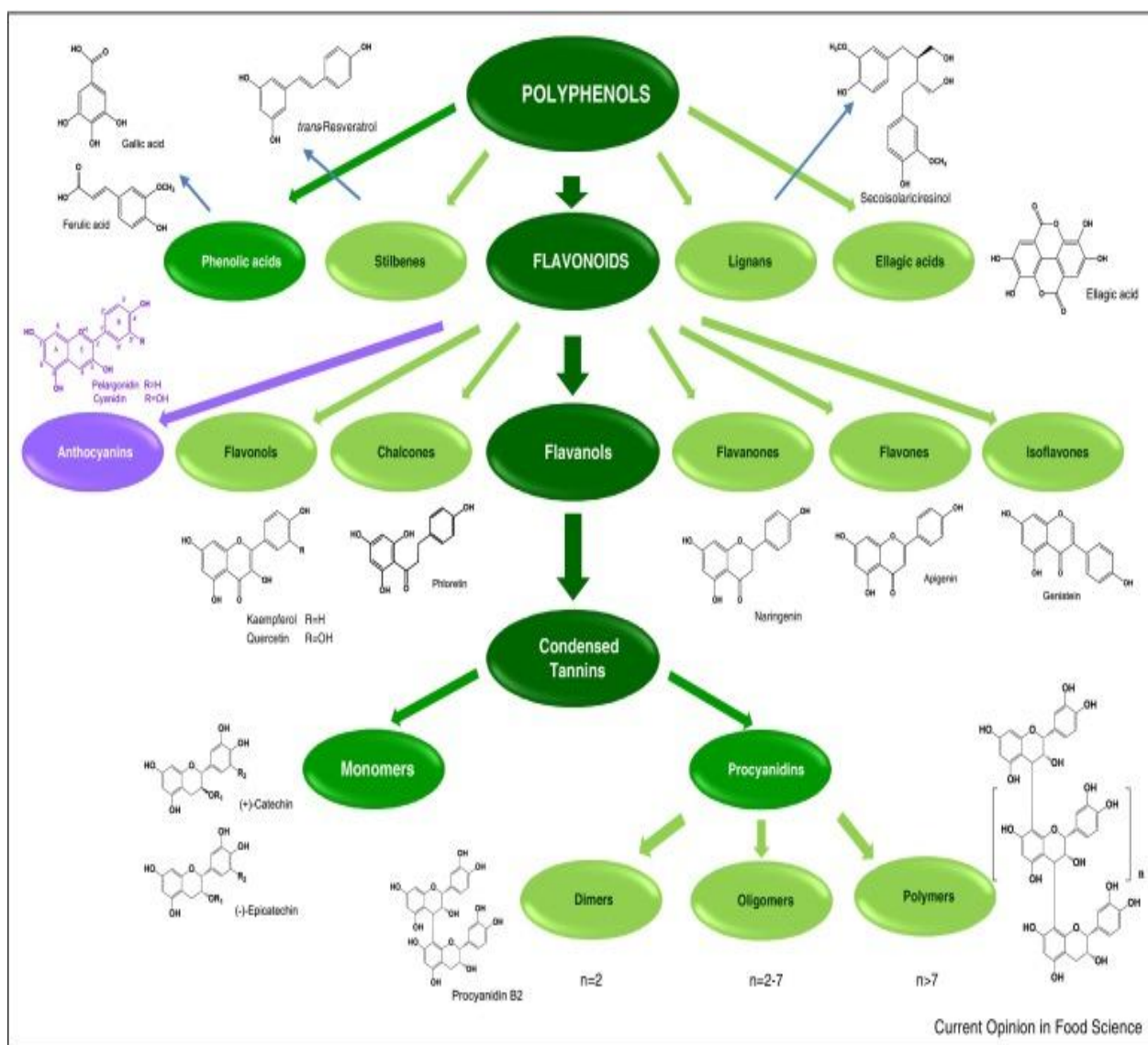


Figure II-15. Structures et classifications des composés phénoliques.

II.5. Rôle des polyphénols dans les plantes

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries.

D'autre part, les composés phénoliques possèdent souvent une activité antimicrobienne. Ainsi, il a été montré que les catéchines des feuilles du thé inhibent la croissance de micro-organismes en altérant des fonctions membranaires des pathogènes, les détruisant à plus ou moins long terme [45].

II.6. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. La molécule d'oxygène (ou dioxygène, O₂) présente la particularité d'avoir la structure d'un biradical libre (Figure II-16). En raison de ses deux électrons célibataires situés sur les deux orbitales de plus grande énergie.

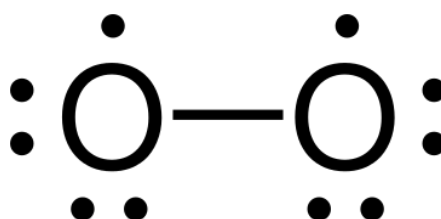


Figure II-16. La molécule biradical libre de dioxygène.

II.6.1 Rôle des radicaux libres

II.6.1.1 Rôle des radicaux libres chez l'homme

De nombreux ligands extracellulaires sont capables d'induire la production cellulaire d'ERO, après interaction avec leur récepteur spécifique. Ces ERO contribuent donc à la transduction du signal, mais assurent également l'amplification de ce signal. Par exemple, cela va se traduire par l'activation de la NAD(P)H oxydase qui formera l'anion superoxyde, et contribuera à l'activation de phosphorylases, dont les cibles sont des protéines.

En résumé, les mécanismes d'action principaux des ERO sont alors de déclencher ou d'amplifier un signal intracellulaire par deux mécanismes principaux (par modification de l'équilibre redox intracellulaire et par modification oxydative des protéines).

Les ERO sont également à l'origine de l'action bactéricide par les leucocytes (Delattre *et al.*, 2005c).

II.6.1.2 Rôle des radicaux libres chez les plantes

Les ERO sont continuellement produites chez les plantes selon le métabolisme aérobie. En fonction de leur nature, certaines, très toxiques, sont rapidement détoxifiées par divers mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques.

Alors que les végétaux génèrent pléthore de processus pour combattre la croissance des ERO produites dans les conditions de stress abiotique (chocs thermiques, irradiation excessive, couche d'ozone, sécheresse, salinité...), dans d'autres circonstances, ils peuvent tout aussi

engendrer délibérément des ERO au titre de molécules signal afin de contrôler de nombreux phénomènes comme la défense contre des pathogènes (stress biotique), la mort cellulaire programmée (apoptose) et le comportement stomatique (Apel et Hirt, 2004; Smirnov, 2005).

II.7. Activité antioxydante. [46-48]

Les antioxydants sont des molécules qui contribuent à la protection de notre corps contre des substances potentiellement dangereuses que l'on appelle radicaux libres. Le thé en est une source très importante notamment de flavonoïdes dont le rôle est la neutralisation des radicaux libre

Chapitre III :

Matériel et méthode

III.1. Matériels et méthodes

III.1.1. Réactifs chimiques et appareillage

Tous les produits chimiques utilisés sont de qualités analytiques. Les réactifs chimiques nous ont été fournis par les sociétés Sigma Aldrich (France), Alpha Asear (France).

Le solvant utilisé et fournit par services des alcool kharoba Alger.

A. Les différents produits utilisés pour nos analyses sont les suivants :

- Ethanol 96% ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) Production par services des alcool kharoba Alger.
- Réactif Folin Ciocalteu ($3\text{H}_2\text{O}$, P_2O_5 , 13WO_3 , 5MoO_3 , $10\text{H}_2\text{O}$) Production par (PROLABO).
- Trichlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) Production par (BIOCHEM Chemo pharma).
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3) Production par (BIOCHEM Chemo pharma).
- Acétate de sodium (CH_3COONa) Production par (BIOCHEM Chemo pharma).
- Acide gallique 99% ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) Production par (PROLABO).
- Quercitainate dihydraté 97% ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$) Production par (ALFA AESAR).
- DPPH 95% ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$) Production par (ALFA AESAR).
- Acide Sulfurique 98% (H_2SO_4) Production par (BIOCHEM Chemo pharma).
- Sodium phosphate monobasic dehydrate $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ Production par (BIOCHEM Chemo pharma).
- Ammonium molybdate tetrahydrate $\text{H}_24\text{MO}_7\text{N}_6\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Production par (BIOCHEM Chemo pharma).

B. Les différents appareils utilisés pour nos analyses sont les suivants :

- Balance analytique (Shanghai Sunrise Instrument précision 0.0001g).
- Un Rota vapeur de marque B.U.C.H.I modèle R-210, équipé par un refroidisseur supérieur.
- Un spectrophotomètre Shimadzu UV-Vis 1800, caractérisé par une haute résolution et une erreur inférieur à 0.01 nm. Cet appareil lié avec un microordinateur pour faciliter le traitement des résultats.
- Spectrophotometer FTIR – 1 (FTIR- 8400S SHIMADZU).
- Un chromatographe liquide haute performance HPLC (RP - HPLC) de marque Shimadzu composé par un dégazeur DGU-20 A₃, deux pompes LC-20 AT couplé à un détecteur UV-Visible SPD-20 A et équipé d'une boucle d'injection de 20 μl et d'une colonne CTO-20 AC (RP C18 taille 4.6 mm x 150 mm ; avec une taille de particules de 5 μm),

III.1.2. Matériels végétaux

Les matériels végétaux utilisés au cours de notre étude sont d'origines de la région d'Oued Souf. On obtient notre plante *Neurada procumbens* L en face de la gazelle d'or en 29 janvier 2018.

III.2 Méthodologie

III.2.1. Préparation des extraits

La récolte de la plante est effectuée le 29/01/2018 dans la zone du waziten commune d'El Oued, à 11H30. On sépare la plante sur trois échantillons, les feuilles, les branches et la plante complète pour la comparaison. Puis, les échantillons sont soumis à une lavage par l'eau distillé pour éliminer le sable et les sels. On laisse les trois échantillons séchés à la température ambiante a l'air libre.

Après lavage, on a calculé les poids de trois échantillons, pour les feuilles est égale à 82.75 grammes, Les branches sont égales à 94.55 grammes, et la plante complète est égale à 53.25 grammes. Le séchage des échantillons sont effectuées à l'aide d'une étuve à 55°C. On mesure chaque fois la masse de chaque échantillon pour contrôler la cinétique de séchage, et on a tracé les courbes de cinétique de séchage pour chaque échantillon.

Tableau III-2. Cinétique de séchage de l'échantillon des feuilles *Neurada procumbens* L

TEMPS	0 H	1 H	2 H	3 H	5 H	6 H	24 H	27 H	28 H	30 H	34 H
Feuilles	10 g	9.12 g	8.31 g	7.60 g	6.22 g	5.51 g	3.12 g	3.11 g	3.10 g	3.05 g	3.00 g

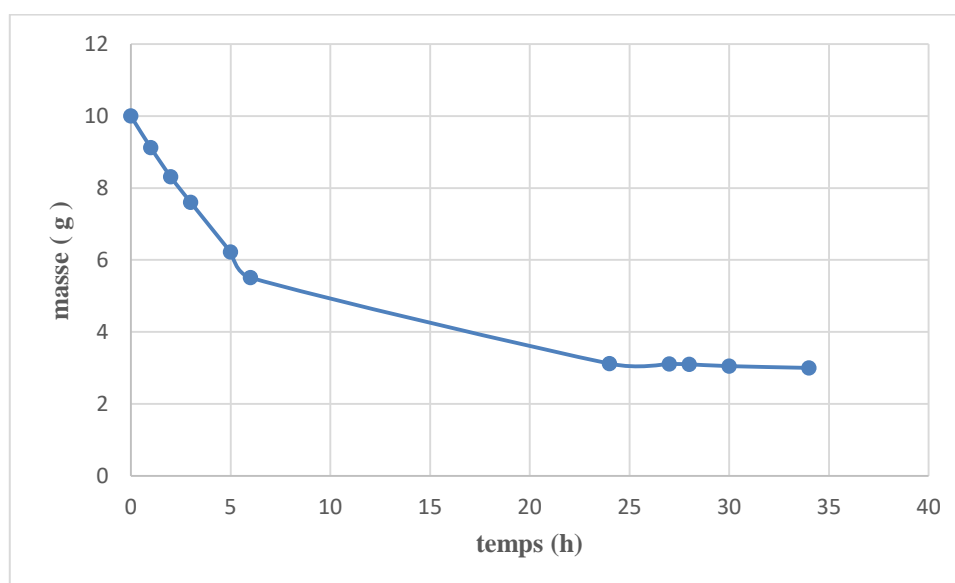


Figure III-17. Cinétique de séchage de l'échantillon des feuilles *Neurada procumbens* L.

Tableau III-03 : Cinétique de séchage de l'échantillon des branches *Neurada procumbens* L

TEMP	0 H	1H	2H	3H	5H	6H	24H	27H	28H	30H	34H
branches	10.00	09.32	08.66	08.16	07.11	06.53	02.29	02.09	02.05	02.03	02.00

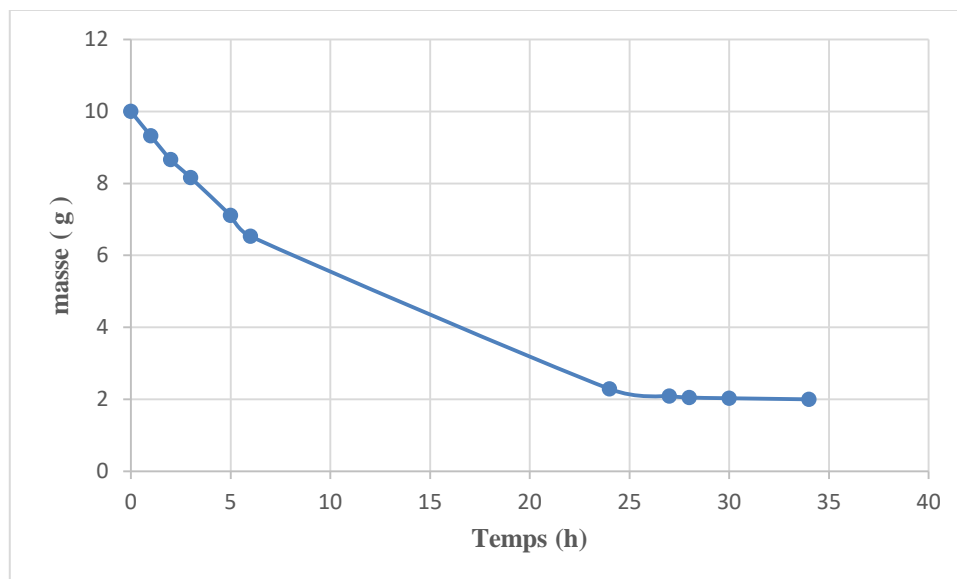


Figure III-18. Cinétique de séchage de l'échantillon des branches *Neurada procumbens* L.

Tableau III-4: Cinétique de séchage de l'échantillon de la plante *Neurada procumbens* L

TEMP	0 H	1H	2H	3H	5	6H	24H	27H	28H	30H	34H
Plante	10.00	09.40	08.78	08.31	07.20	06.59	02.97	02.83	02.80	02.70	02.60

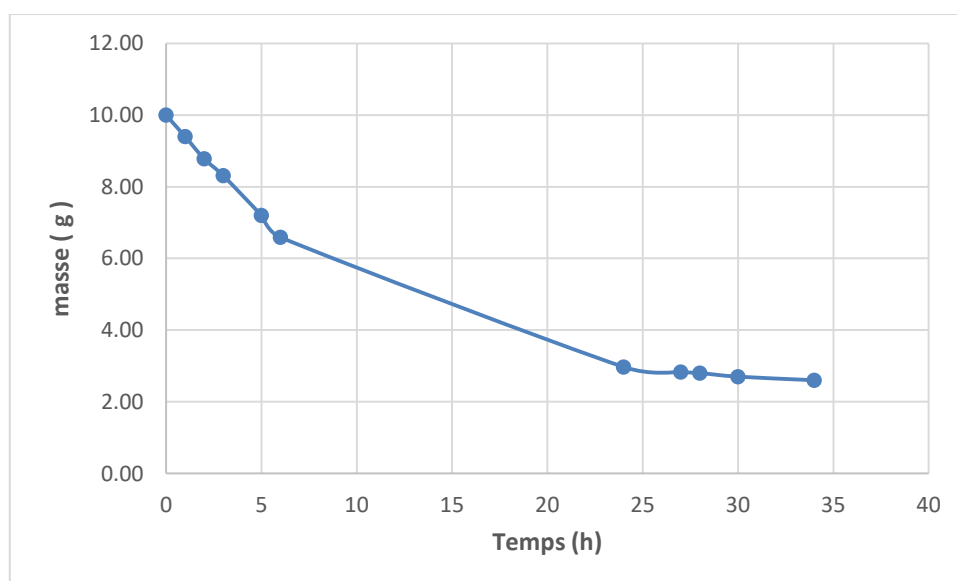


Figure III-19. Cinétique de séchage de l'échantillon de la plante *Neurada procumbens* L.

Dans le cinquième jour et après le séchage en mesure la masse de trois échantillons étudiées. Pour les feuilles est égale à 25 grammes, pour les branches est égale à 18 grammes et pour la plante complète est égale à 13 grammes.

Le tableau suivant résume le taux d'eau et les matières sèches dans les trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L :

Tableau III-5 : Quantité d'eau et matière sèche pour les trois échantillons de la plante.

Extrait	Taux d'eau	Taux de matière sèche
Les feuilles	70 %	30 %
Les branches	80 %	20 %
La plante	74 %	26 %.

En fin on broye les trois échantillons, on trouve les échantillons sous forme de coton. On prend 15 gramme pour les feuilles et on ajoute 300 ml d'éthanol c'est à dire vingt fois la masse des feuilles. On prend 15 grammes pour les branches et on ajoute 300 ml d'éthanol. Pour la plante complète on utilise 11 grammes et on ajoute 220 ml d'éthanol.

On laisse les trois échantillons dans l'éthanol 24 heures avec l'agitation. Après on passe à l'étape de filtration.

Cet appareil est basé sur la pression et on utilise une pompe à vide pour séparer les extraits et la matière solide. Après, on utilise le rota vapeur pour récupérer l'extrait solide de chaque échantillon. On mesure les masses des extrais récupérés de trois échantillons et on résume les résultats dans le tableau suivant:

Tableau III-6 : Masse des extraits des trois échantillons de *Neurada procumbens* L.

Extrait	La masse de l'extrait
Les feuilles	1.107 grammes
Les branches	1.100 grammes
La plante complète	0.742 m grammes

Aussi, on mesure les rendements d'extraction de trois échantillons et on représente les résultats dans le tableau suivant :

Le rendement : (la masse de l'extrait / la masse de la matière végétale) *100.

Tableau III-7 : Les rendements d'extraction des trois échantillons de *Neurada procumbens* L.

Extrait	Rendement (%)w/w
Les feuilles	7,38 %.
Les branches	7,38 %.
La plante complète	6,75 %.

III.3. Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, et flavanol totaux :

III.3.1 Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [49].

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 700 nm.

Il ya trois échantillons, nous avons étudié les feuilles, les branches, et la plante de *Neurada procumbens* L, mais on prépare les trois échantillons de même protocole. 10 mg de l'extrait pour chaque échantillon et ajouté à 10 ml de l'éthanol 96° pour préparer une concentration 1 mg /ml pour chaque échantillon. Puis, 0,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu et ajouté à 4,5 ml de l'eau distillé, Folin-Ciocalteu est délié dix fois, on prépare aussi la solution de Na_2CO_3 et déliée dix fois à l'eau rapport (10/90). 1 ml de chaque extrait ajouté à 1ml de Folin-Ciocalteu et 0.2 ml de Na_2CO_3 , on prépare le blanc du même protocole précédent mais on remplace l'extrait à l'éthanol c'est-à-dire 1 ml de l'éthanol plus 1 ml de Folin-Ciocalteu plus 0,2 ml de Na_2CO_3 [50]. Puis on laisse les échantillons 40 minute on lit la longueur d'onde à 700 nm en représente les résultats (mg extrait /ml éthanol) dans le tableau suivant :

Tableau III-8 : L'absorption des trois échantillons de *Neurada procumbens* L.

Extrait	La concertation	L'absorbance
Les Feuilles	0.1 mg /ml	0.50
Les branches	0.1 mg /ml	0.564
La plante complète	0.1 mg /ml	0.364

III.3.2. Courbe d'étalonnage pour le dosage de polyphénols totaux (PPT)

Cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EGa/ gMs). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9494$ (figure III-20).

Pour tracer cette courbe on utilise quatre différentes concentrations de l'acide gallique avec l'éthanol 96° (0.02, 0.04, 0.06, 0.08) mg de l'acide gallique / ml de l'éthanol 96°).

On prend 1ml de l'acide gallique diluée et on ajoute 1ml de foulon et on ajoute 0.2 ml de Na_2CO_3 et on prépare le blanc pour lire à UV visible et on remplace l'acide gallique à l'éthanol et on laisse les échantillons 40 minutes. On lit la longueur d'onde à 700 nm en représente les résultats dans le tableau suivant :

Tableau III-9 : L'absorption de l'acide gallique à l'éthanol à différentes concentrations

La concentration (mg d'acide gallique /ml)	0.02	0.04	0.06	0.08
L'absorption	0.300	0.557	0.623	0.936

On trace la courbe d'étalonnage de l'acide gallique avec l'éthanol 96° en fonction de l'absorption en représente les résultats dans la figure suivante :

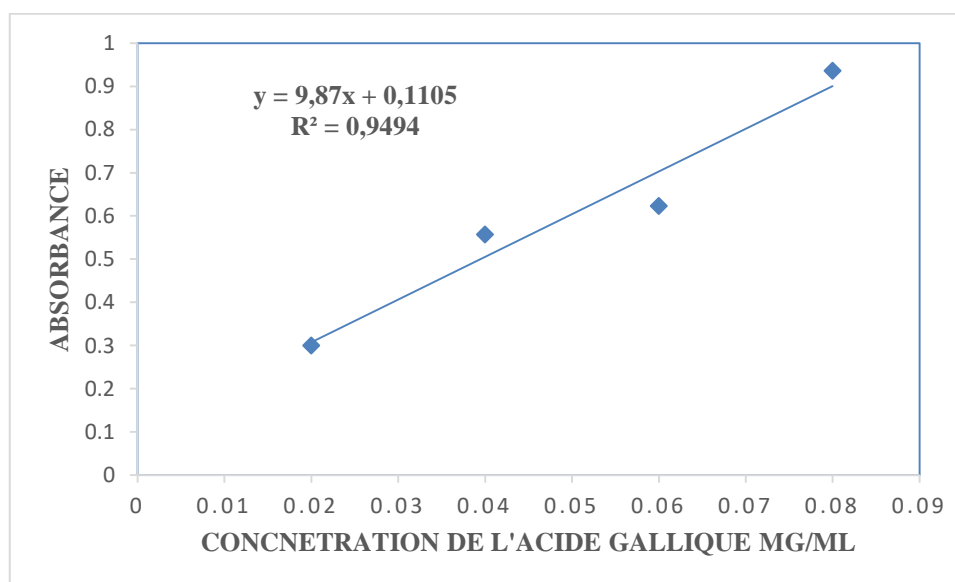


Figure III-20. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.

III.3.3 Dosage des flavonoïdes totaux:

La méthode utilisée pour l'estimation des taux de flavonoïdes est celle décrite par Ordonnez [51].

La coloration jaunâtre donnée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [52].

On prend un volume de 0.5 (AlCl₃, 2 %), on ajoute 0.5 ml de l'extrait, pour le blanc remplacé 0.5 ml de l'extrait par l'éthanol. Puis on laisse les échantillons 60 minute et on lit l'absorption par spectrophotomètre UV-visible à 420 nm en obtienne les valeurs suivantes:

Tableau III-10 : L'absorption des trois échantillons de *Neurada procumbens* L.

Extrait	La Concertation	L'absorption
Les feuilles	0.5 mg /ml	0.641
Les branches	0.5 mg /ml	0.481
La plante complète	0.5 mg /ml	0.730

III.3.4 Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavonoïdes totaux (FVT)

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la quercétine. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9987$ (figure III-21). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg E QE /g Ms).

Pour trace cette courbe en utilise cinq échangions à déférente concentration de quercétine avec l'éthanol 96° (0.0015, 0.008, 0.009, 0.02) mg de quercétine / ml de l'éthanol 96°).

On prend 0.5 ml dès quercétine et on ajoute 0.5 ml de (AlCl₃, 2 %), et on prépare le blanc pour lire à UV visible et en remplacée quercétine a l'éthanol.et en laisse les échantillons 60 minute et en fin lire l'absorption à la machine spectrophotométrie UV-visible. En lire la longueur d'onde à 420 nm en représente les résultats dans le tableau suivant :

Tableau III-11 : L'absorption quercétine à l'éthanol a différant concentration.

La concentration (mg de quercétine /ml)	0.0015	0.008	0.009	0.02
L'absorption	0.135	0.505	0.586	1.167

En trace la courbe d'étalonnages de quercétine avec l'éthanol 96° en fonction de l'absorption en obtienne les résultats dans la (figure III-21) :

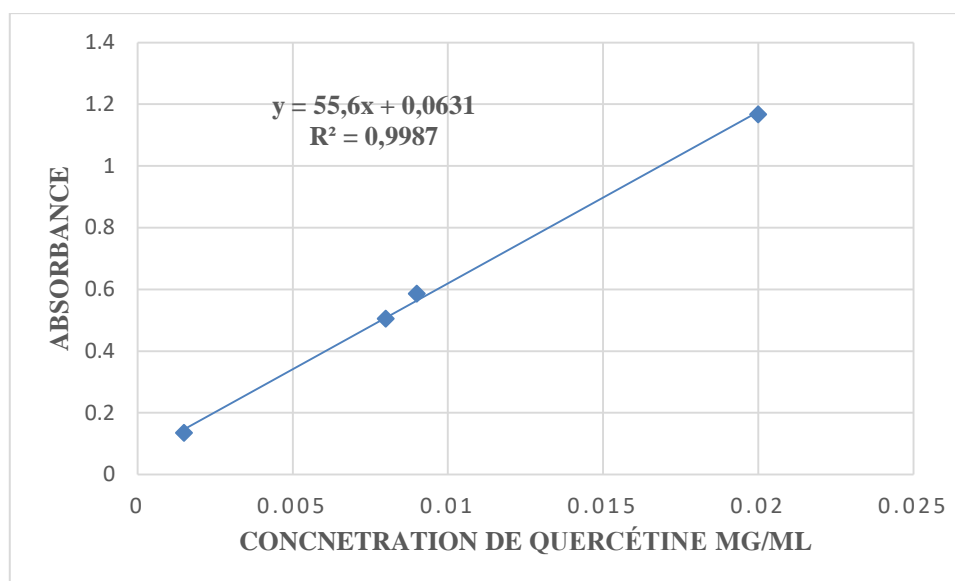


Figure III-21. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes totaux.

III.3.5 Dosage des flavanol totaux:

La méthode utilisée pour l'estimation de taux de flavanols totaux est celle décrite par Kumaran et Karunakaran.

En prend un volume de 1 ml dès l'extrait et en ajoute 1 ml de (AlCl_3 , 2 %) et en ajoute 1.5 ml acétate de sodium (50 gramme/litres), pour le blanc remplacé l'extrait par l'éthanol. Puis en laisse les échantillons 150 minute et en fin lire l'absorption par spectrophotomètre UV-visible à 440 nm en obtienne les valeurs suivantes:

Tableau III-12 : L'absorption des trois échantillons de *Neurada procumbens* L.

Extrait	La Concertation	L'absorption
Les feuilles	1 mg /ml	0.351
Les branches	1 mg /ml	0.270
La plante complète	1 mg /ml	0.346

III.3.6 Courbe d'étalonnage pour le dosage de flavanol totaux (FLT)

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la quercétine. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9969$ (figure III-22). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg QE /g Ms).

Pour trace cette courbe en utilise quatre échantillons à déférente concentration de quercétine avec l'éthanol 96(0.01, 0.02, 0.03, 0.04) mg de catéchine / ml de l'éthanol 96°).

En prend 1 ml d'extraits de quercétine et on ajoute 1 ml de (AlCl_3 , 2 %), et on ajoute 1.5 ml (acétate de sodium 50 gramme/litres). Le blanc pour lire à UV visible et on remplace quercétine à l'éthanol. et on laisse les échantillons 150 minute et on lit l'absorption à la machine spectrophotométrie UV-visible. En lire la longueur d'onde à 440 nm en représente les résultats dans le tableau suivant:

Tableau III-13: L'absorption quercétine à l'éthanol a différent concentration.

La concentration (mg de quercétine /ml)	0.01	0.02	0.03	0.04
L'absorption	0.479	0.747	0.983	1.297

En trace la courbe d'étalonnages de quercétine avec l'éthanol 96° en fonction de l'absorption en obtienne les résultats dans la (figure III-22) :

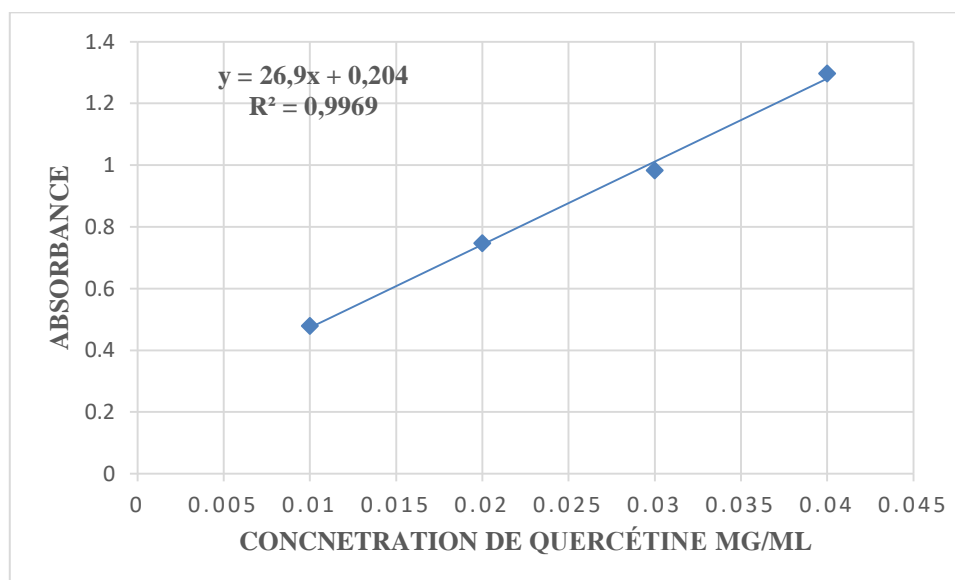


Figure III-22. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavanol totaux.

III.4. Détermination de l'activité antioxydante des extraits :

III.4.1 Le test DPPH :

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant.

En effet, le DPPH est un radical libre stable. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution à examiner.

L'évaluation de la capacité antioxydant est réalisée comme suit : à 0.5 ml d'une solution éthanolique de DPPH (3.9 mg DPPH dans 50 ml éthanol) a été mélangé 0.3 ml de l'extrait des échantillons. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol pur. Le contrôle est la solution DPPH avec le solvant (éthanol). [53]

La préparation des échantillons et du témoin est réalisée dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le % IC (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\% \text{ IP} = [(A_{t_0} - A_{t_{30}}) / A_{t_0} \times 100]$$

Avec A_{t_0} : absorbance du témoin (ne contenant aucun antioxydant) après 30 minutes

$A_{t_{30}}$: absorbance des extraits mesurés après 30 minutes.

L'activité anti radicalaire exprimée en IC_{50} (mg / ml), la dose anti radicalaire nécessaire pour provoquer 50% d'inhibition. Toutes les résultats présentés sont des moyennes (\pm SEM) et analysées avec trois répétitions.

En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration le % IC correspondant, nous avons établi une régression linéaire entre les différentes concentrations et les % IC.

A partir de cette régression, nous avons déduit la valeur correspondante d' IC_{50}

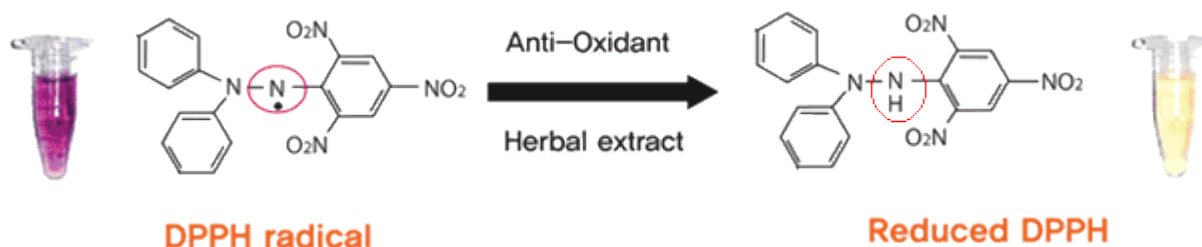


Figure III-23. Réduction du radical libre DPPH.

III.4.2. Le test DPPH pour les feuilles de *Neurada procumbens* L:

En préparée six échantillons à déférente concentration partir de 0.01 mg/ml à 0.5 mg/ml des feuilles de la plante *Neurada procumbens* L. et en suite en préparée le blanc éthanol pur 96°. Et en suite en préparée le contrôle de la solution DPPH avec le solvant éthanol. et en utilisée le teste DPPH à partir de cette concentration de l'extrait en obtienne les résultats dans le (tableau III-14) Suivant :

L'absorption de solution DPPH avec le solvant éthanol est égale $A_{t_0} = 0.940$.

En fin en obtienne les résultats dans le tableau suivante (tableau III-14):

Tableau III-14: Présente la concentration et l'absorption et pourcentage d'inhibition des feuilles.

La concentration	0.01	0.03	0.06	0.09	0.2	0.5
L'absorption	0.890	0.731	0.634	0.511	0.125	0.058
% IP	5.32	22.23	32.55	45.63	86.70	93.83

En utilisée les valeurs de cette tableau pour trace la courbe d'effet d'extrait des feuilles de *Neurada procumbens* L sur le radical DPPH (% IP en fonction des concentrations). En obtienne la courbe suivant (figure III-24):

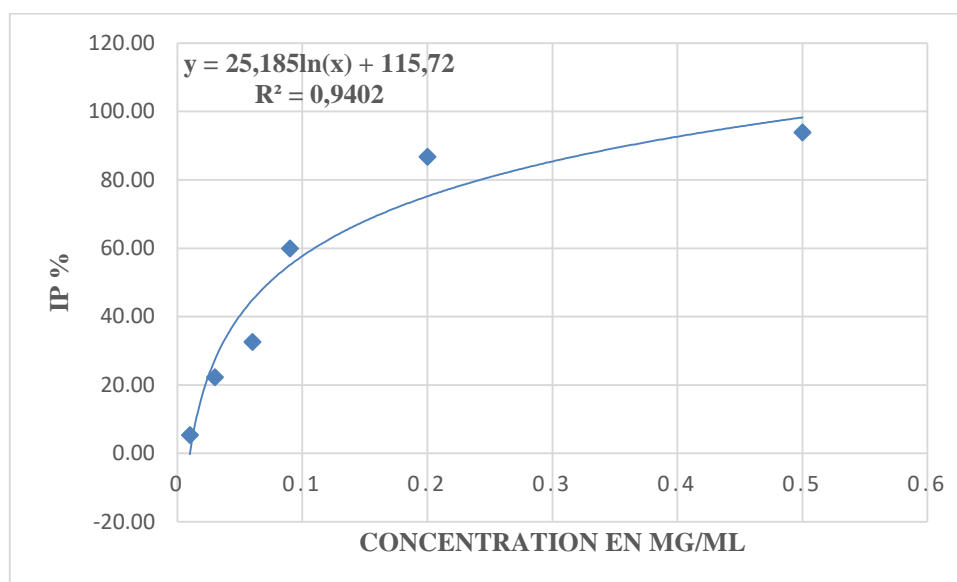


Figure III-24. Effet d'extrait des feuilles de *Neurada procumbens* L sur le radical DPPH.

III.4.3. Le test DPPH pour les branches de *Neurada procumbens* L :

Dans les mêmes conditions en préparées les déférentes concentrations dès les branches de la plante *Neurada procumbens* L.

En fin en obtienne les résultats dans le tableau suivante (tableau III-15):

Tableau III-15: Présente la concentration et l'absorption et pourcentage d'inhibition des branches.

La concentration	0.01	0.03	0.06	0.1	0.2	0.5
L'absorption	0.891	0.669	0.586	0.491	0.258	0.056
% IP	5.21	28.83	37.66	47.76	72.55	94.04

En utilisant les valeurs de ce tableau pour tracer la courbe d'effet d'extrait des branches de *Neurada procumbens* L sur le radical DPPH (% IP en fonction des concentrations). On obtient la courbe suivante (figure III-25):

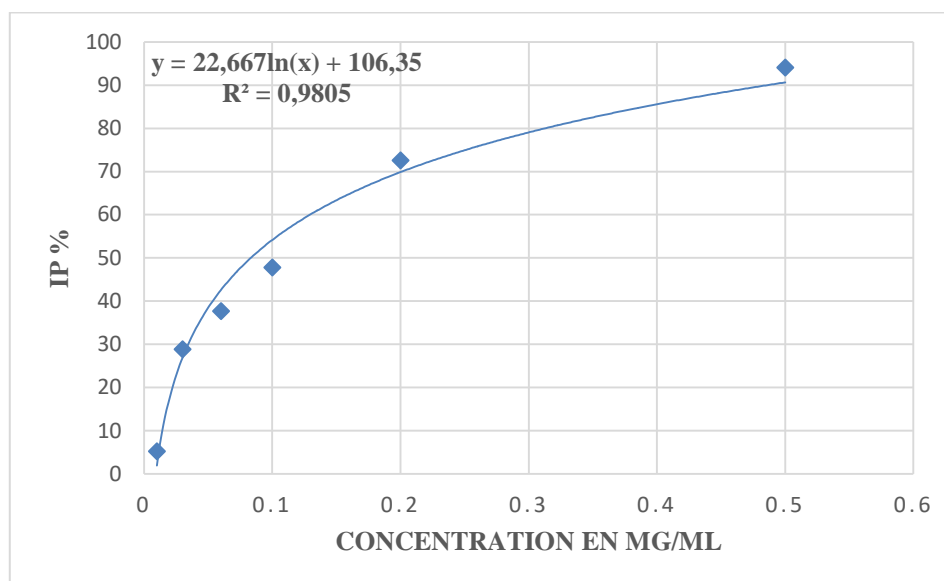


Figure III-25. Effet d'extrait des branches de *Neurada procumbens* L sur le radical DPPH.

III.4.4. Le test DPPH pour la Plante de *Neurada procumbens* L :

Dans les mêmes conditions on prépare les différentes concentrations de la plante *Neurada procumbens* L.

En fin on obtient les résultats dans le tableau suivante (tableau III-16):

Tableau III-16: Présente la concentration et l'absorption et pourcentage d'inhibition de *Neurada procumbens* L.

La concentration	0.01	0.03	0.06	0.09	0.2	0.5
L'absorption	0.910	0.812	0.714	0.479	0.327	0.067
% IP	3.20	13.61	24.04	49.04	65.21	92.87

En utilisant les valeurs de ce tableau pour tracer la courbe d'effet d'extrait des branches de *Neurada procumbens* L sur le radical DPPH (% IP en fonction des concentrations). On obtient la courbe suivante (figure III-26):

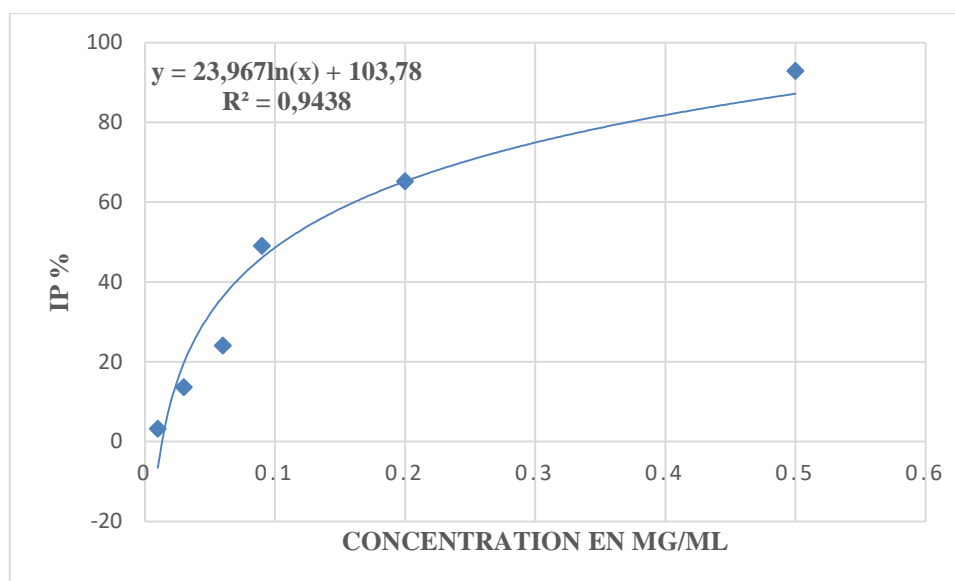


Figure III-26. Effet d'extrait de *Neurada procumbens* L sur le radical DPPH.

III.5. Activité antioxydante totale (CAT) :

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_4^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide. [54]

➤ Mode opératoire

Un volume de 0.1 ml de chaque extrait des concentrations de 0.1 mg/ml est mélangé avec 1 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 1 ml de la solution du réactif et 0.1 ml du solvant utilise l'éthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). [55]

En prend la concentration des trois échantillons est égale 0.1 mg/ml et en obtienne l'absorptions des trois concentrations a le tableau suivant (tableau III-17) :

Tableau III-17: Présente l'absorption des trois extraits de *Neurada procumbens* L.

Extrait	Les feuilles	Les branches	La plante
L'absorptions	0.620	0.545	0.554

III.5.1. Méthode de la Capacité anioxydante totale (CAT) :

L'acide ascorbique a été utilisée comme étalon à différentes concentrations, La teneur en capacité anioxydante totale est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg AA/g). Le taux de capacité anioxydante totale des extraits ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide ascorbique. (Figure III-27):

En prend déférentes concentration de l'acides gallique à l'éthanol et en obtienne déférentes absorptions les résultats obtenus dans le tableau suivant (tableau III-18):

Tableau III-18 : L'absorption de l'acide gallique à l'éthanol a différant concentration.

La concentration	0	0.02	0.04	0.08	0.1
L'absorption	0	0.06833	0.1805	0.332	0.5456

En prend les résultats de (tableau III-18) et en trace la courbe d'étalonnages de de l'acide gallique avec l'éthanol 96° en fonction de l'absorption en obtienne les résultats dans la (Figure III-27) suivant :

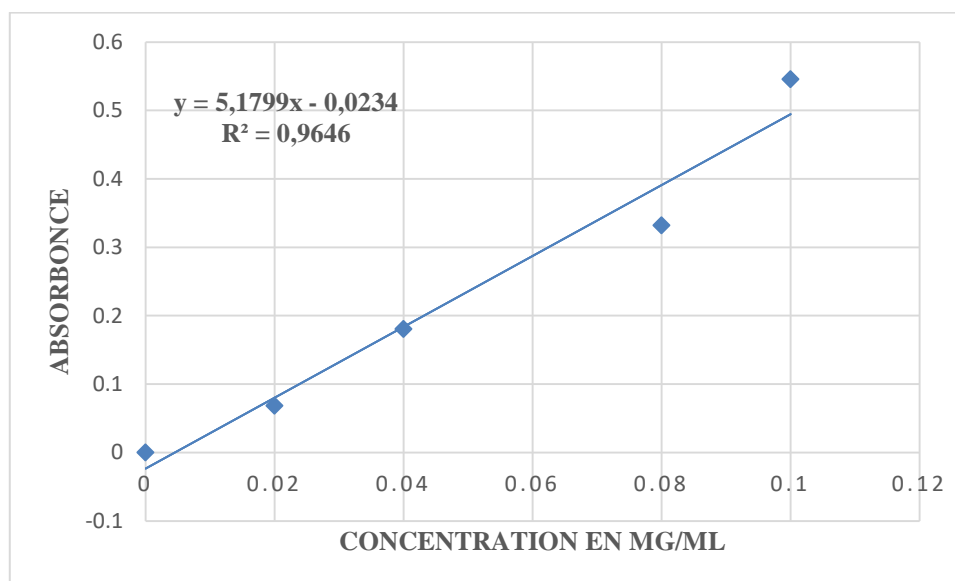


Figure III-27. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

III.6. La spectrophotométrie IR :

La spectrophotométrie infrarouge est une technique qui permet d'identifier la nature et les groupes fonctionnels des composés des liquides, des solides, des gaz, des poudres, des fibres, des films ou des surfaces. Elle s'intéresse à la caractérisation des groupements fonctionnels présents dans une molécule. L'analyse du faisceau infrarouge permet de détecter un certain nombre de bandes d'absorption qui correspondent aux modes de vibrations caractéristiques des divers groupements contenus dans les substances analysées. Le spectre infrarouge constitué par l'ensemble de ces bandes représente alors l'empreinte digitale de molécule. [56]

III.6.1. Principe de la machine IR

Le principe de cette spectroscopie est l'examen des radiations absorbées par l'échantillon permet d'identifier les transitions entre niveaux d'énergie et d'en déduire des informations sur la structure de la molécule, utilisé pour déterminer la composition d'un échantillon (fonction chimique).

III.6.2 Préparation des échantillons :

Matériel destiné à la confection des échantillons solides. Quelque mg composé à analyser sont mélangés avec plusieurs centaines de mg de KBr transparent en IR.

III.6.3. Analyses structurales des échantillons :

III.6.3.1. Analyses structurales des feuilles de variété *Neurada procumbens* L

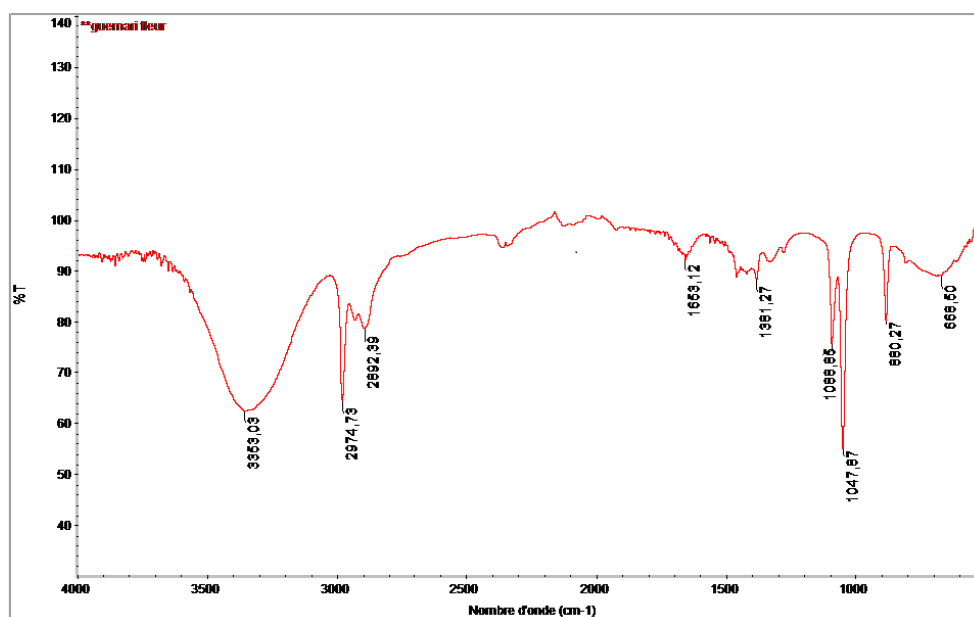


Figure III-28. Le spectre de FT-IR des feuilles de *Neurada procumbens* L.

III.6.3.2. Analyses structurales des échantillons des branches de *Neurada procumbens* L.

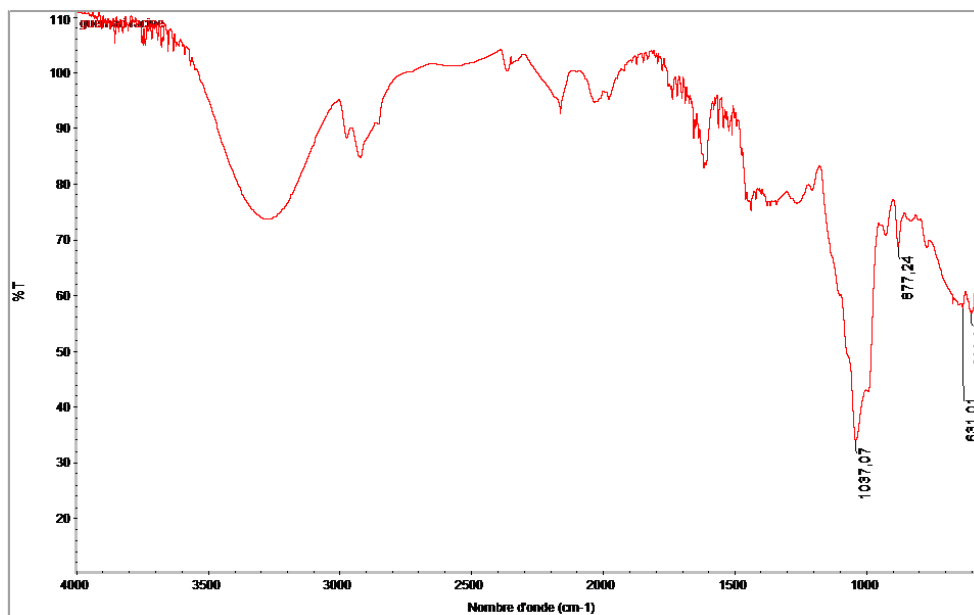


Figure III-29. Le spectre de FT-IR des branches de *Neurada procumbens* L.

III.6.3.3. Analyses structurales des échantillons de *Neurada procumbens* L.

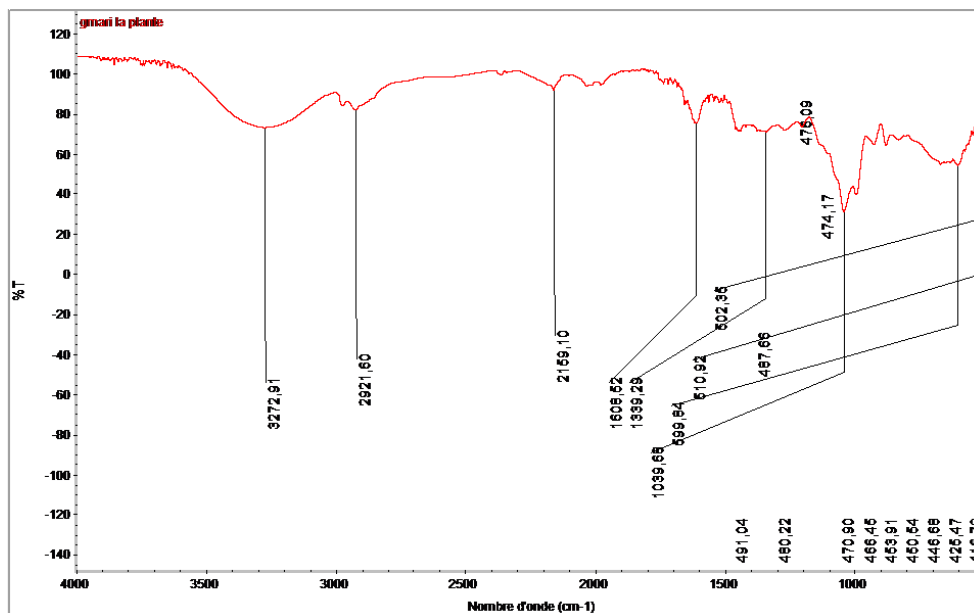


Figure III-30. Le spectre de FT-IR de *Neurada procumbens* L.

III.7. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La HPLC est un moyen très flexible et simple d'isoler et d'identifier les différents composés d'un mélange.

La HPLC peuvent être assez largement décrite par des théories communes. Un fluide appelé phase mobile traverse une colonne qui contient une phase solide (silices, silices fondues, silice greffées).

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il est entraîné par la phase mobile. Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange ayant des temps de rétentions différents sont séparés par élution. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplée à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme.

III.7.1. Appareillage

Les différentes parties constituant l'HPLC sont décrites ci-dessous :

- **Pompe** : une pompe est alimentée à partir des plusieurs flacons contenant des solvants de polarités différentes permet d'effectuer une programmation des solvants pour assurer un système de gradient.
 - En mode isocratique : 100% d'un mélange du même éluant tout au long de l'analyse,
 - En mode gradient, la concentration des constituants du mélange d'éluant varie en fonction du temps.
- **Injecteur** : c'est une vanne d'injection qui porte une boucle d'échantillonnage.
- **Colonne** : elle contient la phase stationnaire qui définit le type de chromatographie, soit en phase normale soit en phase inverse.
 - La phase normale :
Dans le cas d'une chromatographie en phase normale, la silice est greffée par des groupements polaires et l'éluant utilisé est apolaire.
 - La phase inverse :
Dans le cas de la phase inverse, la silice est greffée par des chaînes carbonées linaires (C8, C18 et l'éluant utilisé est polaire (ACN (acétonitrile), EtOH).
- **Détecteur** : un détecteur UV-visible à longueur d'onde variable (190-400 nm) qui permet de détecter les différents composés contenus dans l'échantillon à analyser. Notons qu'il est important que les produits à détecter portent un chromophore qui absorbe dans cette plage de longueur d'onde. Le principe de fonctionnement de l'HPLC est schématisé ci-dessous.

- **Les solvants**

L'équilibre en adsorption est un phénomène de compétition. Les molécules de la phase mobile entrent en compétition avec les molécules de solutés pour les sites polaires d'adsorption (séparation liquide-solide). Plus l'interaction entre la phase mobile et la phase stationnaire est forte moins l'adsorption du produit en solution sera importante. Les solvants sont donc classés selon leur force qui va dans le même sens que leur polarité.

III.7.2. L'Analyse par HPLC des composés phénoliques

III.7.2.1 Chromatogrammes HPLC d'extrait des feuilles de *Neurada procumbens* L :

Les résultats de la séparation des différents extraits de la feuille de *Neurada procumbens* L par la chromatographie liquide à haute performance HPLC sont illustrés dans les spectres suivants:

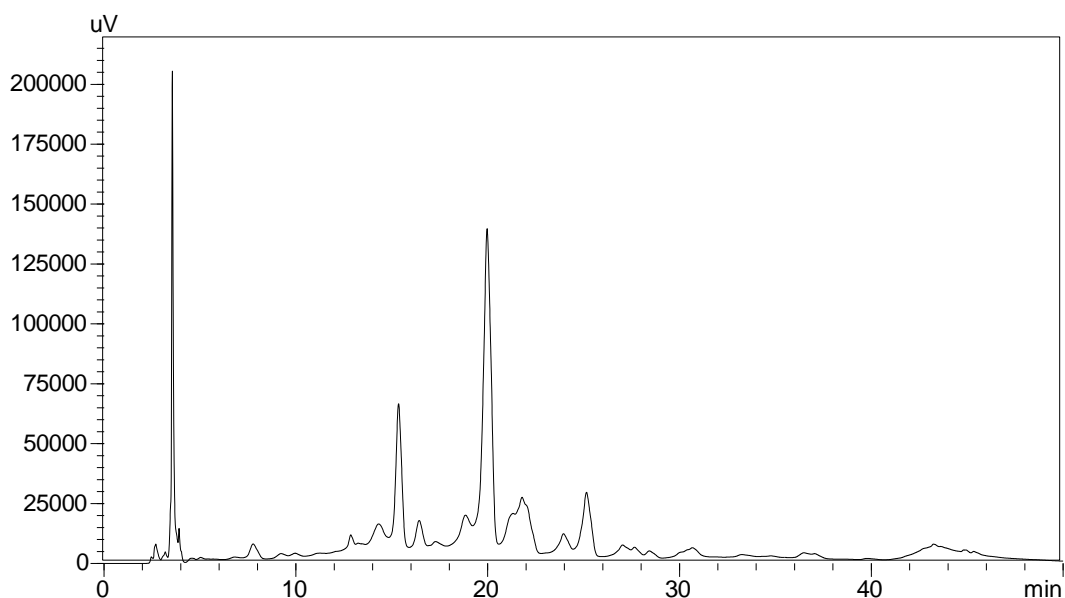


Figure III-31. Profil chromatographique HPLC de les feuilles de *Neurada procumbens* L.

III.7.2.2 Chromatogrammes HPLC d'extrait des branches de *Neurada procumbens* L :

Les résultats de la séparation des différents extraits de la branche de *Neurada procumbens* L. par la chromatographie liquide à haute performance HPLC sont illustrés dans les spectres suivants:

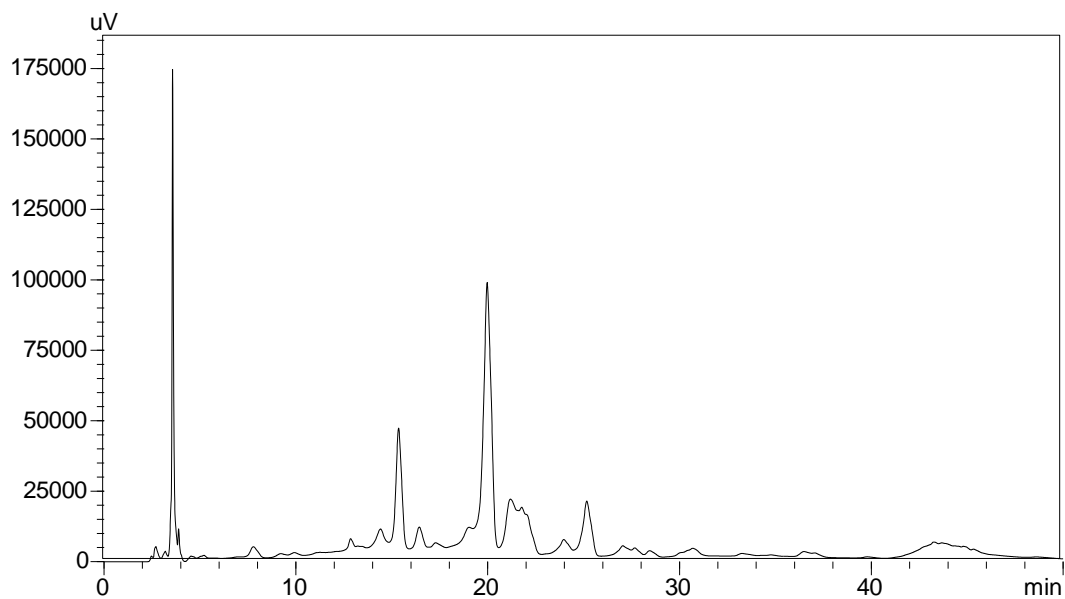


Figure III-32. Profil chromatographique HPLC des branches de *Neurada procumbens* L.

III.7.2.3 Chromatogrammes HPLC d'extrait de la plante *Neurada procumbens* L :

Les résultats de la séparation des différents extraits de la plante *Neurada procumbens* L par la chromatographie liquide à haute performance HPLC sont illustrés dans les spectres suivants:

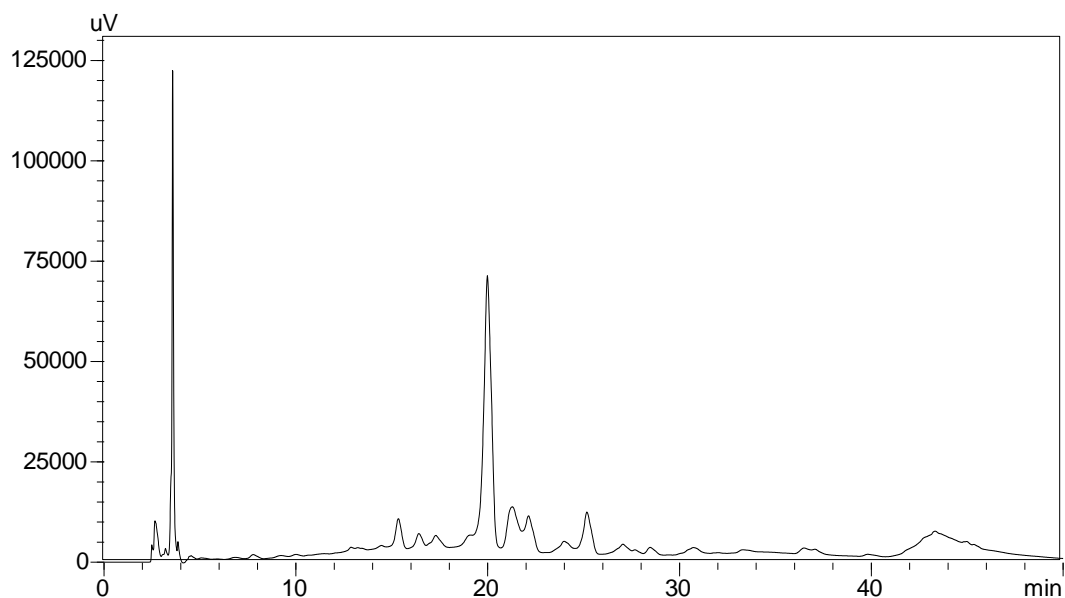


Figure III-33. Profil chromatographique HPLC de la plante *Neurada procumbens* L.

III.8. Evaluation de l'activité antibactérienne :**III.8.1. Méthode de diffusion en milieu gélose (méthode des disque) :****➤ Définition :**

L'aromatogramme ou méthode par diffusion en gélose ou encore méthode de disques dite méthode de [Vincent] est rapport par [Kar et Jain (1971)]. Est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide.

➤ Principe :

Elle consiste de mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour d'une source d'antibiotique déposée à la surface de la gélose.

➤ Les échantillons :

Dans ce travail, l'éthanol a été utilisé comme solvant d'extraction et de conservation des extraits obtenus. Il a été utilisé, également comme témoin dans les tests antibactériens de ces extraits. Et en utilisée trois antibiotiques GEN 50 et C 30 et CFM 5. Et en préparées cinq concentrations a déférentes extrait avec éthanol (1 mg/ml,5 mg/ml,10 mg/ml,15 mg/ml,20 mg/ml). Cinq concentrations des chaque échantillon. Des trois échantillons les feuilles de la plante, les branches de la plante, la plante complète *Neurada procumbens* L.

III.8.2. Provenance des souches :**➤ Bactérie :**

Cinq souches collection internationale ATCC (American type culture collection) Sont utilisées dans cette étude. Ce sont des souches préservées au niveau du l'institut de Pasteur, qui sont largement rencontrées dans divers pathologies l'homme.

Tableau III-19. Souches bactériennes testées pour l'activité antibactérienne.

N°	Souches	Codes	Origine
B1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	IP
B2	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	IP
B3	Listéria CLIP	ATCC74915	IP
B4	Klebsiella		IP
B5	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC27924	IP

➤ Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés pour réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour la l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plante.

➤ Préparation d'inoculum

Cette manipulation comporte les étapes suivantes:

1. – Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie bactérienne bien isolée.
2. – Transvaser le contenu de l'ose dans un boites de pétri contenant 20 ou 25 ml de milieu nutritif stérile.
3. – Incuber par la suite les boites de pétri à essai à 37°C pendant 24 h.

➤ Préparation des disques

1. – Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Whatman N° 1).
2. – Stériliser les disques à l'autoclave, à 120°C pendant 60 minutes.

➤ Test d'activité antibactérienne

1. – Couler dans les boites de pétri une quantité de gélose nutritive équivalente à 20 ou 25ml.
2. – Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification.
3. – Déposer quelques gouttes de la suspension bactérienne (inoculum) sur la surface de la Gélose, puis étaler à l'aide un râteau.
4. – S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée.
5. – Déposer à l'aide d'une pince stérile les disques (4 à 5 disques par boite), imprégnés d'extrait végétal, sur la surface de la gélose.
6. – Placer les boites de pétri à basse température (+4°C) pendent 15 à 30 min afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier.
7. – Retirer les boites du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37°C) pendent 24 h. Les boites doivent être placées couvercle en bas.

Afin d'évaluer précisément l'activité antibactérienne de ces extraits, procéder un test préliminaire antibactérien de ce solvant vis-à-vis des germes étudiés (mêmes étapes précédentes).

➤ Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

Tous les résultats sont exprimés en terme de zone d'inhibition [57].

- 6 mm inactive.
- 6.6 à 9 mm activité très basse.
- 9 à 12 mm activité basse.
- 12 à 15 mm activité moyenne.
- 12 à 15 mm activité élevée.

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Résultats et discussions des PPT, FVT et FLT :

IV.1.1 Résultats et discussions des Polyphénols totaux pour les trois échantillons:

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits des feuilles des variétés de *Neurada procumbens* L, étudiées sont représentés ci-dessous (figure 34).

Dans cette composition nous trouvons que l'extrait des branches est quantitativement plus riche en composés phénoliques, puis l'extrait de feuilles et en fin l'extrait de la plante *Neurada procumbens* L.

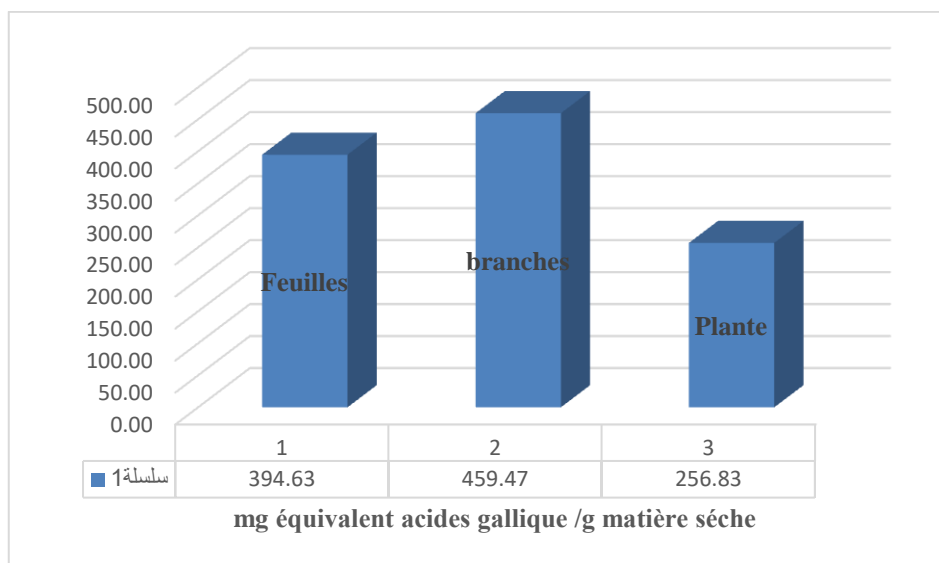


Figure IV-34. Le pourcentage des Polyphénols totaux dans les trois extraits de la plante.

IV.1.2 Résultats et discussions des Flavonoïdes totaux pour les trois échantillons:

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits des échantillons des *Neurada procumbens* L, étudiées sont représentés ci-dessous (figure 35).

Dans cette composition nous trouvons que l'extrait de la plante *Neurada procumbens* L plus riche en flavonoïdes, puis l'extrait de feuilles et en fin l'extrait des branches de *Neurada procumbens* L.

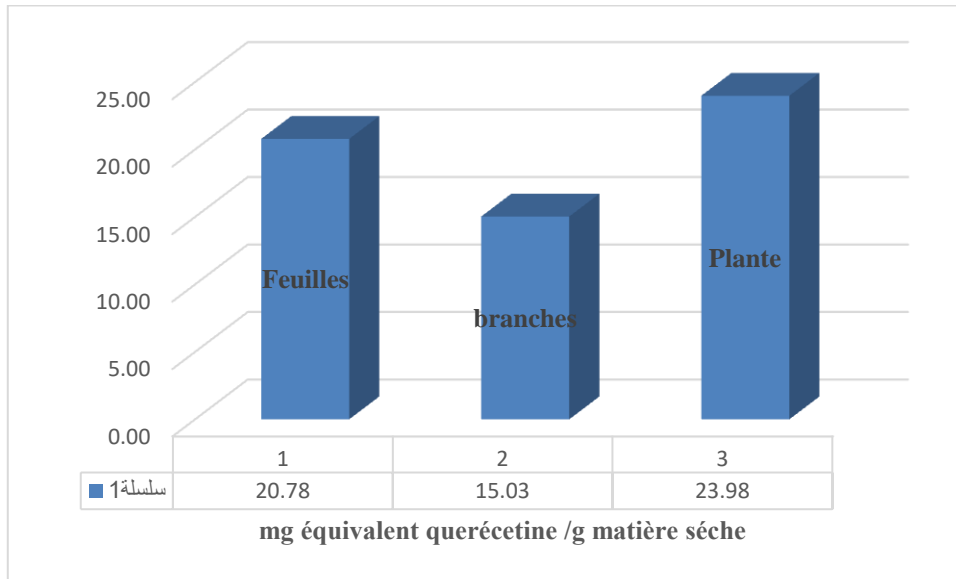


Figure IV-35. Le pourcentage des Flavonoïdes totaux dans les trois extraits de la plante.

IV.1.3 Résultats et discussions des Flavanol totaux pour les trois échantillons:

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits des feuilles de *Neurada procumbens* L, étudiées sont représentés ci-dessous (figure 36).

Dans cette composition nous trouvons que l'extrait des feuilles est quantitativement plus riche en flavanol, puis l'extrait de la plante *Neurada procumbens* L, en fin l'extrait des branches de *Neurada procumbens* L.

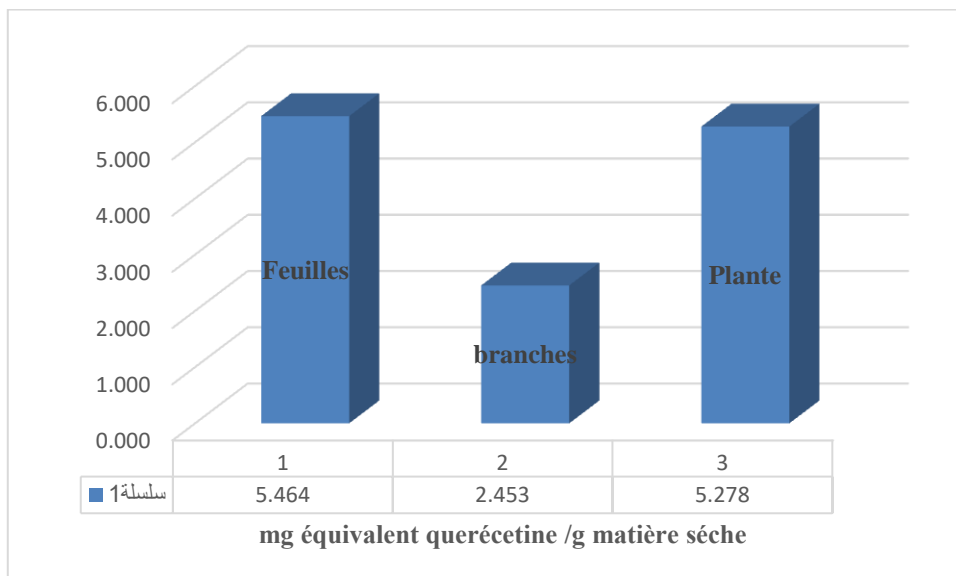


Figure IV-36. Le pourcentage des Flavanol totaux dans les trois extraits de la plante.

IV.2. Résultats et discussions d'activité antioxydant DPPH

IV.2.1. Résultats d'activité antioxydant DPPH

L'activité de piégeage de radical DPPH de d'extrait éthanolique des trois échantillons de *Neurada procumbens* L est présentée dans les (figure III-24), (figure III-25), (figure III-26), successivement. Pour l'extrait des feuilles ont obtenus la valeur la plus moins ($IC_{50} = 0.0735$ mg / ml), la valeur moyenne trouvée dans l'extrait des branches ($IC_{50} = 0.0832$ mg / ml) et la valeur le plus grande dans la variété de la plante de *Neurada procumbens* L ($IC_{50} = 0.106$ mg / ml).

IV.2.2. Discussions d'activité antioxydant DPPH

Le meilleur résultat qui en obtienne dans les feuilles de la plante *Neurada procumbens* L par ce qu'en utilisée moins concentration pour dégradée 50 % de DPPH cette concentration est égale 0.0735 mg /ml, et le deuxième les branches de la plante *Neurada procumbens* L a concentration 0.0832 mg / ml, et le troisième la plante de complet de *Neurada procumbens* L a concentration 0.106 mg / ml.

IV.3. Résultats et discussions de la Capacité anioxydante totale (CAT) :

IV.3.1. Résultats de la Capacité anioxydante totale (CAT) :

Le tableau suivant qui présente la capacité antioxydant totale des trois de la variété *Neurada procumbens* L (tableau 20):

Tableau IV-20. La capacité antioxydant totale des trois échantillons.

Extrait	La capacité antioxydant totale (mg/g)
Les feuilles	1242.109
Les branches	1097.318
La plante	1114.693

IV.3.2 discussions de la Capacité anioxydante totale (CAT) :

Le meilleur résultat qui en obtienne dans les feuilles de la variété *Neurada procumbens* L par ce qu'en utilisée même concentration pour obtenue meilleur capacité antioxydant total 1242.109 mg /g, et le deuxième la plante *Neurada procumbens* L avec capacité antioxydant total 1114.693 mg /g, et le troisième les branches avec capacité antioxydant total de 1097.318 mg/g. en représente les résultats de la capacité total ci-dessous (figure IV-37).

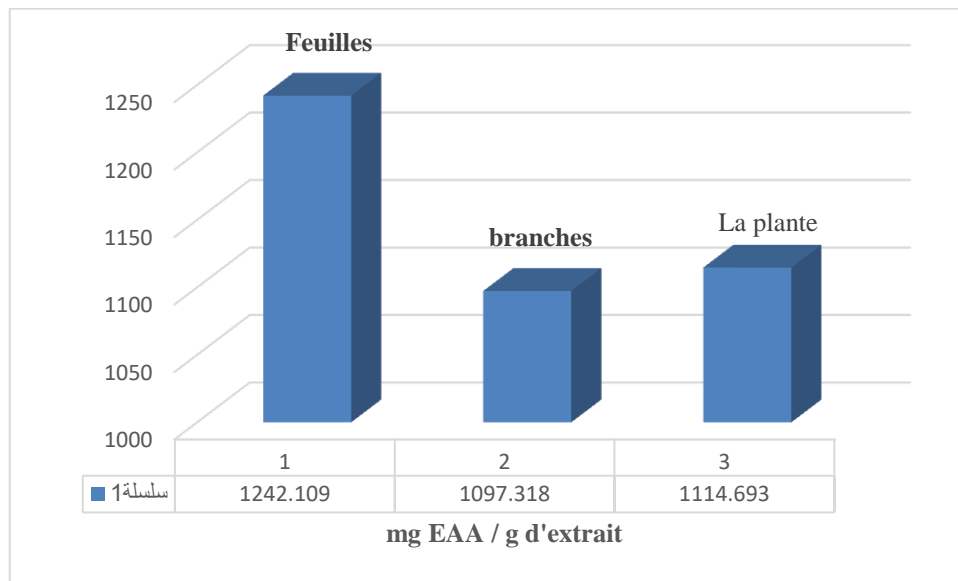


Figure IV-37. La Capacité anioxydante totale des extraits des échantillons

IV.4. Résultats et discussions de la d'analyse structurales pour les échantillons *Neurada procumbens* L par FT-IR:

IV.4.1. Discussion d'analyse structurales pour les feuilles de variété *Neurada procumbens* L par FT-IR:

- Les groupements OH libres (de carboxyle ou phénol) sont responsables d'une bande d'absorption aux environs de $3400-3500\text{ cm}^{-1}$. Cela nous laisse conclure que cette fonction est présente environ 3353.03 cm^{-1} dans le spectre dès les feuilles de la plante *Neurada procumbens* L cette bande est intense et très large.
- Une bande d'absorption due aux groupements (C-H) (aliphatiques et aromatiques), se trouve entre 2850 et 3000 cm^{-1} . Cette fonction apparait environ 2974.73 cm^{-1} et une autre bande environ 2892.39 cm^{-1} dans le spectre des feuilles de variété *Neurada procumbens* L.
- Une bande les doubles liaisons ou des cycles aromatiques (C=C) ont une absorption entre 1500 et 1650 cm^{-1} . Nous obtenons cette fonction aux environs de 1653.12 cm^{-1} dans le spectre dès les feuilles de la plante *Neurada procumbens* L.
- Les groupements OH phénoliques ont une absorption importante aux environs de $1300-1400\text{ cm}^{-1}$. Cette fonction apparait environ 1381.27 cm^{-1} . Une bande d'absorption due aux groupements C-O (Alcool secondaire), se trouve entre 1000 et 1100 cm^{-1} . Cette fonction apparait environ 1088.85 cm^{-1} . Et une autre bande environ 1047.87 cm^{-1} .

➤ Une bande liaisons aromatiques (C-H) ont une absorption entre 900 et 600 cm^{-1} Nous obtenons cette fonction aux environs de 880.50 cm^{-1} . Et une autre bande environ 688.50 cm^{-1} . Dans le spectre dès les feuilles de la plante *Neurada procumbens* L.

IV.4.2. Discussion d'analyse structurales pour les branches de la plante par FT-IR :

Dans le spectre des branches de la plante « *Neurada procumbens* L » il ya même analyse structurale qui en présentée dans le spectre des feuilles de la variété *Neurada procumbens* L.

IV.4.3. Discussion d'analyse structurales de *Neurada procumbens* L Par FT-IR

Dans le spectre des branches de la plante *Neurada procumbens* L il ya même analyse structurale qui en présentée dans le spectre des feuilles de la plante *Neurada procumbens* L.

Mais une petite déference dans l'intervalle 600 et 500 cm^{-1} . Qui indique Une band liaisons aromatiques (C-H).

IV.5. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits :

IV.5.1. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits des feuilles :

Le profil chromatographique d'extrait des feuilles de *Neurada procumbens* L au niveau de (figure III-31) tandis que le résultat des analyses quantitatives sont donnés dans le tableau (IV-21).

L'analyse de ces résultats montre que dans d'extrait des feuilles de *Neurada procumbens* L, Chlorogenic Acid (0,834 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Ms), et la rutine 0,854 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Ms). Et la Naringin 0,847 $\mu\text{g}/\text{mg}$ Ms). On a remarqué que la rutine représente le compose majoritaire.

Tableau IV-21. Concentration des polyphénols des extraits de feuilles de *Neurada procumbens* L.

Composés	La Concentration ($\mu\text{g}/\text{mgMs}$)
Chlorogenic Acid	0,834
Rutine	0,854
Naringin	0,847

IV.5.2. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des branches :

Le profil chromatographique d'extrait des branches de *Neurada procumbens* L au niveau de (figure III-32) tandis que le résultat des analyses quantitatives sont donnés dans le tableau (IV-22).

L'analyse de ces résultats montre que dans d'extrait des branches de *Neurada procumbens* L, Gallique Acid (0,170 µg/mg Ms), Et la Chlorogenic Acid 0,753µg/ mgMs). Et la rutine 0,491 µg/ mgMs). Et le Naringin 0,159 µg/ mgMs). On a remarqué que la Chlorogenic Acid représente le compose majoritaire.

Tableau IV-22. Concentration des polyphénols des extraits de branches de *Neurada procumbens* L.

Composes	La Concentration (µg/ mgMs)
Gallique Acid	0,170
Chlorogenic Acid	0,753
rutine	0,491
Naringin	0,159

IV.5.3. Résultats et discussion de la Profil chromatographique HPLC des extraits de *Neurada procumbens* L :

Le profil chromatographique d'extrait de la plante *Neurada procumbens* L, au niveau de (figure III-33) tandis que le résultat des analyses quantitatives sont donnés dans le tableau (IV-23).

L'analyse de ces résultats montre que dans d'extrait dès la plante *Neurada procumbens* L, Chlorogenic Acid (0,236 µg/mg Ms), Et la rutine 0,391 µg/ mgMs). On a remarqué que la rutine représente le compose majoritaire.

Tableau IV-23. Concentration des polyphénols des extraits de variété *Neurada procumbens* L.

Composes	La Concentration (µg/ mgMs)
Chlorogenic Acid	0,236
rutine	0,391

IV.6. Résultats et discussions d'antibactérienne des trois extraits:

IV.6.1. Résultats d'antibactérienne des trois échantillons:

Les résultats qui nous avons obtenue dans les trois échantillons à différence concentration a cinq souches bactérie déférentes négatifs dans les trois échantillons étudier et dans les cinq souches bactérie.

IV.6.2. Discussions d'activité antibactérienne des trois échantillons :

Après les résultats qui nous avons obtenu les tests des trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L, à cinq souches bactéries différentes c'est-à-dire que la plante n'a aucun effet antibactérien aux cinq types des souches étudiées des cinq concentrations. C'est-à-dire on fait une autre recherche à une autre concentration différente et plus élevée et on fait la même méthode qui nous avons utilisé dans notre mémoire. On fin en présentée les résultats de notre étude dans les trois figures suivent :

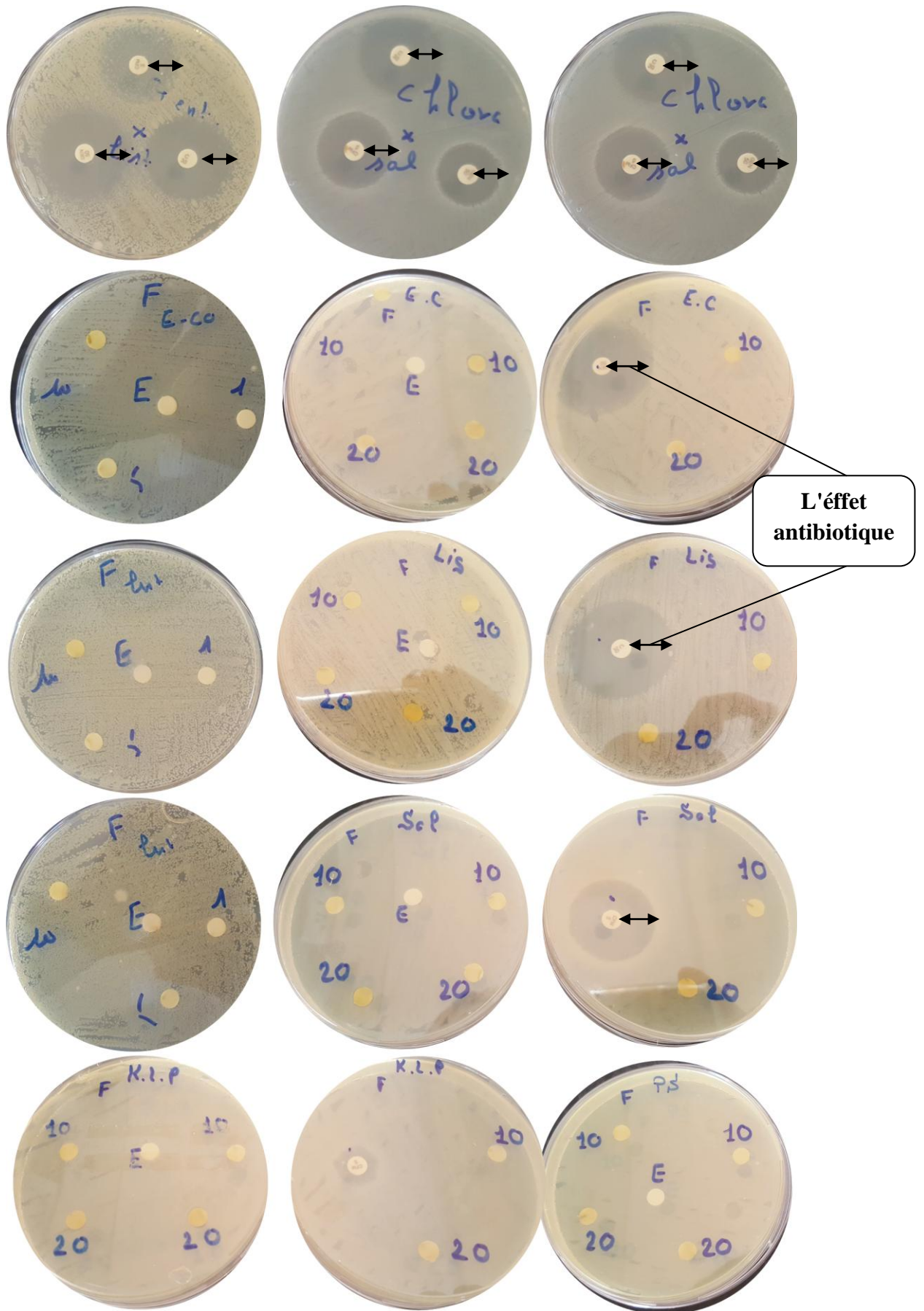


Figure IV-38. Teste antibactérienne des feuilles de *Neurada procumbens* L.

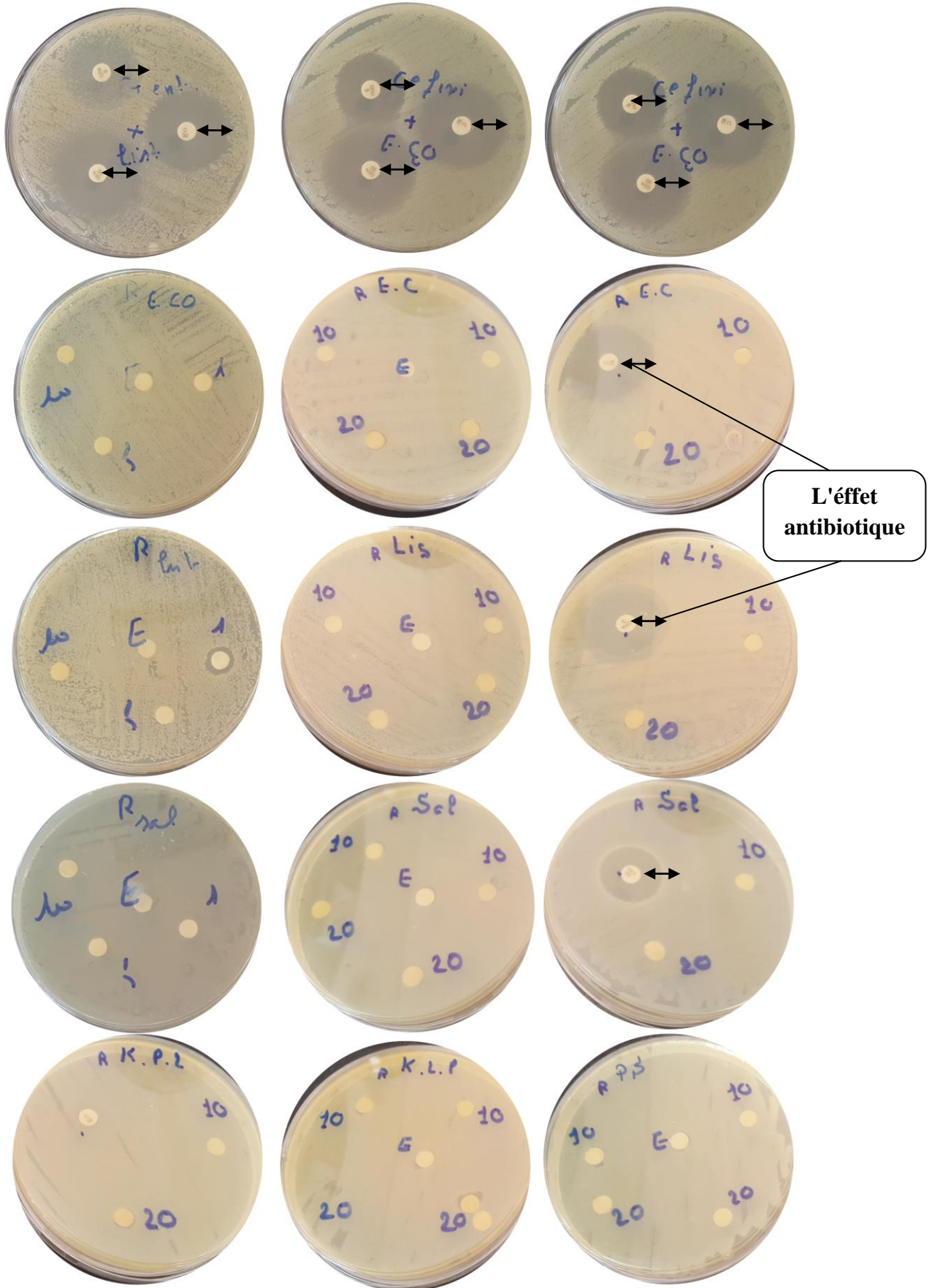


Figure IV-39. Teste antibactérienne des branches de *Neurada procumbens* L.

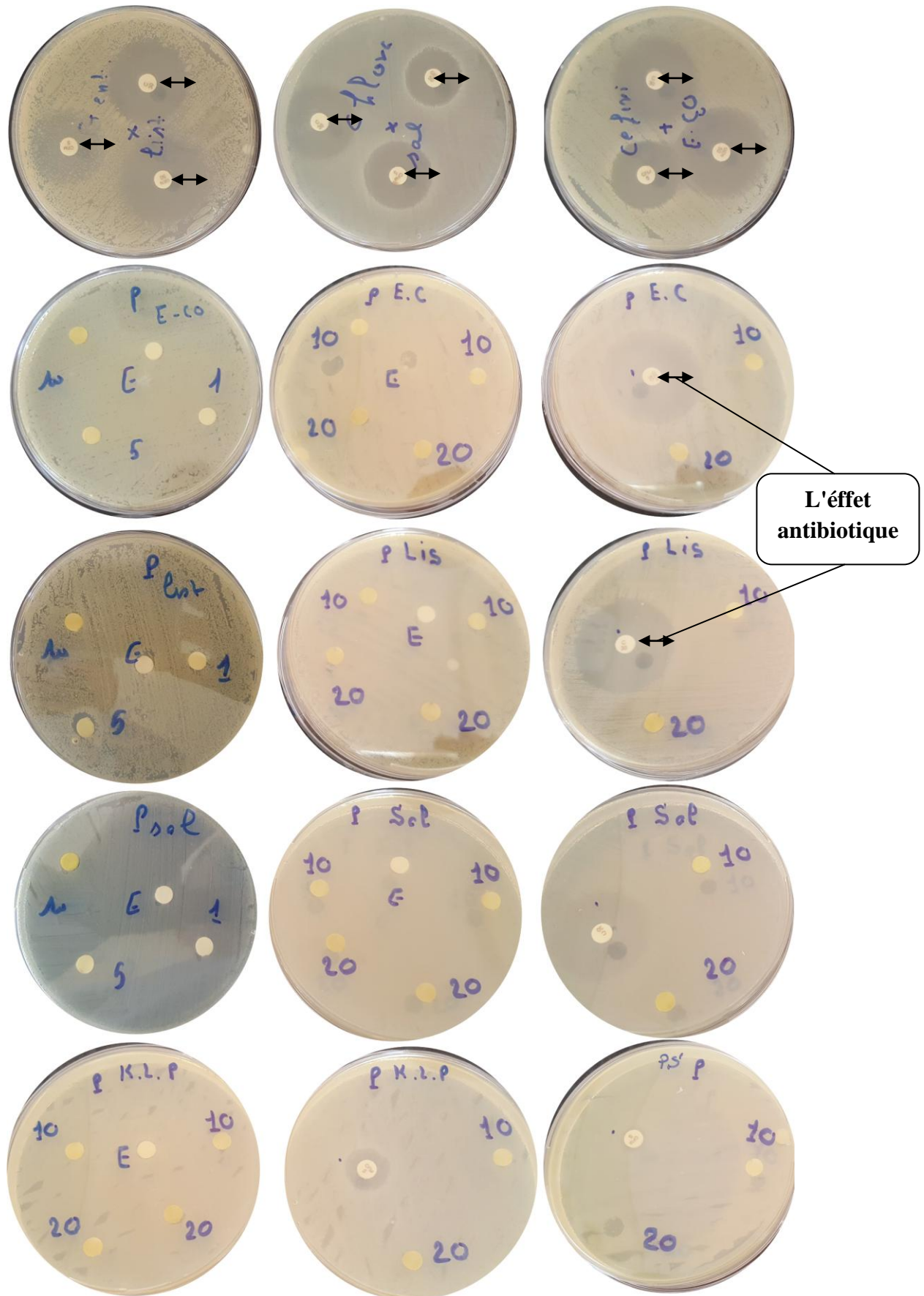


Figure IV-40. Teste antibactérienne de *Neurada procumbens* L

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a pour but de caractériser la composition photochimique des extraits des trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L et d'évaluer in vitro l'activité antioxydante, et antibactérienne de ces extraits.

Nous avons déterminé quantitativement. Dans une première analyse, la teneur en eau dans les trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L. La teneur en eau de l'ordre de 70 % à 80 % des trois échantillons la plante *Neurada procumbens* L.

Pour le plan phytochimique, nous caractérisons et quantifions des polyphénols, les flavonoïdes, les flavonols de nos extraits, puis l'évaluation de leur potentiel antioxydant. Nos résultats montrent que tous des classes de composés phénoliques existent en concentration considérable et que l'extrait des branches de la plante *Neurada procumbens* L plus riche par rapport aux autre extraits de l'ordre de 459.47 de matière sèche (mg AGE /g Ms).

L'analyse quantitative par HPLC montre la présence de plusieurs des composés phénoliques, d'acide chlorogénique, Rutine, Naringin, l'acide gallique, dans les échantillons de la plante *Neurada procumbens* L.

L'activité antioxydante des extraits des trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L a été évaluée et comparée en utilisant les méthodes suivantes : la méthode de détermination de l'oxydation du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'activité antioxydante totale, et calculer la concentration inhibitrice à 50%. Ainsi on conclure que l'activité antioxydante des extraits des trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L diminue dans l'ordre suivant : la variété feuilles > la variété branches > la variété la plante *Neurada procumbens* L pour les deux méthodes citées ci-dessus. On a remarqué que l'activité antioxydante des trois extraits dépend de leur concentration.

L'activité antimicrobienne des extraits des trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L a été évaluée in vitro contre cinq espèces bactériennes pathogènes, (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC25922, *Listéria CLIP* ATCC74915, *Klebsiella*, *Salmonella typhimurium* ATCC27924) et en choisie cinq concentration pour évaluer L'activité antimicrobienne, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml. On a trouvé que toute les espèces bactériennes ne présentent aucune sensibilité à cette concentration des trois échantillons de la plante *Neurada procumbens* L donc il faut augmenter les concentrations pour vérifier l'activité antimicrobienne des extraits de la plante *Neurada procumbens* L.

CONCLUSION GENERALE

Notons enfin que ce travail va nous ouvrir des horizons de recherche ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelle dans les zones arides, notamment en terme de mise en évidence des principes actifs et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Références bibliographies

Références bibliographies

- [1] A. SOFOWORA, «Plantes medecinales et medecinre traditionnelle d'afrique,» Maison d'édition Karthala 22-24, boulevard Arago - 75013 Paris, 2010.
- [2] aquaportail.com/definition-42-plante-medicinale.htmlplante medicinale[/url].
- [3] sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/32986-plante-medicinale-definition.
- [4] Bravo L, Polyphénols: Chemistry, dietary sources, métabolisme and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 1998; 56:317-333.
- [5]Mbaebie BO, Edeoga HO, Afolayan AJ. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012:118-124.
- [6]Delgado-Adámez J, Gamero Samino E, Valdés Sánchez E, González-Gómez D. *In vitro* estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food control* 2012; 24 (1):1136-141.
- [7]Shahwar D, Raza MA. Antioxidant potential of phenolic extracts of *Mimusops elengi*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012; 2(7): 547-550.
- [8]Maria Daglia. Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechlogy* 2011; 23: 174-181.
- [9]Moure A, Cruz G M, Franco D, Dominguez J M, Sineiro J H, Dominguez et al. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry* 2001; 72: 145-171.
- [10]Edziri H, Ammar S, Souad L, Mahjoub M A, Mastouri M, Aouni M et al. *In vitro* evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of some Tunisian vegetables. *South Africain Journal of Botany* 2011; 78: 252–256.
- [11]Anastasiadi M, Pratsinis H, Kletsas D, Skaltsounis AL, Serkos. Haroutounian A.Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their *in vitro* antioxidant properties. *Food science and technology* 2012; 48 (2):316–322.
- [12] sahara-nature.com/plantes.php?aff=nom&plante=neurada%20procumbens.
- [13] H. Jacquemin, les plantes médicinales, république française : office de la recherche scientifique et technique outre-mer.
- [14] doctissimo.fr/html/dossiers/phytotherapie/articles/16260-plante-medicinale.htm.
- [15] futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-plante-medicinale-11529.

Références bibliographiques

- [16] Santé Médecine - Le journal des femmes,» *Le journal des femmes*, 12 Jun Validité du certificat: 12 Jun 2013 - Jun 2015.
- [17] Sahara-Nature, *neurada procumbens* L/Neuradaceae Nom tamohaq : Anfal Nom français : Porte bonheur.
- [18] Mediterranean, N. Africa, Arabia, Palestine, Syria, Iraq, N. Iran, Afghanistan, Pakistan, and N. W. Indian desert. "Habitat in An Egypt. Arabica "FL. & Fr. Per.: Octobres-
- [19] Fränkel et al. 1995; Soleas et al. 1997; Rifici et al. 1999; Li et al. 2014.
- [20] Emira MEHINAGIC, Erwan BOURLES et Frédérique JOURJON, Ecole supérieure d'agriculture d'Angers Renseignements: Emira Mehinagic, e-mail: e.mehinagic@groupe-esa.com.
- [21] Polyphenols [Substance Name]; use the precise structure header, most commonly in the Flavonoids group; this term only refers vaguely to phenolic (aromatic) hydroxyls. Date introduced: August 18, 1980 », dans MeSH database.
- [22] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9)
- [23] Biophenolic components of olives [archive].
- [24] C.W. Bamforth, « *Beer haze* », *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, vol. 57, 1999, p. 81–90 (résumé [archive]).
- [25] Dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique.
- [26] P. M. Dewick, « *The Biosynthèses of Shikimate Métabolites* », *Natural Product Reports*, vol. 12, 1995, p. 579-607 (lire en ligne [archive]).
- [27] Harborne J.B., 1980. Plant Phenolics: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New series, 8, 329-402.
- [28] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9).
- [29] Mónica Galleano, Sandra V. Verstraeten, Patricia I. Oteiza, Cesar G. Fraga, « Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis », *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 501, 2010.
- [30] Cesar G. Fraga, Monica Galleano, Sandra V. Verstraeten, Patricia I. Oteiza, « Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols », *Molecular Aspects of Medicine*, 2010, doi:10.1016/j.mam.2010.09.006.

Références bibliographiques

- [31] Lephart ED, West TW, Weber KS, Rhee RW, Setchell KDR, Adlercreutz H. Neurobehavioral effects of dietary soy phytoestrogens. *Neurotoxicology and Tératologie* 2002; 24: 5-16.
- [32] Jamali K, Shinkaruk S, Lamothe V, Potier M, Enneta-Pelissero C. Phyto-estrogènes et le déclin mnésique hippocampo-dépendant lié à l'âge. *Médecine et Longévité* 2010; 2: 12-21.
- [33] Crozier A, Classification and biosynthesis of secondary plant products: An overview. In: Goldberg G (ed) *Plants: Diet and Health*. British Nutrition Foundation, Chapman Hall, Londres, pp. 27-48, 2003.
- [34] Jessica Tabart, Claire Kevers, Joel Pincemail, Jean-Olivier Defraigne et Jacques Dommes, « Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests », *Food Chemistry*, vol. 113, 2009, p. 1226-1233.
- [35] U Nöthlings, SP Murphy, LR Wilkens, BE Henderson et LN Kolonel, « Flavonols and Pancreatic Cancer Risk, The Multiethnic Cohort Study », *American Journal of Epidemiology*, vol. 166, n° 8, 2007, p. 924–931 (DOI 10.1093/aje/kwm172, lire en ligne [archive] [PDF]).
- [36] Macheix *et coll.*, 2006. Les polyphénols en agroalimentaire, *Lavoisier* 1-28.
- [37] Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonamone A. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American journal of Medicine* 2002; 113: 71-88.
- [38] Leong WH, Wahlers H. Palm tocotrienol complex in skin nutrition. *Chimica Oggi*; 20 (3):40-42, 2002.
- [39] Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). *Editions Tec & Doc Lavoisier*, 1120 p, 1999.
- [40] Lopez-Velez R, Perez-Molina JA, Guerrero A. Clinico epidemiologic characteristics, prognostic factors, and survival analysis of patients coinfecting with human immunodeficiency virus and Leishmania in an area of Madrid, Spain. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*; 58:436–443, 2003.
- [41] Harborne JB. Plant Phenolics: *Encyclopedia of Plant Physiology, New series* 1980; 8: 329-402, 1980.
- [42] Èronique Habauzit ET Christine Morand, Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians [archive], NCBI, mars 2012.

- [43] Tugba Ozdal, David A. Sela, Jianbo Xiao, Dilek Boyacioglu, Fang Chen et Esra Capanoglu, The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility [archive], NCBI, février 2016.
- [44] Cheynier V, Fulcrand H, Sarni P, Moutounet M Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de leur vinification. In vino Analytica Scientia. Analusis 25: 14-44, 1997.
- [45] Olatunji G. Diterpene lactone from the heartwood of *Daniella Oliveri*. *Cellulose chemistry and technology*; 34: 505-507, 2000.
- [46] Shengmin Sang et coll., *Antioxid. Redox Sign.* , 7, 1704-1714, 2005.
- [47] Koketsu M., *Chemistry and Applications of Green Tea. CRC Press.*37-50, 1997.
- [48] Shu-jun Chen, Tea Bioactivity and Therapeutic Potential. *CRC Press.* 192-210, 2002.
- [49] Yogita Chavan, Rekha S. Singhal, "Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu* L) and optimization study using response surface methodology." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 17 106-113, 2013.
- [50] Vadivel V, Cheong JN, HK. Antioxidant and type II diabetes related enzyme inhibition properties of methanolic extract of an underutilized food legume, *Canavalia ensiformis* (L.) DC: Effect of traditional processing methods, *LWT - Food Science and Technology*; 47:255-260, 2012.
- [51] Mbaebie .BO, Edeoga. HO, Afolayan. AJ, "Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq". *Asian Pacific Journal of Tropical Biomédecine* 118-124, 2012.
- [52] Lagnika. L, "Etude photochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises." Thèse de doctorat. University Louis Pasteur. Strasbourg, 249 p, 2005.
- [53] Qing-Feng Z, Yu-Xian G, Xinchun B S, Guodong Z , Wen-Jun W. Antioxidant and anti-proliferative activity of *Rhizoma Smilacis Chinae* extracts and main constituents. *Food Chemistry*, 133: 140-145, 2012.
- [54] Belyagoubi Née Benhammou Nabila, " Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien". Thèse Doctorat, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 2012.
- [55] Amin Ardestani, Razieh Yazdanparast "Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxydation". *Food and Chemical Toxicology* 45 2402–2411, 2007.

Références bibliographies

[56] Mahdjar Salha, "Contribution à l'Etude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydante." Mémoire de Master Academique, Universite Kasdi Merbah Ouargla, 2013.

[57] Murat. Kucuk. Kolayli S; Karaoglu S; Ulusony E. ET F Candan Biologic activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia; Food chemistry. Vol 100; p: 526-534(2007), 2007.

Tableau de temps des retentions des standards des composés phénoliques

Réf	Composant	Temps de rétentions
01	Acide gallique	5,29
02	Acide Chlorogénique	13,392
03	Acide Vanilique	15,531
04	Acide Caféique	16,277
05	Vanilique	21,46
06	Acide p-Coumarique	23,817
07	Rutine	28,37
08	Naringin	34,788
09	Quercétine	45,047

Tableau des équations des standards des composés phénoliques

Réf	Composant	L'équations	R ²
01	Acide gallique	$y = 54681x$	$R^2 = 99,56$
02	Acide Chlorogénique	$y = 21665x$	$R^2 = 98,53$
03	Acide Vanilique	$y = 65077x$	$R^2 = 99,21$
04	Acide Caféique	$y = 84066x$	$R^2 = 99,74$
05	Vanilique	$y = 58930x$	$R^2 = 99,66$
06	Acide p-Coumarique	$y = 49495x$	$R^2 = 99,61$
07	Rutine	$y = 28144x$	$R^2 = 98,69$
08	Naringin	$y = 19379x$	$R^2 = 99,68$
09	Quercétine	$y = 45378x$	$R^2 = 99,62$

Lamda = 268 nm

Tableau de temps des retentions des composéé phénolique des feuilles de *neurada procumbens* L

Réf	Ret. Time	Area	Compo	Réf	Ret. Time	Area	Compo
01	2.456	20869	-----	24	21.787	1279428	-----
02	2.691	102110	-----	25	23.949	530726	-----
03	3.186	58390	-----	26	25.147	990436	-----
04	3.555	1455527	-----	27	27.030	287953	-----
05	3.903	26940	-----	28	27.651	145269	-----
06	4.572	27383	-----	29	28.423	120287	Rutine
07	5.029	18650	-----	30	30.670	342323	-----
08	6.805	34816	-----	31	31.757	18672	-----
09	7.769	197597	-----	32	32.008	18252	-----
10	9.229	91476	-----	33	33.251	142042	-----
11	9.958	100333	-----	34	34.267	20788	-----
12	11.259	119316	-----	35	34.750	82155	Naringin
13	11.448	25696	-----	36	36.481	114853	-----
14	12.857	437970	-----	37	37.042	68455	-----
15	13.243	109315	-----	38	39.773	18723	-----
16	13.433	90360	Chlorogén ique Acid	39	43.235	487518	-----
17	14.311	782120	-----	40	43.604	315937	-----
18	15.350	1634153	-----	41	44.829	122514	-----
19	16.425	556806	-----	42	45.334	324060	-----
20	17.282	373809	-----				-----
21	18.840	935906	-----				-----
22	19.965	4323874	-----				-----
23	21.318	672072	-----		Total	17625880	-----

Tableau de temps des retentions des composéé phénolique des branches de *neurada procumbens* L

Réf	Ret. Time	Area	Compo	Réf	Ret. Time	Area	Compo
01	2.458	16194	-----	24	21.181	868279	-----
02	2.697	73290	-----	25	21.771	706884	-----
03	3.186	48697	-----	26	23.963	302259	-----
04	3.571	1113380	-----	27	25.161	665438	-----
05	3.881	27915	-----	28	27.043	176427	-----
06	4.528	36322	-----	29	27.664	88322	-----
07	5.210	46497	Gallique Acid	30	28.444	69152	rutine
08	5.826	7518	-----	31	30.687	167359	-----
09	7.781	102504	-----	32	31.784	2197	-----
10	9.210	49948	-----	33	32.033	1076	-----
11	9.921	66290	-----	34	33.261	41523	-----
12	11.255	82822	-----	35	34.267	6881	-----
13	11.464	17547	-----	36	34.760	15469	Naringin
14	12.850	289568	-----	37	36.490	64233	-----
15	13.221	54486	-----	38	37.044	38848	-----
16	13.428	81629	Chlorogén ique Acid	39	39.788	17693	-----
17	14.411	441719	-----	40	43.271	393096	-----
18	15.352	1127683	-----	41	43.673	224693	-----
19	16.431	358270	-----	42	44.339	104984	-----
20	16.950	31491	-----	43	44.790	110411	-----
21	17.282	217860	-----	44	45.321	171367	-----
22	19.028	543173	-----	45	48.590	14808	-----
23	19.969	2992125	-----		Total	12078331	-----

Tableau de temps des retentions des composée phénolique de *neurada procumbens* L

Réf	Ret. Time	Area	Compo	Réf	Ret. Time	Area	Compo
01	2.488	26040	-----	24	19.980	2058909	-----
02	2.650	145326	-----	25	21.286	490362	-----
03	3.075	14978	-----	26	22.125	317404	-----
04	3.197	36410	-----	27	23.025	7233	-----
05	3.575	802614	-----	28	23.977	150527	-----
06	3.849	14282	-----	29	25.170	328357	-----
07	4.539	42104	-----	30	27.048	106991	-----
08	5.073	36867	-----	31	27.673	29510	-----
09	5.898	19140	-----	32	28.466	55140	rutine
10	6.831	30721	-----	33	30.723	83314	-----
11	7.775	33234	-----	34	31.817	3524	-----
12	9.216	16732	-----	35	32.035	4165	-----
13	10.004	13417	-----	36	33.297	29142	-----
14	10.717	1816	-----	37	36.490	50019	-----
15	11.469	4767	-----	38	37.055	38986	-----
16	12.868	50753	-----	39	39.810	19702	-----
17	13.222	27693	-----	40	43.321	816973	-----
18	13.450	25664	Chlorogén ique Acid	41	44.825	36858	-----
19	14.462	90130	-----	42	44.968	78850	-----
20	15.339	255940	-----	43	45.340	311498	-----
21	16.408	171136	-----				
22	17.291	215695	-----				
23	19.088	199764	-----		Total	7292687	