

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Dr. Tahar Moulay SAIDA
Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés



جامعة د الطاهر مولاي سعيدة
كلية التكنولوجيا
قسم : هندسة الطرائق

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Pour l'obtention du diplôme Master

En Génie des procédés

Option: Génie des Procédés des Matériaux

Présenté par :

TOUMI ASMAA et MEKKAOUI SARA ILHAM

*Etude d'une plante médicinale utilisées à Saida ;
screening phytochimique et activité antioxydante*

Soutenu le 14/07/2021

Devant le jury :

Mr. N. GHALI	Professeur	Université de Saida	Président
Mr. S. MERAH	Maître de Conférences B	Université de Saida	Examineur
Mr. A. BENHELIMA	Maître de Conférences A	Université de Saida	Rapporteur

Promotion : 2020-2021

Remerciements

On voudrait adresser nos remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidés dans la réalisation de ce modeste travail ;

*Dr **Benhelima Abdelkader** ; d'avoir accepté à nous encadrer, pour ça patience, sa disponibilité et ses précieux conseils ;*

*Pr **Ghali Noureddine** ; chef de spécialité et président de jury, il nous a fait un grand honneur en acceptant de présider le jury de ce modeste travail.*

*Nos remerciements vont également à Dr **Merah Salih** d'avoir accepté de juger ce modeste travail et de faire partie du jury de ce mémoire.*

*Dr **Daoudi Sofiane** qui nous a donné un coup de main dans notre travail ;
Nos enseignants du génie des procédés des matériaux ; on leur exprime aussi nos
profond respect et notre profonde gratitude.*

*Pr **Hasnaoui** qui nous a aidés dans les débuts.*

Enfin merci à tous et à toutes



Dédicace

*J'aimais citer tous ceux qui m'ont
soutenu durant mon parcours universitaire,
et j'en ai trouvé beaucoup,*

*A mon cher père, ma belle mère, mon
cher époux, mes frères, ma sœur, mon
binôme Asmaa et tous ceux qui m'aiment
de près ou de loin, je vous dédie ce travail et
vous remercie.*

Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de ma chère mère « Hasnaoui .M » qui ne cesse de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui, que dieu l'a protégé et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Je dédie aussi ce modeste travail à mes professeurs je mentionne Pr Adjdir .M, Dr Aimer .Y et pour la dame que je n'oublierais jamais madame Belarbi .W qui ma soutenu et encourager durant mon cursus.

Je remercie infiniment mon binôme Meḵḵaoui Sara Ilham pour être toujours présentable et compréhensive.

Merci à ceux qui ont essayé de me frustrer et de rabaisser, merci de m'avoir permis de me prouver que je pouvais atteindre les Etoiles si je le voulais.

À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

Merci

Touimi.A

Sommaire

Introduction général.....	01
---------------------------	----

Partie Bibliographique

Chapitre I: Médecine traditionnelle

1. Introduction	04
2. Définition d'une plante médicinale	04
3. D'où viennent les plantes médicinales ?.....	05
4. Comment fonctionne une plante médicinale?.....	05
5. Le rôle des racines, des écorces, des feuilles et des fleurs	06
5.1. Racines, Ecorces, Graines	06
5.2. Feuilles, Fleurs	06
5.3. Fruits et Baies	06
6. La cueillette des plantes médicinale	06
7. Conservation des plantes médicinales.....	07
7.1. La réfrigération.....	08
7.2. La congélation.....	08
Références bibliographiques.....	09

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Introduction.....	10
2. Les métabolites secondaires	10
3. Les principales familles de métabolites secondaires chez les plantes	11
3.1. Les mucilages	11
3.2. Les gommés et les résines	12
3.3. Les tanins	12
3.4. Les hétérosides	13
3.5. Les huiles essentielles (aromatiques)	14
3.6. Les latex	14
3.7. Les alcaloïdes	14
3.8. Les réducteurs de digestibilité	15
3.9. Les polyphénols	16
4. Les molécules antioxydantes	17
4.1. La vitamine C.....	17

4.2. La vitamine E.....	17
4.3. Le selenium.....	18
4.4. Le zinc.....	18
Références bibliographiques	20

Chapitre III : Généralité sur *Daphne gnidium* L.

1. Présentation et description.....	21
1.1. Ecologie	21
1.2. Répartition	21
1.3. Floraison	21
2. Description Baseflor	21
3. Autres noms	22
4. Ecologie	23
5. Caractéristiques climatiques.....	23
6. Caractéristiques du sol.....	23
7. Composition chimique.....	23
8. Toxicité de la plante.....	24
9. Applications médicinale de la plante.....	24
Références bibliographiques.....	25

Partie Pratique

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

1. Matériel végétal	26
2. Détermination de la teneur en humidité	27
3. Méthodes d'extractions	27
3.1. Extraction par macération	27
3.2. Extraction par soxhlet	27
4. Calcul du rendement	28
5. Phytochimiques quantitative	28
5.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC)	28
5.1.1. Courbe d'étalonnage.....	28
5.2. Dosage flavonoïdes totaux (TFC).....	29
5.2.1. Courbe d'étalonnage.....	29
5.3. Analyses chromatographiques.....	30
5.3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	30

6. Le test au DPPH.....	31
6.1. Expression des résultats	32
Références bibliographiques.....	33
Chapitre V: Résultats et Discussion	
1. Détermination de la teneur en humidité	34
2. Détermination du rendement d'extraction	34
3. Résultats des testes phytochimiques quantitative	35
3.1. Quantification des composés phénoliques	35
3.1.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC) dans l'extrait aqueux	35
3.1.2. Dosage des polyphénols totaux (TPC) dans l'extrait organique (éthanol).....	36
3.2. Quantification des flavonoïdes	37
3.2.1. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) dans l'extrait aqueux	37
3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) dans l'extrait organique (méthanol)	38
4. Résultats des analyses chromatographiques	39
4.1. Chromatographie couche mince (CCM)	39
5. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire par DPPH.....	42
Références bibliographiques.....	44
Conclusion	46

Liste des abréviations

RF : facteur de rétention

R²: coefficient de corrélation

Abs : Absorbance

AlCl₃: trichlorure d'aluminium

mg/g : milligramme par gramme.

g : gramme.

mL: millilitre.

L: litre

I % : pourcentage d'inhibition.

C : concentration.

m : masse.

R : rendement.

TPC : Total Polyphenols Contents

TFC : Total Flavonoïds Contents

IC₅₀ : la Concentration nécessaire pour réduire 50 % de radicale DPPH.

% : pour cent (pourcentage)

g : gramme

I₂: iode

DPPH : 2,2 Diphényl 1 Pycril Hydrazil

CCM : Chromatographie sur couche mince

EAG : equivalent acide gallique

CE : Catéchine équivalent

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Les rapports frontaux des taches obtenues pour l'extrait éthanolique	39
2	Le rapport frontal de tache obtenue pour l'extrait aqueux	39

Liste des figures		
N°	Titre	Page
1	La médecine traditionnelle	04
2	Fleurs et feuilles des plantes	06
3	Structure des mucilages	12
4	Structure des tanins	13
5	Structure des alcaloïdes	15
6	Structure de quelques polyphénols	16
7	Structure de vitamine C	17
8	Structure de vitamine E	18
9	Structure de base des flavonoïdes	19
10	<i>Daphne gnidium</i> L.	21
11	Caractéristiques climatiques	22
12	Caractéristiques du sol	22
13	Quelques flavonoïdes de <i>Daphne gnidium</i> L.	23
14	Le lieu de récolte de <i>Daphne gnidium</i> L.	25
15	Photos montrant <i>Daphne gnidium</i> L. après séchage et broyage.	25
16	Photos montrant l'extraction par macération	26
17	Photos montrant l'extraction par soxhlet	26
18	Photos montrant la plaque CCM avant de maître dans la cuve de CCM.	29
19	Représente les teneurs en (1) matière sèche et (2) humidité	30
20	Courbe d'activité antioxydante d'acide ascorbique dans de méthanol	33
21	Rendement d'extraction de <i>Daphne gnidium</i> L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique	34
22	Courbe d'étalonnage d'acide gallique (extrait aqueux)	34
23	Courbe d'étalonnage d'acide gallique (extrait éthanolique)	35
24	La teneur en polyphénols totaux (TPC) des extraits de <i>Daphne gnidium</i> L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique	36
25	Courbe d'étalonnage de catéchine (extrait aqueux)	37
26	Courbe d'étalonnage de la catéchine (extrait éthanolique)	37
27	La teneur en flavonoïdes totaux (TFC) des extraits de <i>Daphne gnidium</i> L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique	38
28	Résultats de CCM d'extrait éthanolique pour le système CHCl ₃	39
29	Résultats de CCM d'extrait aqueux pour le système CHCl ₃ /MeOH	40
30	Courbe d'activité antioxydante d'extrait éthanolique de <i>Daphne gnidium</i> L.	41
31	Courbe d'activité antioxydante d'extrait aqueux de <i>Daphne gnidium</i> L.	41
32	Les valeurs d'IC ₅₀ des extraits de <i>Daphne gnidium</i> L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique	42

Introduction générale :

Actuellement, l'usage de la médecine traditionnelle est très répandu et accorde une importance sanitaire et économique croissante. Dans les pays en voie de développement, dont l'usage de cette médecine est accessible et abordable particulièrement pour les patients les plus démunis, vu le coût élevé de certains médicaments ainsi que leur indisponibilité sur le marché.

Néanmoins, les plantes soignent, parfois très rapidement, non seulement la fatigue, l'insomnie, les maux de tête, la grippe, la toux, les rhumatismes, mais aussi de très nombreuses maladies chroniques [1].

Depuis quelques années, le monde des sciences chimiques, biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques.

Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète.

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une partie d'elle possède des propriétés médicamenteuses, car elle renferme des principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies [2].

L'Algérie, vu sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques [3].

La pharmacopée Algérienne est qualifiée de traditionnelle parce que, à la différence des pharmacopées occidentales officialisées en formulaires ou codex, elle n'est pas écrite et s'est perpétuée jusqu'à présent de génération en génération, chez les guérisseurs et les herboristes uniquement par la transmission orale des connaissances et la pratique de l'art médical. Aujourd'hui, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. Une manière simple de conserver les cultures, les savoirs et les plantes qui y sont liées consiste à valoriser ces connaissances, les dynamiser, les expérimenter pour vérifier et valider leurs effets supposés et enfin leur donner un sens en intégrant la médecine traditionnelle dans le système de santé moderne.

Notre présente étude s'inscrit dans cet objectif et elle a porté sur :

- Une étude phytochimique qui a permis d'identifier certains groupes chimiques bioactifs contenus dans les extraits aqueux et éthanoliques de *Daphne gnidium* L.
- Evaluer *in vitro* l'activité antioxydante.

Cette étude sera subdivisée en deux parties :

- Une revue bibliographique où nous apportons des données générales sur l'espèce étudiée.
- Une seconde partie dans laquelle nous rapportons les méthodes utilisées, les résultats obtenus ainsi que leur discussion et nous finirons par une conclusion.

Références bibliographiques :

[1] Ameenah G. F. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27: 1-93.

[2] Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Editions Tec & Doc, Paris, 207-211.

[3] Emberger L. 1971. Travaux de botanique et d'écologie. Ed. Masson. 520 p.

1. Introduction :

La médecine traditionnelle existe depuis toujours : elle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales. Dans certains pays, les appellations médecine parallèle / alternative / douce sont synonymes de médecine traditionnelle (fig. 1).



Fig. 1 : La médecine traditionnelle

Les pratiques de la médecine traditionnelle varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre, et sont influencées par des facteurs comme la culture, l'histoire, les attitudes et la philosophie personnelles. Dans bien des cas, leur théorie et application sont très différentes de celles de la médecine conventionnelle. Le recours au long des siècles à grand nombre de pratiques préconisées par la médecine traditionnelle et l'expérience transmise de génération en génération sont preuve de l'innocuité et de l'efficacité de cette médecine. Cependant, il est nécessaire de procéder à des recherches scientifiques pour étayer ces constatations. La recherche et l'évaluation à ces fins doivent se faire dans le respect des connaissances et de l'expérience acquises au travers de pratiques établies de longue date [1].

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs [2].

L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité [3].

2. Définition d'une plante médicinale :

Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses [4].

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale. Elle est utilisée de différentes manières (décoction, macération, infusion...) et une ou plusieurs de ses parties peuvent être utilisées (racine, rhizome, feuilles, fleurs...) [5].

3. D'où viennent les plantes médicinales ?

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs) peut être employée dans le but de guérir. Leur utilisation remonte à des milliers d'années, où l'homme utilisait les plantes pour se soigner. A l'époque, le choix des plantes se faisait instinctivement, ce qui a permis de déceler petit à petit celles qui pouvaient être utilisées, et celles qui s'avéraient toxiques. Aujourd'hui, elles sont la base de la phytothérapie. Il existerait plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter. En effet, les plantes médicinales étant issues de la nature, il est possible d'en croiser tous les jours. De plus, on distingue les plantes herboristes qui sont utilisées telles quelles, de manière « traditionnelle », et les plantes qui constituent une matière première pour l'industrie pharmaceutique. Enfin, il faut savoir que la matière principale de la pharmacopée est restée végétale [6].

4. Comment fonctionne une plante médicinale?

Certaines plantes sont des indicateurs biologiques. En effet, selon leur lieu de pousse, elles acquièrent une morphologie particulière et une composition chimique spécifique, ce qui explique la diversité de leur réservoir. Ainsi, chaque plante est composée de milliers de substances actives, présentes en quantité variable. Ces principes actifs isolés ne sont pas d'une grande efficacité, mais lorsqu'ils sont prélevés avec d'autres substances de la plante, ils révèlent leur aspect pharmacologique. On parle alors de synergie, car contrairement aux médicaments allopathiques qui ne sont composés que d'un seul principe actif, les médicaments phytothérapeutiques utilisent l'ensemble des constituants de la plante. Ces végétaux auraient des effets curatifs et préventifs chez leurs utilisateurs [7].

Les plantes médicinales sont essentiellement utilisées sous deux formes [3]:

- ❖ **Complexe** : contenant un large spectre de constituants (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures).
- ❖ **Pure** : chimiquement définie comme principe actif.

5. Le rôle des racines, des écorces, des feuilles et des fleurs : [8]

5.1. Racines, Ecorces, Graines :

Leurs rôles est de fortifier et revitaliser l'organisme, stimuler le système immunitaire, protéger l'organisme des maladies et participer à prévenir le cancer, équilibrer le système nerveux (plus spécifiquement les racines), protéger et purifier les intestins, soutenir le foie et les reins, diminuer les allergies, protéger la peau.

5.2. Feuilles, Fleurs :

Apporter des vitamines et minéraux, protéger et obliger le bon fonctionnement de certains organes comme l'estomac, le foie, les reins, les poumons..., faciliter la circulation du sang, la digestion, renforcer la peau, les cheveux, les ongles (fig. 2).

5.3. Fruits et Baies : Apporter de très nombreuses vitamines en grande quantité, antioxydants puissants, stimuler le métabolisme générale, cicatriser la peau, protéger les yeux.



Fig. 2 : Fleurs et feuilles des plantes

6. La cueillette des plantes médicinales :

C'est l'action de ramassage des plantes médicinales, qui exige une certaine connaissance des espèces végétales de leur localité et de leur biologie. La cueillette donc doit toujours tenir compte des variations climatiques et saisonnières [9].

La cueillette se fait en printemps dans les régions tempérées et la fin de l'hiver dans les régions chaudes et au début de l'été dans les régions froides. La cueillette, se fait sous plusieurs formes. Le prélèvement matinal, entre 1 heure et 13 heures permet de retrouver en éveil toutes les vertus de la plante. Dans les cas d'urgence, les cueillettes peuvent se faire la

nuit, mais en prenant soin au départ d'éveiller la plante. Dans certains cas, la cueillette se fait au lever et au coucher du soleil, et en respectant les points cardinaux (le Sud, le Nord, l'Est et l'Ouest).

Il y a également des plantes, qu'il ne faut jamais cueillir les pieds à terre ni les laisser tomber, elles-mêmes ou leurs feuilles, car cela diminue automatiquement leur efficacité [10].

Les plantes médicinales devront être récoltées à la saison ou à l'époque optimale pour assurer la production de matières végétales médicinales et de produits finis de la meilleure qualité possible. Le moment de la récolte dépend de la partie de la plante qui sera utilisée.

Les plantes médicinales doivent être récoltées dans les meilleures conditions possibles et il faut prendre les mesures et les règles suivantes: [11]

- Il ne faut jamais éliminer toute la plante dans le cas de besoin d'une plante entière pour qu'elle puisse se régénérer.
- Pour les fleurs et les feuilles, il faut les cueillir avec soin et doivent être mise dans des paniers aérés sans les tasser pour éviter leur fermentation et la perte de leurs propriétés bénéfiques.
- La cueillette des fleurs s'effectue le matin après leur dessèchement des gouttes de la rosée, en pleine maturité. Et dans le cas des plantes à inflorescence prolongée il faut les cueillir au début de leur apparition car elles vont perdre leur efficacité plus tard.
- Le temps idéal pour cueillir les feuilles et tiges est juste après le midi de jour, car la concentration des principes actifs augmente dans cette période de la journée; et il ne faut absolument les cueillir humides par ce qu'elles vont être susceptible à la fermentation comme il ne faut jamais les laver pour la même raison; pour les feuilles il faut prendre uniquement les saines.
- La cueillette des racines s'effectue au début du printemps ou durant l'automne car elles seront riches en principes actifs. On doit les laver et le bien nettoyer avant le séchage. Les racines récoltées au début de printemps on peut les éplucher par contre celles d'automne on ne peut pas car leurs écorces contiennent des principes actifs.
- Ne jamais cueillir au bord des routes, ni au bord des champs cultivés et traités (maïs, vignes...) sauf si vous êtes sûrs que l'agriculteur est en BIO. En effet les plantes médicinales absorbent les polluants des sols et les concentrent.
- Ne cueillir que quelques branches sur chaque plant pour préserver les plantes vivaces.

- Ne jamais arracher la plante sauf s'il est indispensable d'utiliser la racine ce qui est rare pour une consommation familiale.

« Attention ! Ne cueillez pas de plantes que vous ne connaissez pas !

Les anciens disaient qu'il fallait se soigner avec les plantes du coin ou celles de son jardin.

Sans doute avaient-ils, comme bien souvent, raison !! » [12]

7. Conservation des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont conservées à l'abri de la lumière et ne doivent pas être gardées au-delà d'une année (Penser à coller une étiquette avec les noms et dates des récoltes).

Il y a différentes méthodes pour conserver les herbes :

7.1. La réfrigération :

La réfrigération fonctionne seulement pour quelques jours.

- Si l'on veut garder les quelques tiges achetées au marché encore quelques jours au réfrigérateur, on peut les conserver en versant un peu d'eau dans le fond d'un pot et déposer les tiges à l'intérieur, le bout coupé trempant dans l'eau. Bien fermer le pot et le ranger au réfrigérateur. Les feuilles doivent cependant être bien sèches sinon elles risquent de brunir.
- Les plus petites tiges peuvent être enveloppées dans un papier essuie-tout que l'on dépose ensuite dans un sac de plastique bien fermé et que l'on garde au réfrigérateur dans le compartiment à légumes. De cette façon quelques herbes peuvent se conserver jusqu'à 2 semaines.

7.2. La congélation :

La congélation est souvent préférée au séchage pour conserver les herbes. Elle permet de garder la saveur et les huiles essentielles des plantes même si parfois on doit concéder sur la texture comme dans le cas du basilic qui devient noir, mais garde tout de même son goût particulier (à utiliser dans des plats cuits ou dans des purées où l'apparence ne dérange pas).

Les herbes qui se conservent le mieux par congélation sont :

L'aneth, le basilic, le baume mélisse, la bourrache, le cerfeuil, le cerfeuil musqué, la ciboulette, la coriandre, l'estragon, la livèche, la marjolaine, toutes les menthes, l'origan, l'oseille, le persil, le romarin, les sarriettes, les sauges et la verveine odorante.

On peut aussi congeler des feuilles individuellement. Il s'agit à ce moment-là de déposer les feuilles sur une plaque à biscuit et de congeler. Les mettre dans un contenant allant au congélateur et prendre selon besoin.

Références bibliographiques :

- [1]. Organisation mondiale de la santé (OMS), principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, Genève, 2000.
- [2]. Xiaorui ZHANG ; Réglementation des médicaments à base de plantes ; La situation dans le monde. 1998.
- [3]. Touafek Ouassila ; Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud Algériens ; thèse, Université de Mentouri-Constantine ; 2010
- [4]. Sergio Giani ; Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle ; 10^{ème} école d'été de l'IEPF et du SIFEE. Université de Bamako ; 2006.
- [5]. Dutertre Julie, Marie-Josèphe ; Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste ; 2011; Université Bordeaux 2.
- [6]. Biljana Bauer Petrovska. Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacogn Rev. 2012. 6(11) : 1-5.
- [7]. Jean-Michel Moral. Traité pratique de la phytothérapie. Editions Grancher. 2008.
- [8]. Mr. Ginseng. Comment Utiliser les Plantes Médicinales. 2012.
- [9]. La phytothérapie chinoise. Penelope Ody. 2004.
- [10]. Aziayé Komlan Amevur. Cueillette, conservation et efficacité des plantes médicinales. 2018.
- [11]. Organisation mondiale de la santé (OMS), Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. 2003. Disponible sur : <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42869>
- [12]. Manou. La cueillette des plantes médicinales et leur conservation. 2013

1. Introduction :

L'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies [1]. Dans le monde, près de 80% de la population a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits. Mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité [2]. Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [3]. Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, dont plus de molécules ont été identifiées. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes [4]. Ces métabolites secondaires ont des fonctions très importants pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes, comme ils participent à des réponses allélopathiques.

2. Les métabolites secondaires :

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent exactement pour la plante.

Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. On les appelle donc des métabolites secondaires. Donc ils sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures.

Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique [5].

À ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés et on estime que chaque végétal produit au moins une centaine de molécules différentes. Les métabolites secondaires participent à la vie de relation de la plante, et ils ont des rôles très variés. Ils peuvent servir de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant des rôles bénéfiques (pollinisateurs). Ils peuvent également

permettre la communication entre les plantes, par des messages d'alerte par exemple, ou faire partie de la structure de la plante (tanins et lignine). [6]

Les métabolites secondaires comportent deux types de composés :

- les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera la lignine, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les anthocyanes.
- les composés azotés qui comprennent les alcaloïdes et les glycosides. Ces derniers relarguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine ; les terpènes, les poly-isoprènes.

Ces métabolites jouent souvent un rôle de défense de la plante qui les fabrique.

Leurs rôles sont multiples:

- Ils ont une action anti-herbivore (menthe),
- Ils peuvent se comporter comme des réducteurs de la digestibilité,
- Ils inhibent les attaques des bactéries et des champignons,
- Ils interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins).

Beaucoup de composés secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole.

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

3. Les principales familles de métabolites secondaires chez les plantes :

3.1. Les mucilages :

Les mucilages sont des polymères complexes de fucose, d'acide glucuronique et d'acide manuronique (acide algenique) (fig. 3). Ce sont de substances que l'on trouve comme constituant important des algues pluricellulaires. Chez les végétaux supérieurs, les mucilages se trouvent essentiellement dans la sève. On ignore l'utilité exacte des mucilages pour les plantes. Diverses hypothèses font état que les mucilages pourraient être des cicatrisants.

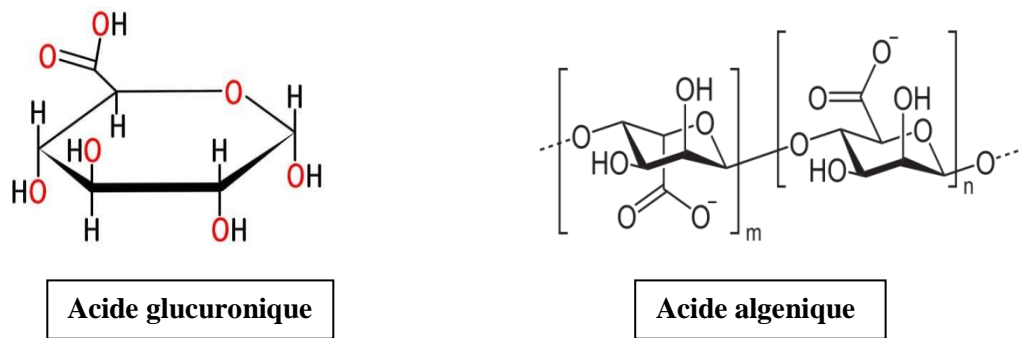


Fig. 3 : Structure des mucilages

Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui se gonflent avec l'eau. On trouve des mucilages chez pratiquement toutes les plantes, mais certaines en sont plus riches que d'autres. On trouve bien entendu des mucilages chez les algues (fuciales). Chez les plantes supérieures, diverses scrofulariacées, des malvales, des violales, divers lauriers, les tilleuls contiennent des quantités significatives de mucilages. [7]

3.2. Les gommés et les résines :

Les gommés et les résines sont des substances produites par la plante à la suite d'une blessure. Les résines sont surtout produites par les résineux, c'est-à-dire les pins, les sapins, les épicéas et d'une manière générale les gymnospermes.

Les gommés (gomme arabique, gomme adragante, etc.) sont surtout produites par des clusiacées ou guttifères, diverses légumineuses (astragale) et des urticales. [7]

3.3. Les tanins :

Les tanins (fig. 4) sont des substances présentes essentiellement dans les écorces. Ce sont des polymères (polyphénols). Ils forment, après coagulation, des composés très stables avec les protéines.

Les tannins ont pour effet principal, pour les plantes, de les rendre peu digestibles. Les acides phénoliques libres dans les cytoplasmes des cellules empêchent la digestion, par les herbivores (insectes surtout et leurs larves, chenilles essentiellement), des tissus végétaux en bloquant leurs enzymes digestives. [7]

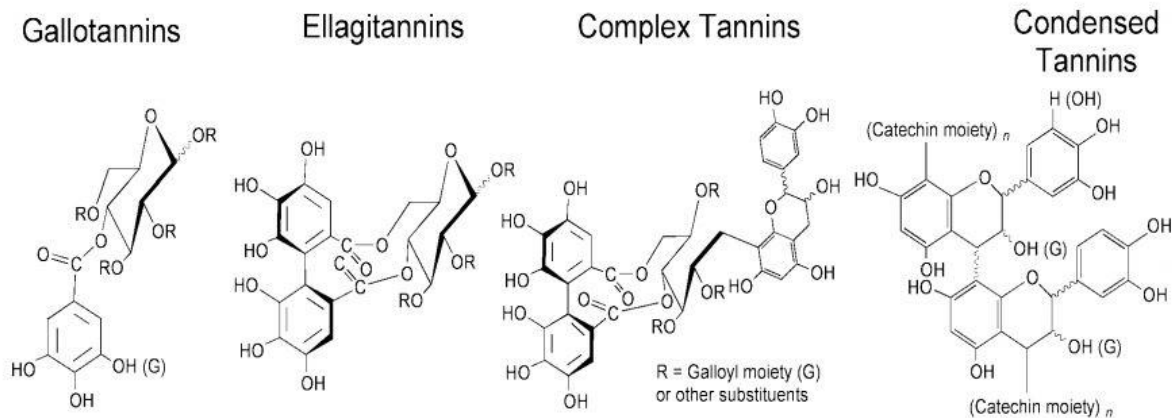


Fig. 4 : Structure des tanins

3.4. Les hétérosides :

a) Saponosides :

Les saponosides sont des substances dont la particularité est de mousser avec l'eau. Ces substances, légèrement caustiques et irritantes, probablement toxiques, rendent les plantes qui en contiennent tout à fait immangeables. [7]

b) Cardiotoniques :

Le muguet, la digitale pourpre sont quelques-unes de nos plantes plutôt riches en hétérosides cardiotoniques. Leur consommation peut être fatale pour les animaux qui en abuseraient. [7]

c) Anthracéniques :

Les renouées, la bourdaine, le nerprun contiennent des hétérosides anthracéniques. Ces plantes provoquent chez les animaux qui les consomment des troubles digestifs plus ou moins importants. Ces substances sont de puissants laxatifs et purgatifs. [7]

d) Cyanogènes :

Les plantes qui contiennent des hétérosides cyanogènes, quand on les froisse ou quand on blesse un de leurs organes, libèrent de l'acide cyanhydrique (odeur et goût d'amande amère). Outre le côté toxique de ces plantes quand on en abuse (cerises au kirsch), l'acide cyanhydrique leur donne souvent aussi un très mauvais goût.

Divers lauriers, des prunus et autres rosacées, le manioc, etc. sont des plantes riches en hétérosides cyanogènes. [7]

e) Lactoniques :

La Suze est caractéristiquement un apéritif où des amers sont développés par les hétérosides lactoniques de la grande gentiane. Le goût amer de ces composés peut à lui seul expliquer le peu d'appétence que manifestent divers herbivores à l'égard de ces plantes. L'homme, au contraire, met beaucoup à profit les amers de ces plantes dans des solutions alcoolisées pour la fabrication d'un nombre important d'apéritifs (vermouth, quinquina, gentiane, etc.). [7]

f) Sulfurés :

Les hétérosides soufrés sont surtout perçus " au nez " puisque leur humeur provoque une constriction sinusale caractéristique, surtout au niveau des sinus frontaux. On retrouve ces hétérosides dans certains vins soufrés, naturellement. Diverses crucifères et des liliales contiennent ces composés. [7]

3.5. Les huiles essentielles (aromatiques) :

Les huiles essentielles sont des essences (terpènes) très volatiles, non miscibles à l'eau et souvent parfumées. [7]

3.6. Les latex :

Les latex sont des substances sécrétées ou fabriquées par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) et qui ont la particularité de se solidifier au contact de l'air. Le latex de l'hévéa est utilisé dans l'industrie du caoutchouc.

Le latex est un caractère de défense qui apparaît dans de nombreuses familles différentes sous forme de résines, de gommes ou d'une sécrétion laiteuse.

Le latex a une double fonction de défense. Quand un insecte ravageur (termite, chenille, larve de charançon...) pénètre dans l'écorce d'un arbre en bonne santé et producteur de latex ou mange l'une de ses feuilles, l'arbre envoie à la tête de l'insecte un jet de gel collant. Celui-ci se solidifie dans les pièces buccales de l'insecte qui ne peut plus se nourrir et meurt rapidement. Ceci stoppe la plupart des insectes non spécialisés dans la lutte contre le latex. Même si l'insecte survit à cette première forme de défense, le latex contient des substances chimiques qui le tuent.

Cette forme de défense est énergétiquement très coûteuse pour la plante. Certains insectes ont trouvé une parade contre cette forme de défense : ils coupent les vaisseaux des feuilles, le latex s'écoule. Les insectes mangent la feuille une fois drainée. Mais certaines plantes ont résolu ce problème : *Carita papaya*, par exemple, a un réseau de

vaisseaux comportant des dérivations. Le latex peut alors passer d'un vaisseau endommagé à un vaisseau voisin, ce qui empêche le drainage de la feuille.

Les latex ne sont pas que des défenses physiques. La plupart d'entre eux contiennent aussi des produits plus ou moins toxiques, par exemple des alcaloïdes. [7]

3.7. Les alcaloïdes :

Un alcaloïde est une substance organique d'origine végétale, azotée et à caractère alcalin.

Les alcaloïdes (fig. 5) sont extraits de plantes qui appartiennent principalement à quatre familles botaniques : les papavéracées, les papilionacées, les renonculacées et les solanacées.

Les plantes dont sont issus les alcaloïdes les plus utilisés sont la belladone (atropine), le pavot (morphine), la pervenche de Madagascar (vinblastine), etc.

Les alcaloïdes sont utilisés comme antalgiques majeurs (morphine), antipaludéen (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante (curare, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaine, mescaline), comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine, vincristine). [7]

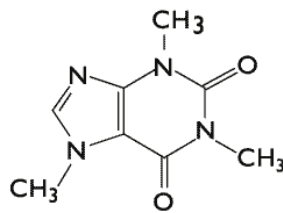


Fig. 5 : Structure des alcaloïdes

3.8. Les réducteurs de digestibilité :

Toutes les plantes possèdent des caractères leur permettant de réduire l'intensité des attaques par les herbivores en se dotant de dispositifs visant à réduire la digestibilité de leurs tissus.

Il existe des réducteurs de digestibilité à différents niveaux dans les plantes, par exemple :

- La cellulose et l'hémicellulose qui représentent 80 à 90% du poids sec de la plupart des plantes, réduisent la digestibilité des tissus végétaux.
- La lignine qui durcit les tissus des plantes et gêne la digestion des tissus végétaux : elle se lie aux enzymes du tube digestif des insectes herbivores.
- Les cutines qui sont des cires non phénoliques et forment la cuticule.
- La silice qui durcit les parois des cellules végétales et ne peut absolument pas être digérée par les herbivores. Chez les vertébrés, la silice bloque en plus le tractus

urinaire et abîme les dents. Cependant, les expériences semblent montrer que la silice est plus efficace contre les invertébrés que contre les vertébrés.

- Les tanins qui empêchent la digestion des tissus végétaux mangés par des herbivores en bloquant leurs enzymes digestives
- Les enzymes hydrolytiques, comme les glucanases et les lysozymes, et de nombreuses classes d'inhibiteurs d'enzyme. Ces molécules sont actives contre les enzymes du tube digestif des insectes.
- Des lectines qui se lient à la chitine des insectes et que l'on trouve communément dans les grains des céréales, ainsi que dans les tomates, les pommes de terre ou le latex de certains arbres.

3.9. Les polyphénols :

Les polyphénols (fig. 6) sont des métabolites secondaires, d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal [5].

La structure de base qui les caractérise est la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques auquel sont directement liés un ou plusieurs groupements hydroxyle libres ou engagés dans une autre fonction (éther,ester) [5].

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. Ils possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (tabac, pollution, infections...). Selon les chercheurs, l'effet protecteur des fruits et légumes vis-à-vis des maladies de civilisation (maladies cardiovasculaires, diabète...) serait d'ailleurs lié à la présence de très nombreux polyphénols, vitamines et acides phénoliques, présents dans ces aliments [5].

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires [8].

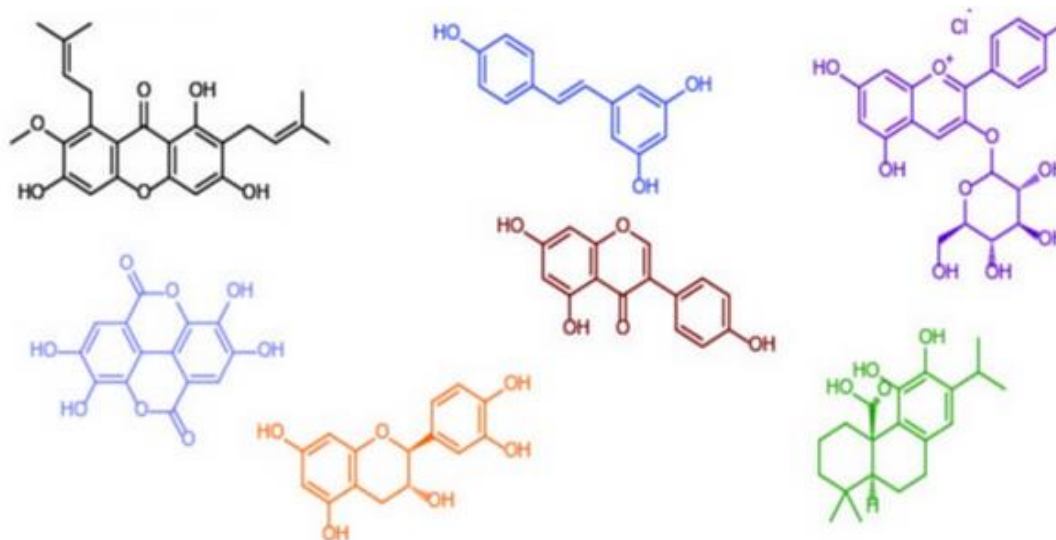


Fig. 6 : Structure de quelques polyphénols

4. Les molécules antioxydantes :

Afin de se protéger contre une exposition excessive aux radicaux libres, l'organisme peut fabriquer ses propres antioxydants à partir des nutriments suivants qui se trouvent dans la nourriture et les suppléments nutritionnels tel que l'acide aminé cystéine, les vitamines du complexe B, des minéraux comme le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc [9].

La nourriture renferme également des antioxydants tout faits qui contribuent à protéger l'organisme, dont : vitamine C, vitamine E, polyphénols (flavonoïdes, tanins...), caroténoïdes mixtes comme l'alphacarotène, le bêta-carotène et le lycopène [10].

4.1. La vitamine C :

La vitamine C (fig. 7) empêche l'oxydation des LDL (Lipoprotéines de faible Densité) produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée [5].

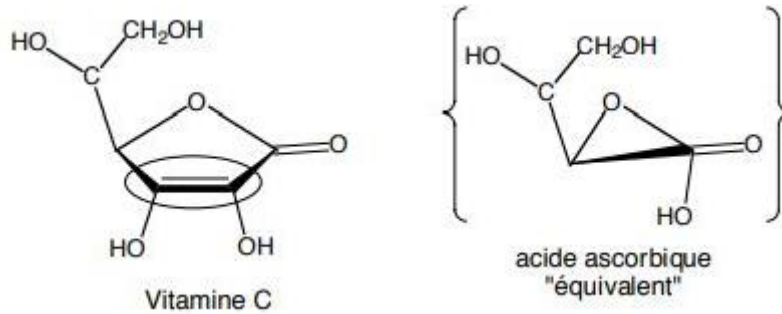


Fig. 7 : Structure de vitamine C

4.2. La vitamine E :

Il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs [5].

Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -tocophérol (α -ToCH) (fig. 8), connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection [5].

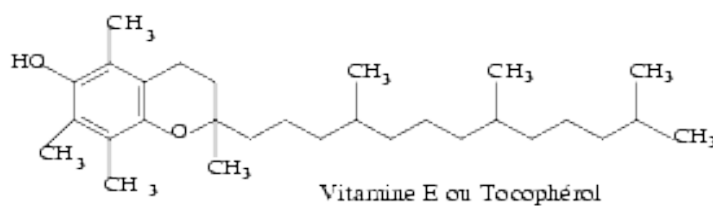


Fig. 8 : Structure de vitamine E

4.3. Le sélénium :

Le sélénium est un micro-élément essentiel (constituant de la glutathion peroxydase) qui intervient dans la protection contre les espèces oxygénées réactives. Il semble impliqué dans l'élimination des acides gras peroxydés et en association avec la vitamine E, dans la destruction des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-vieillessement, attribués au sélénium [5].

4.4. Le zinc :

Cet oligo-élément est un des co-facteurs essentiels. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydants comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre [5].

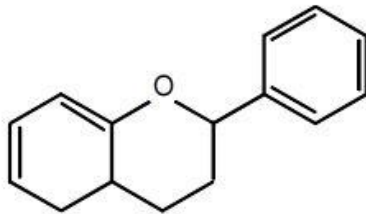


fig. 9 : Structure de base des flavonoïdes

Références bibliographiques :

- [1]. S. Athamena, I. Chalghem , A. Kassah-Laouar , S. Laroui, S. Khebri. Lebanese Science Journal, 2010. 11, 1.
- [2]. Benaissa Miloud. Valorisation du lactosérum par les bactéries lactiques. Thèse de doctorat. Université Oran 1. 2018.
- [3]. Ali Zaiter. Étude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres superfines. Université de Lorraine, 2017.
- [4]. Medeiros, A. A. 1997. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. Clin. Infect. Dis. 24 (1): 19-45.
- [5]. Farida belkhiri, abderrahmane beghiani. Plantes médicinales activités antioxydantes et antibactériennes, édition universitaire européenne, 2017.
- [6]. BENSLAMA A, substances d'origine végétale, université de Biskra, 2016
- [7]. Keel Christoph, interactions entre l'organisme et les plantes, université de Lausanne, 2015
- [8]. Bruneton Jean. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition revue augmentée. Paris. 2009
- [9]. Hosein et Lytle. Les antioxydants. Feuillelet d'information. 2001.
- [10]. Faridis Serrano·Eric Klann. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. Ageing Research Reviews. 2004. 3, 4, 431-443.

1. Présentation et description

Le *Daphne gnidium* L (daphné à feuilles de lin) (fig. 9) ; de la famille des Thymelaeaceae qui sont une petite famille de dicotylédones ; est un arbuste à feuilles persistantes de taille moyenne avec des feuilles étroites et serrées. Il porte des fleurs blanches parfumées à la fin du printemps et au début de l'été. Les fruits rouges apparaissent à l'automne. Il atteindra une hauteur de 1 m et une largeur de 1 m après 10 à 20 ans [1].

C'est une plante :

- Arbrisseau de 60 cm à 1-2 mètres, à tiges dressées, à rameaux effilés, cylindriques, lisses, bruns, pubérulents au sommet, feuilles dans toute leur longueur.
- feuilles glabres, subcoriacés, persistantes pendant un an, longues de 3-4 cm sur 3-7 mm, lancéolées-linéaires, uninervées.
- fleurs blanches, odorantes, la plupart caduques, pédicellées, disposées en panicule terminale, à pédoncules et pédicelles blancs-tomenteux.
- périanthe blanc-soyeux, à lobes ovales un peu plus courts que le tube.
- baie nue, ovoïde, rouge.

1.1. Ecologie :

Lieux arides et sablonneux du Midi et du Sud-Ouest : Provence, Languedoc, Roussillon ; Gironde, Charente-Inférieure, Vendée ; Corse.

1.2. Répartition :

Région méditerranéenne.

1.3. Floraison :

Mois de mars-octobre

2. Description Baseflor :

- Type Biologique : Nanophanérophytes (2 à 4m)
- Couleur de la fleur : Blanche
- Formation végétale : Nanophanérophytaie
- Chorologie : Méditerranéen
- Inflorescence : Racème simple
- Sexualité : Hermaphrodite
- Pollinisation : entomogame
- Floraison : de mars à octobre
- Dissémination : endozoochore
- Fruit : Baies

Il a des tiges avec des feuilles dans les parties supérieures, les feuilles sont dépourvues de 9 cm. long, linéaire, coriace, plus foncé dessus, plus clair et collant dessous, les fleurs mâles sont regroupées en panicules terminales. Extérieur blanc jaunâtre, intérieur plus blanc et poilu, fruits en drupe, ronds, rouges jusqu'à 8 mm de diamètre [1].



Fig. 10 : *Daphne gnidium* L

3. Autres noms :

Garou, Daphné paniculé, Garouette, Saint bois, Thymélée de Montpellier, Thymélée à feuilles de lin, Lin bâtard, Lin sauvage, Bois d'oreilles, Bois de garou, Coquenaudier, Camélée noire, Trintanelle [2].

- Nom scientifique : *Daphne gnidium* L.
- Nom vernaculaire :
 - Arabe: Lazzaz (لزاز)
 - Anglais: flax-leaved daphne
 - Français: Thymèleou saint-bois, le garou.
 - Espagnole : Matagallinas

Autres noms : [3]

- | | |
|------------------------------|-------------------|
| - Lin sauvage | - Camélée noir |
| - Daphné paniculé | - Trintanelle |
| - Garouette | - Coquenaudier |
| - Thymélée de Montpellier | - Bois d'oreilles |
| - Thymélée à feuilles de lin | - Lin bâtard |

4. Ecologie :

Pousse avec d'autres arbustes à feuilles persistantes sur des sols peu profonds et caillouteux, souvent sur les coteaux [4].

5. Caractéristiques climatiques :

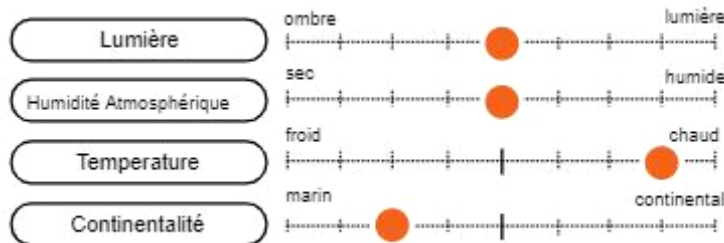


Fig. 11 : Caractéristiques climatiques[4].

6. Caractéristiques du sol :

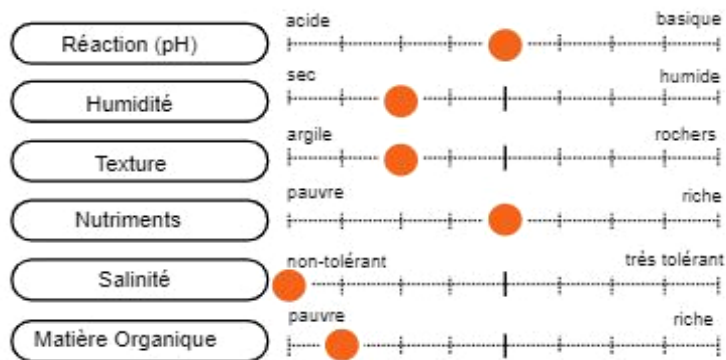


Fig. 12 : Caractéristiques du sol [4].

7. Composition chimique :

Le *Daphne gnidium* L. contient :

- ❖ Des coumarines (Daphnéline, daphnine, acétylimbelliférone, daphnorétine).
- ❖ Des flavonoïdes (lutéolin-3',7-di-O-glucosidelutéoline, orientine, isoorient quercétine, apigénine-7-O-glucoside, genkwanine, 5-O-b-D-primeverosyl genkwanine, 2,5,7,4'-tétrahydroxyisoflavanol) [5, 6].

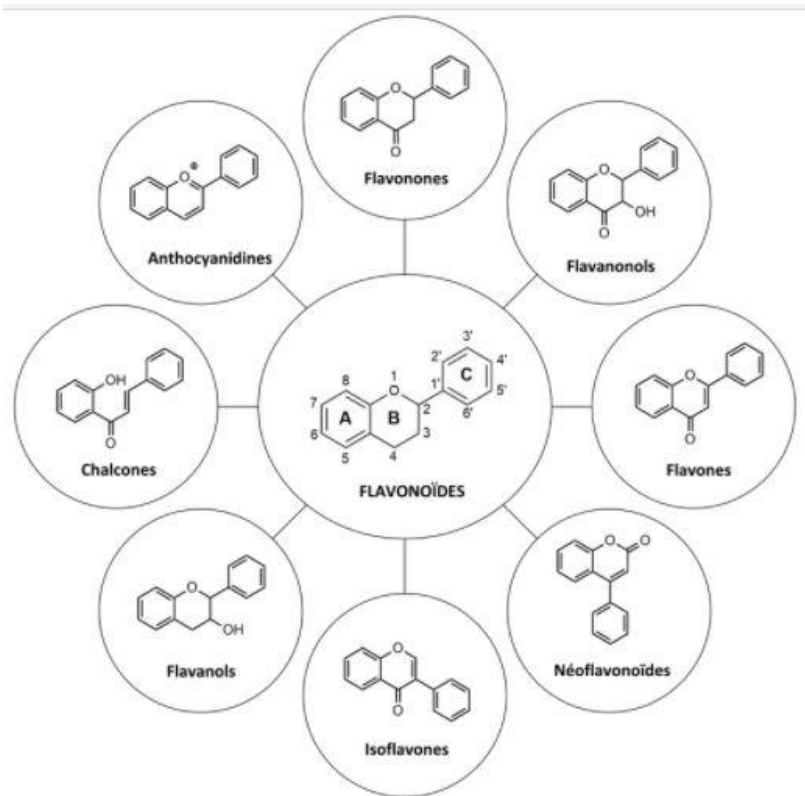


Fig. 13 : Quelques flavonoïdes de *Daphne gnidium* L.

- ❖ Les graines et les écorces de différentes espèces de *Daphne* renferment des diterpènes toxiques, la daphnétoxine (écorce) et la mézéréine (graines) [5, 6].

8. Toxicité de la plante :

La plante est toxique ; Toutes les parties de la plante sont irritantes. L'ingestion de 1 ou deux fruits entraîne des symptômes importants chez l'enfant. L'ingestion de 12 fruits est potentiellement mortelle chez l'adulte [5].

9. Applications médicinales de la plante :

- ❖ *Usage local* (Maroc): feuilles séchées et pulvérisées en mélange avec le henné pour traiter les cheveux.
- ❖ *Usage oral* : poudre d'écorce dans le traitement de la syphilis et des maladies vénériennes.

Références bibliographiques :

- [1]. Article par Montserrat Enrich-journaliste spécialiste en plantes sauvages comestibles et utilisation des plantes 2004.
- [2]. Leandri Jacques. Structure particulière d'un rhizome de *Daphne*. 1928, p. 243- 248.
- [3]. <https://www.toxiplante.fr/monographies/garou.html>
- [4]. <http://www.shootgardening.co.uk/plant/daphne-gnidium>
- [5]. Samia Aouadhi, Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle, étude de 57 plantes recommandées par les herboristes, Tunis, 2010
- [6]. Lahsissene H., Kahouadji A; Tijane M., & Hseini S. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). LEJEUNIA-Revue de botanique-n° 186 - Décembre 2009.

1. Matériel végétal :

Notre plante botanique nommée *Daphne gnidium* L est originaire de la région d'al-MAAMORA de la wilaya de Saïda (fig. 14).

AL MAAMORA est une commune de la daïra d'Elhassasna, située à 45 km du centre de wilaya de Saïda. Elle s'appelait à l'origine El Maâmir.

La commune a un climat continental froid en hiver et chaud en été. Cela l'a attribuée une diversité végétale, notamment les herbes médicinales.



Fig 14 : Le lieu de récolte de *Daphne gnidium* L.

La récolte de *Daphne gnidium* L a été réalisée durant le mois de Mars 2021.

Une fois récolté, notre matériel botanique a subi un rinçage puis un séchage à l'abri de la lumière de la lumière à l'air libre pendant 15 jours (fig. 15). Ce dernier, a été broyé afin de l'utiliser sous forme de poudre (fig. 15).



Fig. 15 : Photos montrant *Daphne gnidium* L. après séchage et broyage.

2. Détermination de la teneur en humidité :

Le principe de la détermination de l'humidité du matériel végétale est la différence de masse de l'échantillon avant et après séchage jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

La teneur de l'humidité est donnée par la relation suivante :

$$\% \text{Humidité} = \frac{\text{la masse de l'échantillon avant séchage} - \text{la masse de l'échantillon après séchage}}{\text{la masse de l'échantillon après séchage}} \times 100 \quad (\text{IV.1})$$

3. Méthodes d'extractions :

3.1. Extraction par macération :

La macération est une technique d'extraction dans un solvant à température ambiante. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est la seule méthode utilisable dans le cas d'extraction d'un ensemble de molécules fragiles.

100g de poudre de plante a été mise dans 1L d'eau distillée pendant 24 heures sous agitation (fig. 16). L'extrait récupéré par filtration est soumis à la vaporisation du solvant.



Fig. 16 : Photos montrant l'extraction par macération.

3.2. Extraction par Soxhlet :

L'extraction de notre matériel végétal via un montage approprié de type Soxhlet (fig. 17) en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction est exécuté durant un séjour de 3 heures. L'élimination du solvant nous a permis d'avoir un substrat (métabolites) apte à être utiliser pour les différents analyses et applications.



Fig. 17 : Photos montrant l'extraction par soxhlet.

4. Calcul du rendement :

Le rendement en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenue après évaporation de solvant via un Rotavapor et la masse sèche du matériel végétal à traiter.

$$\boxed{R(\%) = M / M_0 \times 100} \dots\dots\dots \text{(IV.2)}$$

Dont :

R(%) : Rendement exprimé en %

M: représente la masse en gramme de l'extrait.

M₀: représente la masse en gramme du matériel végétal sec.

5. Phytochimie quantitative :

5.1. Dosage des phénols totaux (TPC) :

Cette analyse permet d'avoir une notion sur la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adoptée de Singleton et Ross [1] avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Tout le contenu phénolique de chaque extrait a été déterminé par la méthode citée précédemment en utilisant l'acide gallique comme phénol standard. Cette méthode colorimétrique mesure le taux des composés phénoliques où la réaction est basée sur la réduction d'acide phosphotungstomolybdique incolore qui est réduit par l'oxydation des

phénols en oxyde bleu de tungstène et molybdène, ce qui entraîne une couleur bleu détectable par le spectrophotomètre en UV-Visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm.

5.1.1. Courbe d'étalonnage :

Une courbe d'étalonnage était obtenue par des solutions ; aqueuse et éthanolique d'acide gallique de concentration massique différentes. On introduit dans un tube à essai 100 µl de chaque solution de l'acide gallique suivi de l'addition de 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée) et 0,3 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (2%) et 4,5 ml d'eau distillée. Ces solutions sont incubées immédiatement à l'obscurité pendant 120 minutes à la température ambiante pour que la réaction s'accomplisse.

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc par un spectrophotomètre. Le taux des phénols totaux (TPC) est exprimé en (GAE mg/g) par la Formule générale suivante:

$$\text{TPC} = [\text{GAE}] \times \text{V/M} \dots\dots\dots (\text{IV.3})$$

Où :

TPC : quantité des phénols totaux en GAE mg/g

GAE mg/g : équivalent d'acide gallique en milligramme par gramme de plante sèche.

[GAE] : Concentration d'acide gallique obtenu de l'équation de ponté établie de la courbe d'étalonnage

V : Volume d'extrait (ml) = 0,1 ml

M : masse d'extrait de plante pure (g) = $0,1 \cdot 10^{-3}$ g

5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

L'estimation de la quantité des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adoptée de Lamaison et Carnat [2], dans ce test les flavonoïdes ont été quantifiés par un dosage direct à l'aide d'une solution aqueuse de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Cette solution forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe de couleur jaune absorbe dans le visible à une longueur d'onde 510 nm. Dans cette méthode la Catéchine a été utilisée comme flavonoïde standard.

5.2.1. Courbe d'étalonnage :

A partir d'une solution mère de concentration 1 g/l, des solutions filles ; aqueuse et éthanolique de Catéchine sont préparés. A une quantité de 0,5 ml de chaque solution de Catéchine ainsi préparée on ajoute 0,15 ml de la solution aqueuse de chlorure d'aluminium de

(10%) et 0,15 ml d'une solution de NaNO_2 (7%), après une incubation de 5 min à l'obscurité et à la température ambiante, 1 ml d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) est ajouté puis le volume total est complété jusqu'au 5 ml.

Après une incubation de 15 minutes. L'absorbance du mélange a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm contre un blanc en utilisant toujours le même spectrophotomètre UV-Visible.

On trace la courbe d'étalonnage de la Catéchine qui représente la variation de l'absorbance du mélange des solutions déjà préparées en fonction des concentrations des solutions filles. La quantité des flavonoïdes dans les extraits étudiées a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine et exprimée en mg/g et en équivalent de la Catéchine. Le taux des flavonoïdes totaux (TFC) est exprimé en (CE mg/g) par la Formule générale suivante :

$$\boxed{\text{TFC} = [\text{CE}] \times \text{V/M}} \dots\dots\dots (\text{IV.4})$$

Où :

TFC : quantité des flavonoïdes totaux en CE mg/g

CE mg/g : équivalent de Catéchine en milligramme par gramme de plante sèche.

[CE] : Concentration de Catéchine obtenu de l'équation de ponté établie de la courbe d'étalonnage

V : Volume d'extrait (ml) = 0,1 ml

M : masse d'extrait de plante pure (g) = $0,1 \cdot 10^{-3}$ g

5.3. Analyses chromatographiques :

5.3.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM):

➤ Principe :

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants (état liquide) et la phase stationnaire est généralement un adsorbant maintenu sur une plaque soit en verre soit en plastique rigide. L'échantillon soit liquide ou solubilisé dans un solvant volatil est déposé ponctuellement sur la phase stationnaire (sur la plaque). Les constituants de l'échantillon sont élués (entraînés) par la phase mobile qui grimpe par capillarité vers le haut de la plaque.

Dans ce test, 100 mg de (extraits aqueux ou organique) est dissout dans 1ml d'éthanol.

Notre phase stationnaire est une plaque de silice phase normale (Ultra pure silicagel), cependant la phase mobile est un mélange de trois solvants dont ; Chloroforme (CHCl_3), Méthanol (MeOH) et hexane (C_6H_{14}) avec différents rapports :

CHCl_3 : (3), (v).

CHCl_3 / MeOH: (1,5/1,5), (v/v).

CHCl_3 / C_6H_6 : (1,5/1,5), (v/v).

L'image suivant montre la plaque CCM avant de maître dans la cuve de CCM (fig. 18).



Fig. 18 : Photos montrant la plaque CCM avant de maître dans la cuve de CCM.

Finalement, pour faire révéler les tâches résultantes, les plaques ont été séchées dans un milieu d' I_2 .

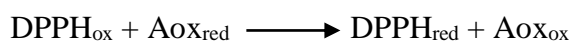
➤ Facteur de rétention :

Le facteur de rétention (RF), ou facteur de retardement, d'un composé est le rapport de la distance parcourue par le composé et la distance parcourue par le front du solvant. Le facteur de rétention pour un composé :

$$Rf = \frac{\text{Distance de migration d'un composé}}{\text{Distance de migration du solvant}} \dots\dots\dots(\text{IV.5})$$

6. Le test au DPPH :

Le DPPH (2,2 Diphényl 1-Pycril Hydrazil) est un radical de couleur violet intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radiaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH \cdot



De nombreuses méthodes sont développées permettant d'évaluer les capacités antioxydantes de composés naturels ou bien issus de la synthèse chimique. L'une d'entre elle, couramment utilisée, fait appel à l'utilisation d'un radical libre stable, le (2,2-Diphényl-1-Picryl Hydrazyl) (DPPH).

La stabilité de ce radical résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux (fig. 19).

D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution éthanolique caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à une longueur d'onde de 517 nm.

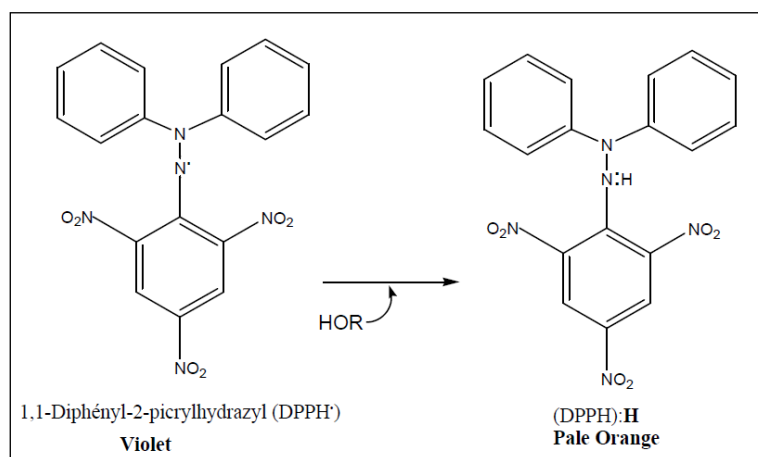


Fig. 19: Forme libre et réduite du DPPH [3]

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 0,1 ml de la solution à tester, on ajoute 3,9 ml de solution au DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à une température ambiante pendant 30 minutes.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre. Pour chaque dilution, on prépare un blanc, constitué de 0,1 ml de la solution à tester additionné de 3,9 ml d'éthanol. Le contrôle négatif est composé de la solution DPPH.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test.

6.1. Expression des résultats :

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50% (IC_{50}), les résultats sont exprimés en activité antioxydante.

Cette activité qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans l'éthanol.

L'activité antioxydante "I %" est donnée par la formule suivante : [4]

$$I\% = [(Ac - At) / Ac] \times 100 \dots\dots\dots (IV.6)$$

Où :

I% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'antioxydant

A_c : L'absorbance de la solution de DPPH sans antioxydants à t = 0 min

A_t : L'absorbance à l'établissement de l'équilibre de la solution de DPPH après addition d'un volume d'antioxydant

La valeur EC₅₀ (autrement appelée la valeur IC₅₀) est déterminée pour chaque extrait, est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur) (exprimée en mg de substrat/g de DPPH). Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour diminuer de 50% l'absorbance de la solution contrôle constitué de méthanol et DPPH [5].

Références bibliographiques :

- [1]. Giner Chafez.B.I. 1996. Condensed tannins in tropical forages, Thèse Ph.D, Cornell University. Ithoua.Ny.USA.
- [2]. Quetier.Delen.C et AL. 2000. Phenolic Compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*. 72, 35-42.
- [3]. Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*; 26 (2): 211-219.
- [4]. Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Šilhár S., Labuda J. 2003. Comparison of Antioxidative Activity Data for Aqueous Extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis L.*), Oregano (*Origanum vulgare L.*), Thyme (*Thymus vulgaris L.*), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria L.*) obtained by Conventional Methods and the DNA-Based Biosensor. *Czech J. Food Sci*; 21 (2): 78–84.
- [5]. Mensor L. L., Menezes F. S., Leitão G. G., Reis A. S., Santos T. C., Coube C. S. et Leitão S. G. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res*; 15: 127-130.

1. Détermination de la teneur en humidité :

Pour déterminer la teneur en humidité de l'espèce *Daphne gnidium* L., Nous avons pesé cette dernière en état fraîche, deux semaines plus tard et une fois devenus sec, nous l'avons repesé. La teneur en humidité est calculée selon la formule (IV. 1). Suite à cela un taux de 72.07% (fig. 20) représentant la teneur en humidité de *Daphne gnidium* L., dont 27.93% représente le taux de matière sèche ayant servi réellement à l'extraction.

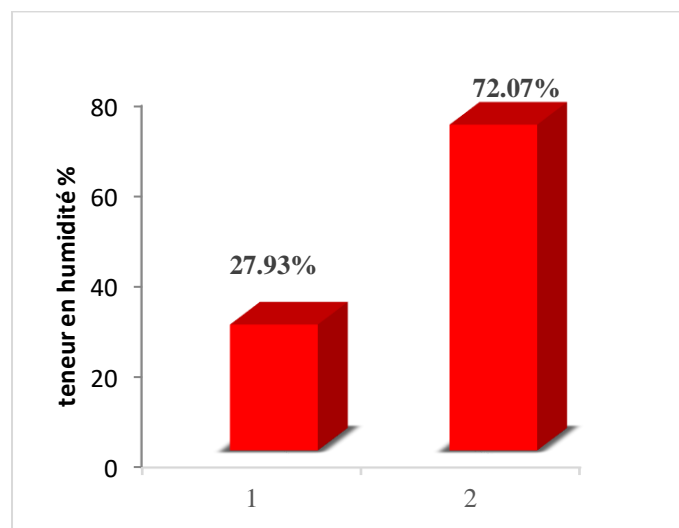


Fig. 20 : Représente les teneurs en (1) matière sèche et (2) humidité.

Lorsqu'un échantillon végétal est séché dans un endroit aéré, l'eau (H_2O) s'évapore et le résidu sec s'appelle la matière sèche (MS).

D'après la fig.20, nous constatons une forte teneur en eau, cela est claire vu le taux d'humidité (72.07%) qui représente plus que la moitié du poids de la plante fraîche.

2. Détermination du rendement d'extraction :

L'opération de l'extraction par macération de la partie aérienne (les feuilles) *Daphne gnidium* L. dans l'eau distillée a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 16.81 % (m/m). Cependant, le rendement d'extrait éthanolique des feuilles de *Daphne gnidium* L. obtenu par Soxhlet a été estimé à 55.82 % (m/m) (fig. 21).

Le rendement d'extrait éthanolique est supérieur par rapport à extrait aqueux, la différence de rendement entre les extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, qui sont totalement différentes et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre.

Le rendement d'extraction, en général est affecté par plusieurs facteurs tels que la polarité du solvant ou du système de solvants d'extraction, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition d'échantillon [1].

La polarité du solvant semble aussi influencer le rendement d'extraction. En général, les rendements les plus élevés sont obtenus avec les solvants polaires tels que l'eau, le méthanol et l'éthanol [1, 2].

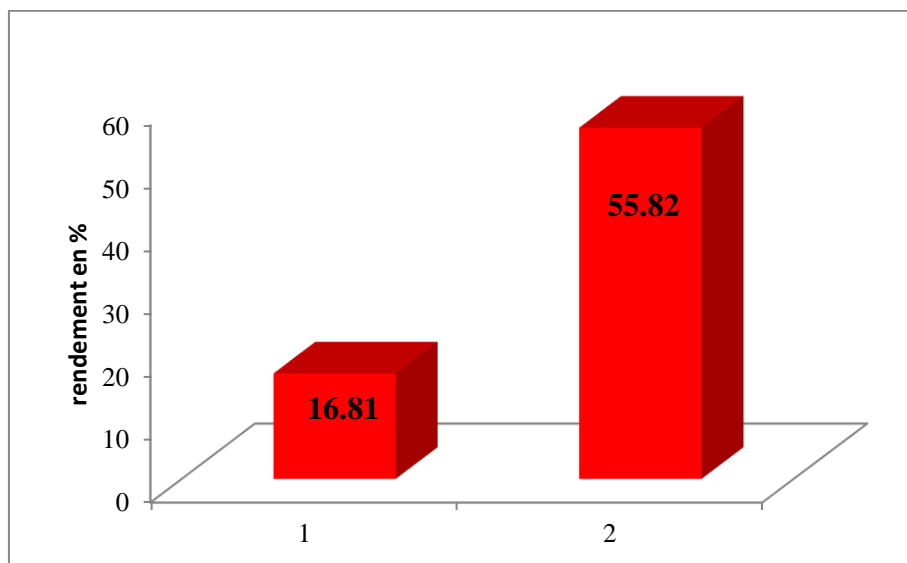


Fig. 21 : Rendement d'extraction de *Daphne gnidium* L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique.

3. Résultats des testes phytochimiques quantitative :

3.1. Quantification des composés phénoliques :

3.1.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC) dans l'extrait aqueux :

La teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux est estimée par le réactif du Folin-Ciocalteu selon la méthode colorimétrique de Singleton et Rossi.

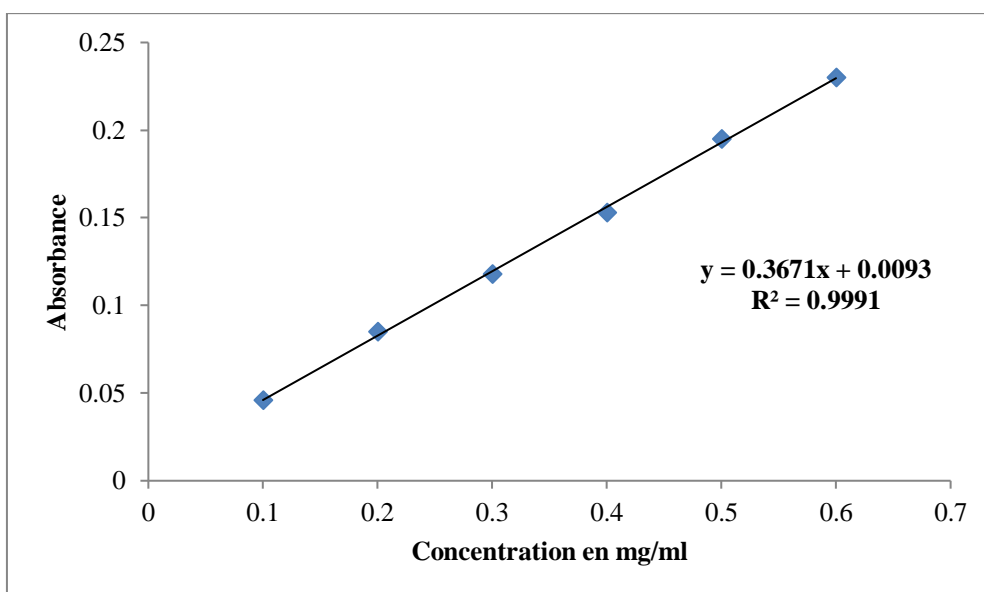


Fig. 22 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique (extrait aqueux).

La teneur en composés phénoliques de l'extrait aqueux a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (fig. 22) et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g).

De la courbe d'étalonnage d'acide gallique illustré dans la figure 22, on peut visualiser la droite qui reflète l'effet proportionnelle de l'absorbance en fonction de concentration. L'équation de régression ($y = 0.367x + 0.009$), nous a permis de calculer la quantité des polyphénols totaux présent dans notre matériel végétal.

La teneur moyenne en polyphénols totaux est de 0.34 mg EAG/g, calculé à l'aide de l'équation de régression.

3.1.2. Dosage des polyphénols totaux (TPC) dans l'extrait organique (éthanol) :

Egalement, la même méthode précédemment décrit a été adopté pour déterminer la teneur en composés phénoliques d'extrait organique (éthanol), cela à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (fig. 23).

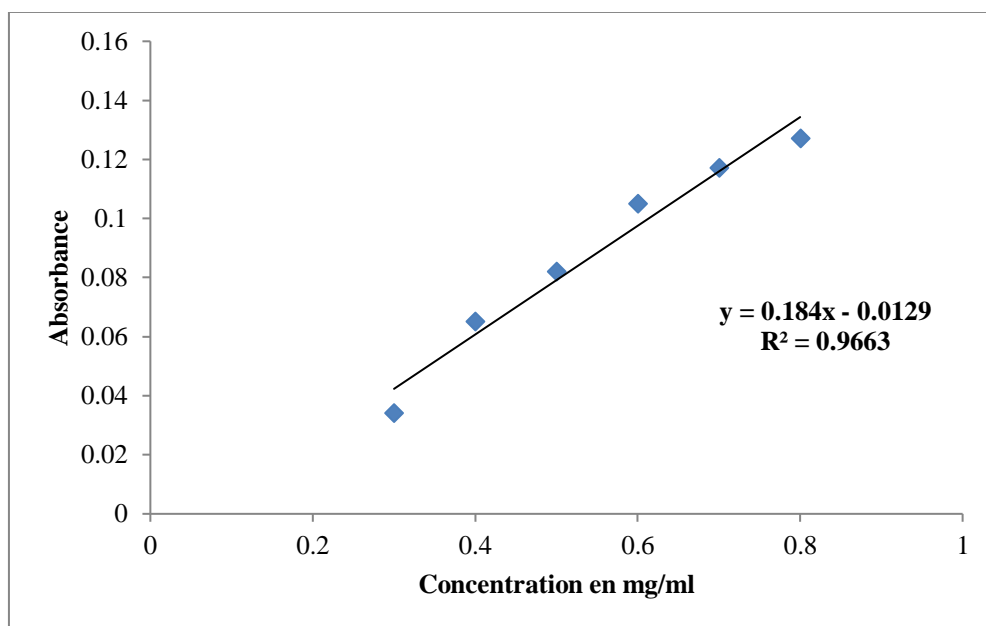


Fig. 23 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique (extrait éthanolique).

A partir de l'équation de régression ($y = 0.184x - 0.012$), du courbe d'étalonnage d'acide gallique, on calcule la concentration en polyphénols totaux d'extrait éthanolique. Ce dernier a montré une teneur moyenne en polyphénols totaux de 2.17 mg EAG/g.

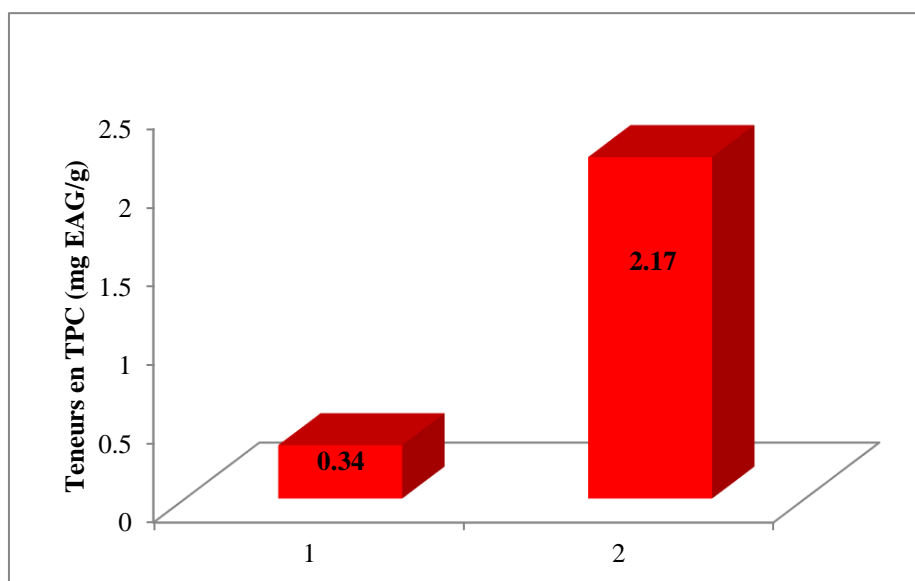


Fig. 24 : La teneur en polyphénols totaux (TPC) des extraits de *Daphne gnidium* L. **(1)** extrait aqueux et **(2)** extrait éthanolique.

Par comparaison des deux teneurs en polyphénols totaux, on constate que l'extrait éthanolique possède le taux le plus élevé en polyphénols totaux par-rapport à l'extrait aqueux avec des valeurs de 2.17 mg EAG/g et 0.34 mg EAG/g, respectivement.

Les résultats de ces études sont difficiles à comparer avec d'autres résultats à littératures à cause des différences dans les méthodes d'extraction et de calcul [3]. En outre, la température et le solvant d'extraction jouent un rôle primordial dans le rendement en polyphénols obtenu [4]. En plus, la quantité des polyphénols dans les plantes dépend de nombreux facteurs intrinsèque (génétique) et extrinsèque (environnemental, récolte, séchage et stockage) [5].

3.2. Quantification des flavonoïdes :

La détermination des teneurs en flavonoïdes dans les différents extraits est mesurée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) [6], à une absorbance de 510 nm par spectroscopie UV. Les concentrations des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la courbe d'étalonnage.

3.2.1. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) dans l'extrait aqueux :

La courbe d'étalonnage (fig. 25) réalisé avec l'étalon « Catéchine » nous a permis ainsi de calculé la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux.

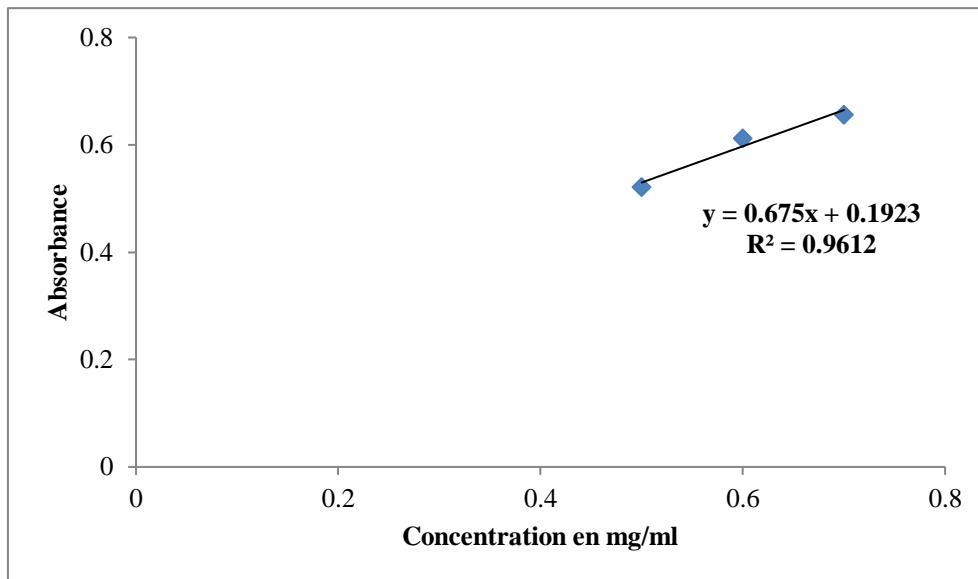


Fig. 25 : Courbe d'étalonnage de catéchine (extrait aqueux).

La teneur en flavonoïdes totaux d'extrait aqueux des feuilles de *Daphne gnidium* L. est estimée à 0.68 mg CE/g. Cette valeur est obtenue de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage illustré dans la figure 25.

3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) dans l'extrait organique (éthanol) :

La courbe d'étalonnage (fig. 26) réalisé avec l'étalon « Catéchine » dans un solvant organique (éthanol), nous a permis ainsi de calculé la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait éthanolique.

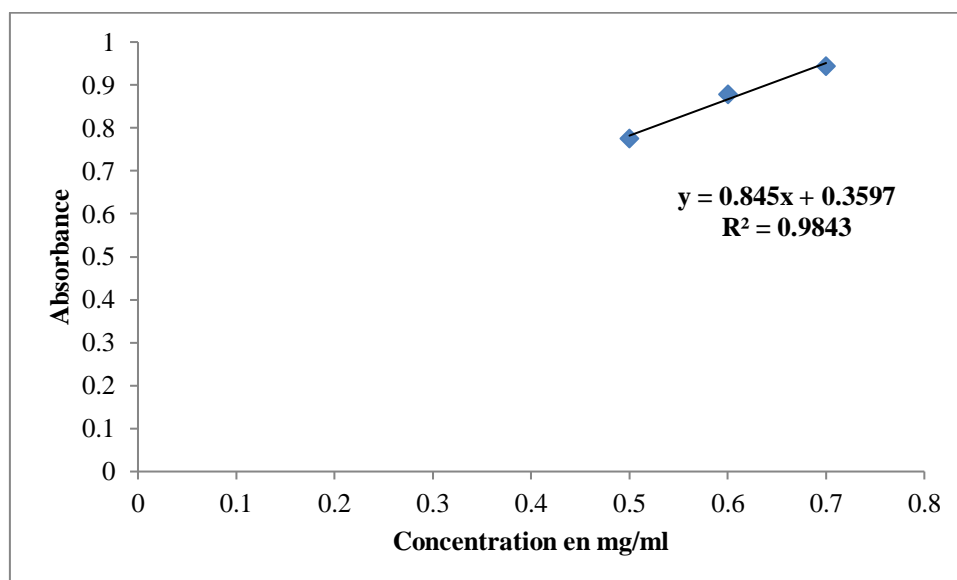


Fig. 26 : Courbe d'étalonnage de la catéchine (extrait éthanolique).

L'équation de régression obtenu de la courbe d'étalonnage ($y = 0.845x - 0.359$), nous a aidée à calculé la teneur en flavonoïdes totaux présente dans cet extrait (0.62 mg CE/g).

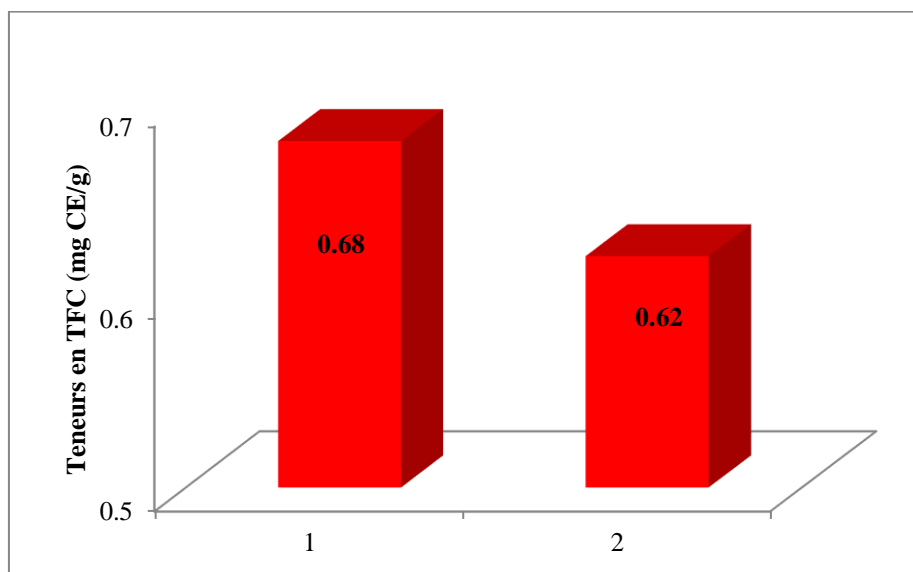


Fig. 27 : La teneur en flavonoïdes totaux (TFC) des extraits de *Daphne gnidium* L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique.

Selon les résultats enregistrés on remarque que la quantité des composés flavonoïdes des feuilles de *Daphne gnidium* L. dans les extraits organique et aqueux sont presque semblable avec (0.62 mg CE/g) et (0.68 mg CE/g), respectivement.

Les deux résultats obtenus montrent la faible teneur des feuilles de *Daphne gnidium* L. en composés flavonoïdes par rapport à la variété Tunisienne connue pour un taux de 494.57 mg CE/g [7].

4. Résultats des analyses chromatographiques :

4.1. Chromatographie couche mince (CCM) :

Par ses faibles contraintes techniques, son emploi simple et son coût modeste, cette technique nous informe sur le contenu en phytoconstitués en se basant sur les résultats analytiques [8]. Pour atteindre nos objectifs, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince (CCM) pour l'extrait aqueux et Organique (éthanolique) des feuilles de *Daphne gnidium* L. sur une plaque de gel de silice en utilisant deux systèmes :

Chloroforme / méthanol (1.5/1.5) (v/v).

Les rapports frontaux (Rf) des différents composés d'extraits aqueux et organique dans la phase mobile sont représentés dans le tableau 1.

Tableau 1: Les rapports frontaux des taches obtenues pour l'extrait éthanolique

Extrait éthanolique	Rf
	CHCl ₃
Tâche 1	0.41
Tâche 2	0.76

De tableau 1, c'est clair que l'extrait éthanolique est approximativement composé de deux différentes tâches, dont chacune d'entre elles nous oriente vers l'existence d'un composé.

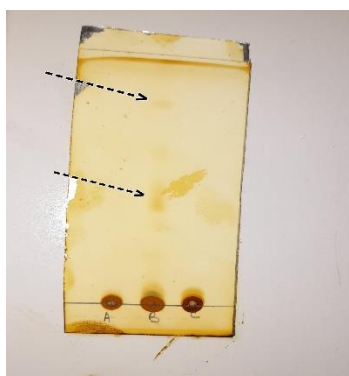


Fig. 28 : Résultats de CCM d'extrait éthanolique pour le système CHCl₃

Cependant, de la même manière le tableau 2 nous rapporte les différents rapports (Rf) des différents composés d'extrait aqueux dans la phase mobile issue de la plaque CCM.

Tableau 2: Le rapport frontal de tache obtenue pour l'extrait aqueux

Extrait aqueux	Rf
	CHCl ₃ / MeOH
Tâche 1	0.75

Les résultats de l'analyse chromatographique ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes et composé phénolique. Le système de migration constitué de chloroforme et méthanol a permis d'avoir une bonne séparation chromatographique et une visibilité acceptable des spots.

La plaque de CCM de système de chloroforme/ méthanol (fig. 29) révèle une tâche.

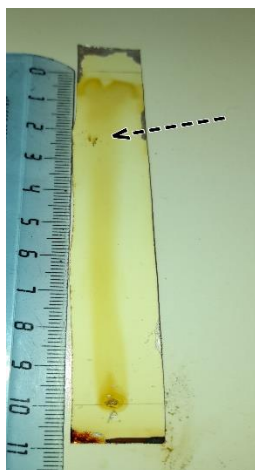


Fig. 29 : Résultats de CCM d'extrait aqueux pour le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$

Les différences des valeurs de R_f sont dues à la polarité des composés vis-à-vis du système de solvants d'élution et la phase stationnaire.

En général, les constituants chimiques diffèrent selon la partie de plante aussi d'une espèce à l'autre [9]. Comme on peut expliquer ces différences par la variabilité de solubilité des composés phénoliques et flavonoïdes dans les différents systèmes des phases mobiles.

5. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire par DPPH :

L'évaluation du pouvoir anti-radicalaire des extraits des feuilles de *Daphne gnidium* L. a été évalué en déterminant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•. Nous avons constaté que l'absorbance de la solution de 2,2-diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) diminue au fur et à mesure que nous ajoutons les extraits (organique / aqueux). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires [10] ; la couleur passe progressivement du violet au jaune donc la décoloration sera directement proportionnelle au nombre de protons captés du milieu réactionnel. Cette méthode nous permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH et donc nous fournit un moyen pratique pour mesurer le pouvoir antioxydant des extraits étudiés.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• est calculé suite à la mesure d'absorbance de chaque extrait avec différentes concentrations par la formule (IV.6), cela nous a permis de tracer les courbes 30 et 31 des extraits éthanolique et extrait aqueux, respectivement.

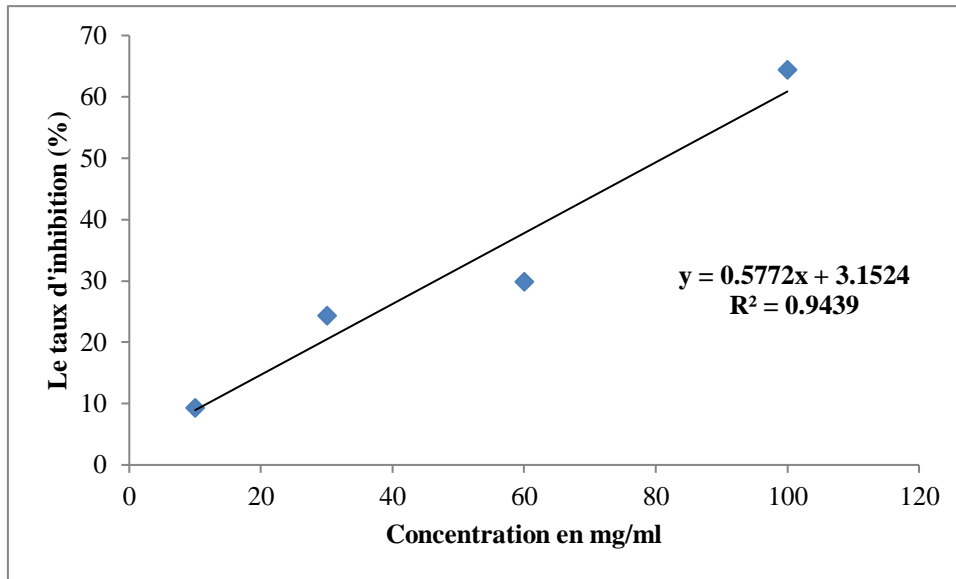


Fig. 30 : Courbe d'activité antioxydante d'extrait éthanolique de *Daphne gnidium* L.

La concentration capable d'inhiber ou de capter 50% des radicaux libre IC_{50} est calculée à partir de chaque courbe des deux courbes précédentes. L' IC_{50} d'extrait aqueux a enregistré une concentration excellente par rapport au extrait aqueux mais très faible par rapport au extrait organique avec des valeurs de l'ordre de 30.39 mg/ml et 81.19 mg/ml, respectivement.

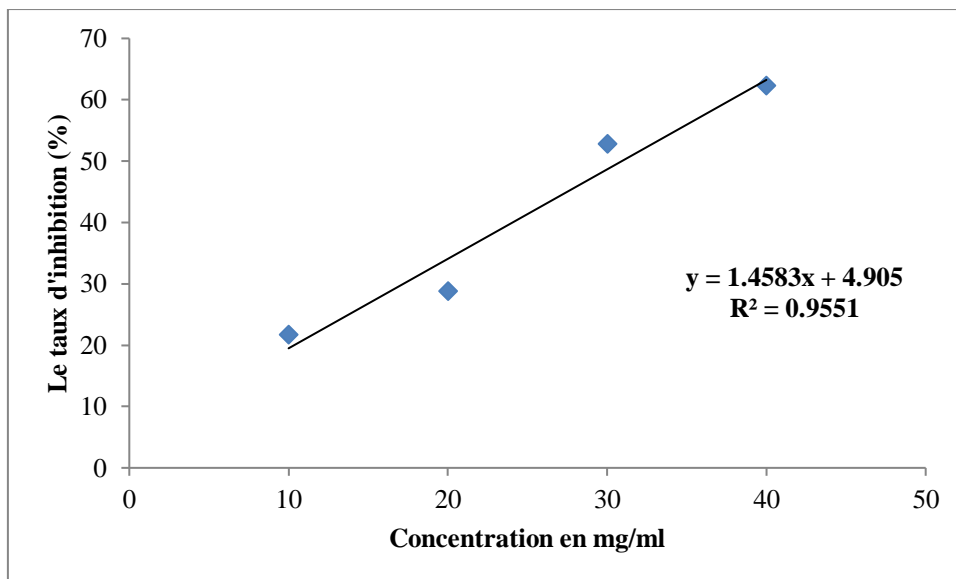


Fig. 31 : Courbe d'activité antioxydante d'extrait aqueux de *Daphne gnidium* L.

La figure 32, illustre les différentes valeurs d'IC₅₀ trouvées pour les différents extraits.

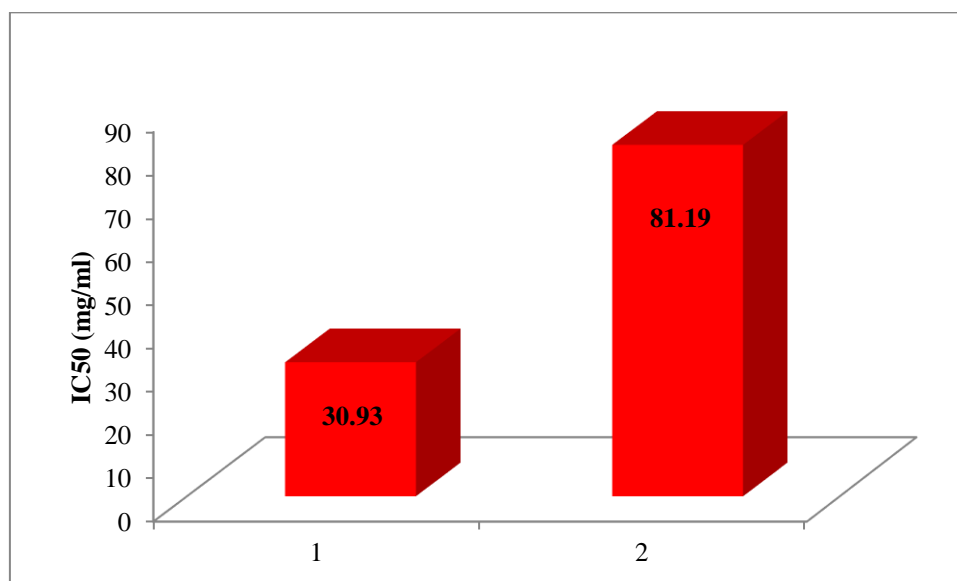


Fig. 32 : Les valeurs d'IC₅₀ des extraits de *Daphne gnidium* L. (1) extrait aqueux et (2) extrait éthanolique.

Au vu des résultats obtenus, nous concluons que nos extraits sont doués d'un pouvoir inhibiteur des radicaux libres très important [11].

Un effet antioxydant remarquable vis-à-vis du radicale DPPH• est témoigné par les résultats obtenus par ce test animer par les extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *Daphne gnidium* L. Ce pouvoir antioxydant est fort probablement dû aux composés phénoliques présents dans les feuilles de *Daphne gnidium* L. et qui sont connus comme substances antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène [12].

Références bibliographiques :

- [1] DO Q.D., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L., Huynh L.H., Soetar Edjo F.E., Ismadji S., JU Y.H., 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3) : 296-302.
- [2] Iloki-Assanga S.B., Lewis-luján L.M., Lara-Espinoza C.L., Gil-Salido A.A., Fernandez-Angulo D., Rubio-Pino J.L. & Haines D.D., 2015. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceros* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Res. Notes*, 8: 396.
- [3] Modnicki D. Balcerek M., 2009. Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. Commercial samples. *Herba Polonica*. 55 (1) : 35-42.
- [4] Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A. Pereira A., 2008. Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives «alcaparras». *Learning with Technologies*. 41: 739-745.
- [5] Bammou M., Sellam K., El Rhaffari L., Bouhlali E.D.T., Daoudi A., Ibijbijen J. & Nassiri L., 2015. Bioactivity of *Anvillea radiata* Coss & Dur. Collected from the southeast of Morocco. *European Scientific Journal*, 11 (21).
- [6] Lamaison J. L., and Carnat A., 1991. Teneurs en principaux flavono ? des des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. En fonction de la période de végétation, *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, vol. 25, no. 1, pp. 12-16.
- [7] Fadwa Chaabane, Jihed Boubaker, Amira Loussaif, Aicha Neffati, Somaya Kilani-Jaziri, Kamel Ghedira, Leila Chekir-Ghedira. 2012. Antioxidant, genotoxic and antigenotoxic activities of daphne gnidium leaf extracts. *Complementary and alternative medicine*. 12 : 153.
- [8] Zeghouane, H. 2014. Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est- Algérien. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université Kasdi Merbah. Ouargla. 56 p.
- [9] Bougar, N., & Belkacem Kourmi Z. 2016. Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante *urtica dioica* L (ortie dioïque). Mémoire de Master en Chimie. Université Djilali Bounaâma. Khemis Miliana. 53 p.
- [10] Majhenic L., kerges M.S., Knez Z. 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104, 1258-1268

[11] Pokorny, J; Yanishlieva, N; Gordon, M. 2001. Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited.

[12] Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro, Dennis J Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, 13, 572-584.

Conclusion générale :

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sont utilisés de manière significative à la prévention des maladies et le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant de différents extraits de *Daphne gnidium* L. de la famille des Thymelaeaceae de la région de Saida.

La première étape consiste à l'extraction des composés phénoliques par deux méthodes classiques, la première est une macération à froid avec l'eau distillée et le second est une extraction via soxhlet avec l'éthanol. Cela nous a permis de calculer le rendement d'extrait aqueux et éthanolique avec des valeurs de 16,81% et 55,81%, respectivement.

Les teneurs des polyphénols totaux, par la méthode de Singleton et Ross. Nous a orientées vers des taux très significatifs. La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans l'extrait éthanolique 2,17 mg GAE/g, cependant, l'extrait aqueux a enregistré un taux modéré de 0,34 mg GAE/g.

En parallèle, La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium qui donne une couleur jaune avec les flavonoïdes. Nous avons observé des valeurs pratiquement semblables pour les deux extraits avec des teneurs en flavonoïdes totaux de 0,68 mg CE/g pour l'extrait aqueux contre 0,62 mg CE/g pour l'extrait éthanolique.

L'analyse chromatographique par CCM, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) dans les deux extraits. Ces résultats là, renforcent l'hypothèse de leur richesse en composés phénoliques.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant par la capacité de piégeage de radical DPPH●, les résultats de pouvoir du piégeage du radical DPPH● des deux extraits aqueux et éthanolique est traduit par les valeurs d'IC₅₀ avec 30,93 mg/ml et 81,19 mg/ml, respectivement.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons dire que la *Daphne gnidium* L. est plante riche en polyphénols et les extraits donnent une bonne activité antioxydante soit une capacité de piégeage des radicaux libres.

En termes de perspective d'avenir, il est souhaitable d'étudier chaque extrait séparément puis isoler et identifier les différents composés qui existent.

Enfin, nous recommandons une culture des plantes médicinales et alimentaires pour permettre à la population d'avoir des médicaments et des denrées alimentaires moins chers et d'éviter la disparition de certaines espèces intéressantes.

Résumé :

L'Algérie, par sa position géographique, abrite une biodiversité exceptionnelle occupée par d'importantes plantes médicinales. *Daphne gnidium* L., est une plante médicinale utilisée dans la pharmacopée traditionnelle algérienne pour le traitement dans diverses maladies.

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique des extraits aqueux et éthanolique issus des feuilles de *Daphne gnidium* L. et l'évaluation, *in vitro*, de leurs activités antioxydante, en utilisant la méthode de l'oxydation du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Les résultats phytochimiques quantitatives montrent que plus particulièrement les feuilles constituent une source privilégiée de molécules biologiquement actives telles que les polyphénols et les flavonoïdes avec des teneurs qui atteignent jusqu'à 2.17 mg GAE/g pour le TPC et 0.68 mg CE/g pour le TFC.

L'évaluation du pouvoir antioxydant a montré que les différents extraits sont dotés d'un pouvoir antioxydant très important, notamment celui d'extrait aqueux avec un IC₅₀ de 30.93 mg/ml.

Cette étude confirme, scientifiquement, l'usage traditionnel de cette plante et révèle son intérêt dans le cadre d'une exploitation industrielle pharmaceutique.

Mots clés : *Daphne gnidium* L., TPC, TFC, CCM, activité antioxydante.

Abstract :

Algeria, by its geographical position, has an exceptional biodiversity occupied by important medicinal plants. *Daphne gnidium* L., is a medicinal plant used in traditional Algerian pharmacopoeia for the treatment of various diseases.

This work focused on phytochemical study of aqueous and ethanolic extracts from the leaves of *Daphne gnidium* L. and the evaluation, *in vitro*, of their antioxidant activities, using the method of the oxidation of 2,2- radical diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Quantitative phytochemical results show that more particularly the leaves constitute a privileged source of biologically active molecules such as polyphenols and flavonoids with contents reaching up to 2.17 mg GAE/g for TPC and 0.68 mg CE/g for TFC.

The evaluation of antioxidant activity has shown that the different extracts have very high antioxidant power, in particular that of aqueous extract with an IC₅₀ of 30.93 mg/ml.

This study confirms, scientifically, the traditional use of this plant and reveals its interest within the framework of a pharmaceutical industrial exploitation.

Keywords : *Daphne gnidium* L., TPC, TFC, CCM, antioxidant activity.