

Publique Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri De Tizi Ouzou



Faculté Des Sciences Biologiques Et Des Sciences Agronomiques
Département De Biochimie Et Microbiologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En Vue De L'obtention Du Diplôme De Master en Biologie
Option : Biochimie Appliquée

THEME

**Activité Antioxydante Et Anti-Inflammatoire Des
Extraits Bruts De Deux Plantes :
*Phlomis Bovei Et Verbascum Sinuatum.***



Proposé par :

Mr MOUALEK I.

Réalisé Par :

AMROUCHE Faiza
TALEB Samira

Soutenu le 05/10/2017 devant Le Jury :

Mme IRATNI G.

Maitre de conférence classe A

Présidente de jury

Mr MOUALEK I.

Maitre de conférence classe B

Encadreur

Mme BENAHMED DJILALI A.

Maitre de conférence classe B

Examinatrice

Mme BEN AZZOUZ K.

Maitre de assistante classe A

Examinatrice

2016/2017



Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions en premier lieu le bon Dieu de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Nous remercions infiniment notre promoteur Mr MOUALÉK Idir de nous avoir accordé l'honneur de diriger ce travail, de nous avoir orienté, conseillé, soutenu le long de son élaboration. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et gratitude.

Nous tenons également à exprimer nos remerciements, notre gratitude et notre très grande reconnaissance à Mme IRATNI Ghenima pour son aide si précieuse, ses orientations, sa disponibilité et son soutien bienveillant ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les membres du jury de nous avoir accordé l'honneur d'évaluer notre travail, et de l'enrichir.

Nos remerciements vont également à la technicienne du laboratoire LABAB.

A la fin nous remercions toute personne ayant contribué de prêt ou de loin dans l'élaboration et l'aboutissement de ce travail.



Dédicaces

Je tiens particulièrement à exprimer toute ma gratitude à ma famille dont le soutien a été essentiel tout au long de mes études, et tout particulièrement au cours de ce travail.

Vava, je suis fière d'avoir eu un père tel que toi à mes côtés tout au long de ces années. Tu m'as appris beaucoup de choses, et je te suis très reconnaissante pour ton amour, patience et soutien dont tu as fait preuve à mon égard en vue de ma réussite

Un énorme merci à Ma mère, qui m'a soutenue, rassurée et qui a su prendre sur elle dans les moments difficiles. Merci pour ton amour et pour tout ce que tu m'as apportée...

Merci Selma, tu nous as vraiment aidées et soutenu au cours de ce projet, depuis son début jusqu'à sa fin, tout ce qu'on dira de toi restera insuffisant. Que dieu te protège.

Je remercie mon mari Karim pour sa patience, et qui, en se tenant à mes côtés, me soutien dans tous mes projets.

Merci mes chères enfants, d'avoir illuminé ma vie, je vous dédie ce travail, et je prie le bon dieu qu'il vous éclaire de savoir.

Merci mon adorable frère Samir pour ton soutien et ton affection, tu as toujours été à mes côtés dans les moments difficiles. Je te souhaite plein de bonnes choses...

Merci mes sœurs Nadjima, Lynda et Selma pour votre amour, soutiens, patiences et aides à chaque moment de ma vie. Merci d'avoir toujours cru en moi. Je vous exprime ma profonde gratitude.

Un merci tout particulier à ma grande mère, mes oncles, mes tantes, ma belle famille et mes beaux-frères.

Je remercie infiniment Ghillesse pour son aide si précieuse dans l'aboutissement de ce projet.

Je remercie énormément mes amies et collègues : Souhila, Kahina, Fariza, Radia, Nadia, Lila, Djedjiga, Samira...etc.

Je terminerai en remerciant tous ceux que je n'ai pas cités mais qui sont présents. Merci à tous et à toutes.

Pensée particulière à ceux qui ne peuvent être là physiquement mais qui sont présents dans mon cœur ; vava l'Hadj, vava Amar, baba l'Mouloud, yema Zohra, da l'Hocine, na Ghalia, Mourad et khalti Wazna.

Je dédie ce travail à :

Mes chères parents, mon marie et mes enfants, mon frère, mes sœurs, ma grand-mère, mes oncles, mes tantes, mes beaux-frères, ma belle-famille, mes nièces et neveux, mes collègues et amies.

Les enseignants qui m'ont formé et conseillé.

FAIZA



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très valeureuse mère, qui m'a toujours encouragé et soutenu.

A mon cher papa, qui n'a jamais ménagé d'efforts et de sacrifices pour m'encourager et me soutenir.

À mes adorables frères Mohamed, Ahmed, Kouceila, Sidali

A ma chère sœur Saida et son mari Moussa et sa petite fille nadia

A mes jolies sœurs Ouerdia, Lydia et Katia

A chaque cousins et cousines

A mes meilleurs amis : Victor, Hocine, Youva, Rachid Hessas et Mokrane.

À toutes mes amies et à tous mes amis.

À l'ensemble des enseignants m'ayant formé et initié dans ce domaine.

Samira

Liste des abréviations

Liste de figure

Liste de tableaux

INTRODUCTION	1
Chapitre I Phlomis bovei	
1. Présentation de Phlomis bovei.....	2
1.1. Classification systématique.....	2
1.2. Description et répartition botanique.....	3
2. Usages traditionnels et effets biologiques	3
3. Composition phytochimique.....	4
Chapitre II Verbascum sinuatum.....	
1. Présentation de Verbascum	6
1.1. Classification systématique.....	6
1.2. Description et répartition botanique.....	6
2. Usage traditionnel.....	8
3. Activités biologiques reconnues	9
4. Composition phytochimique.....	9
Chapitre III Polyphénols et activités biologiques.....	
1. Généralités	11
2. Principales structures phénoliques.....	11
3. Classification des polyphénols	13
3.1. Les formes simples	13
3.1.1. Les non flavonoïdes.....	13
3.1.2. Les flavonoïdes	16
3.2. Formes condensés	18
3.2.1. Tanins	18
3.2.2. Lignines et lignanes.....	19
4. Biosynthèse des polyphénols.....	19
4.1. La voie de Shikimate	19
4.2. La voie de l'acétate malonate	19
5. Rôles et fonctions biologiques.....	19
5.1. Chez l'être humain	19
5.2. Chez les végétaux	20
6. Activité antioxydante.....	20
6.1. Piégeage des radicaux libres	21
6.2. Chélation des ions métalliques.....	22

6.3. Inhibition enzymatique.....	23
7. Activité anti inflammatoire.....	23
7.1. Définition de l'inflammation	23
7.2. Etiologies	23
7.3. Acteurs et déroulement de la réaction inflammatoire	24
7.4. Effet anti-inflammatoire des polyphénols :.....	25
8. Autres activités biologiques.....	26
8.1. Propriétés vasculo-protectrices et veinotoniques.....	26
8.2. Propriétés antiallergiques.....	26
8.3. Activité anti-ulcérogène.....	26
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériels et méthodes	28
1. Matériel.....	28
1.1. Matériel végétal	28
1.2. Appareillage	29
1.3. Solvants et réactifs	29
1.4. Standards.....	29
2. Méthodes :	29
2.1. Séchage du matériel végétal.....	29
2.2. Préparation des extraits bruts	30
2.2.1. Extraction aqueuse	30
2.2.2. Extraction éthanolique.....	30
2.3. Dosage des polyphénols totaux (PPT)	31
2.4. Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP).....	32
2.5. Évaluation de la capacité antioxydante totale (TAC)	33
2.6. Activité anti-inflammatoire.....	34
2.7. Traitement des résultats	35
Chapitre II : Résultats et discussion.....	
1. Phlomis bovei	36
1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)	36
2. Pouvoir réducteur ferrique (FRAP)	37
3. Capacité anti-oxydante totale (TAC).....	39
4. Activité anti-inflammatoire	40
2. Verbascum sinuatum	41
2.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)	41
2.2. Pouvoir réducteur ferrique (FRAP)	42
2.3. Capacité anti-oxydante totale (TAC)	43

2.4. Activité anti inflammatoire	45
3. Comparaison entre Verbascum sinuatum et Phlomis bovei	46
3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)	46
3.2. Pouvoir réducteur (FRAP)	46
3.3. Capacité antioxydante totale (TAC)	47
3.4. Activité anti inflammatoire	48
CONCLUSION ET PERSPECTIVES :	49
Références bibliographique.....	
Annexe	

AG	Acide gallique.
ANOVA	Analysis numerica opration variance
COX	Cyclo-oxygénase.
CP	Composé phénolique.
EAG	Equivalent d'acide gallique.
ES	Extrait sec.
FRAP	Pouvoir réducteur ferrique.
LABAB	Laboratoire de recherche de biochimie analytique et biotechnologie.
pH	Potentiel d'Hydrogène.
PO	Phénoxy.
PPT	Composé phénolique.
SOD	Super oxyde dismutase.
TCA	Acide Trichloracétique.
TAC	Capacité antioxydante totale.
UV	Ultra-Violet.

Figure 1: Présentation des parties aériennes de <i>Phlomis bovei</i>	3
Figure 2 : Feuilles de <i>verbascum sinuatum</i> en rosette basale	7
Figure 3: Fleur de <i>Verbascum sinuatum</i>	8
Figure 4: Structure chimique du groupement phénolique	11
Figure 5: Structure chimique des principaux acides phénoliques ainsi que leurs quelques dérivés	14
Figure 6 : Squelette de base des coumarines	15
Figure 7 : structure chimique du resvératrol	16
Figure 8: Structure de base des flavonoïdes	16
Figure 9: Les principales classes des flavonoïdes	17
Figure 10: Structures chimiques des différentes classes de flavonoïdes.....	18
Figure 11: les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	21
Figure 12 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.....	22
Figure 13 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes	22
Figure 14: Déroulement de la réaction anti-inflammatoire	25
Figure 15: Schéma récapitulatif du Protocole expérimental adopté.	28
Figure 16: Schéma récapitulatif de l'extraction aqueuse et ethanolique.....	31
Figure 17: Schéma récapitulatif de protocole de dosage des polyphénols	32
Figure 18: Protocole récapitulatif du test de détermination du pouvoir réducteur (FRAP)....	33
Figure 19 : Protocole récapitulatif du test de détermination de la capacité antioxydante totale (TAC)	34
Figure 20 : Protocole récapitulatif du test de la dénaturation thermique des protéines.....	35
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	36
Figure 22 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des deux extraits bruts de	38
Figure 23: Capacité anti-oxydante totale de l'acide ascorbique et des deux extraits aqueux de phlomis 1 et phlomis 2.	39
Figure 24: Taux de protection de la dénaturation de l'albumine en présence de l'aspirine et des deux extraits aqueux de <i>Phlomis bovei</i>	40

Figure 25: Pouvoir réducteur des l'acide ascorbique et des deux extraits verbascum aqueux et verbascum éthanolique.	42
Figure 26: Capacité anti-oxydante totale de l'acide ascorbique et des deux extraits.....	43
Figure 27: Taux de protection contre la dénaturation thermique de l'albumine en présence de l'aspirine et des deux extraits de <i>Verbascum sinuatum</i>	44
Figure 28: Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits.....	45
Figure 29: Evaluation du pouvoir réducteur par la méthode de FRAP des différents extraits.	46
Figure 30: Evaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits.	47

Tableau I : Classification botanique de <i>Phlomis bovei</i>	2
Tableau II : Composés chimiques rencontrés dans l'espèce <i>Phlomis bovei</i>	4
Tableau III : Classification systématique	6
Tableau IV : Composés et structures chimiques rencontrés dans l'espèce <i>verbascum sinuatum</i>	9
Tableau V : les principales classes des polyphénols.	12
Tableau VI : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.	27
Tableau VII : Dosage des polyphénols totaux des extraits aqueux des deux parties de	37
Tableau VIII : Teneur des polyphénols totaux des extraits, aqueux et éthanolique, de <i>Verbascum sinuatum</i>	41

INTRODUCTION

De nombreuses études ont mis en évidence la présence dans le règne végétal de centaine de métabolites secondaires tel que les polyphénols qui correspondent à une très large gamme de structures chimiques et qui sont doués de plusieurs activités biologiques.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes qui constituent le couvert végétal, se trouve les deux espèces *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* qui sont utilisées en médecine traditionnelle sous diverses préparations comme cicatrisant contre les plaies et pour traiter plusieurs désordres organiques surtout les problèmes respiratoires tels que la toux. Ces nombreuses utilisations sont confortées par la richesse en plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques comme les polyphénols. C'est pourquoi, l'étude des activités biologiques de ces composés issus de ces deux plantes en vue de leurs applications à la santé humaine demeure une tâche intéressante et utile.

L'objectif principale de cette étude est d'évaluer les deux activités biologiques anti-oxydante et anti-inflammatoire des différentes fractions extraites des échantillons de ces deux plantes à savoir *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum*.

Dans ce contexte, notre travail se divise en deux parties, une partie revue bibliographique rappelant les caractéristiques botaniques des deux espèces *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* ainsi que quelques aspects portants sur les polyphénols retrouvés dans la nature à savoir leur biosynthèse, leur classification et leur propriétés chimiques. Pour ce qui est de la partie pratique dont nous décrivons la méthodologie suivie, les résultats obtenus ainsi que leur discussion et comparaison avec d'autres résultats publiés dans la littérature scientifique.

Afin de répondre à l'objectif principal de notre étude qui est l'évaluation de l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire pour les deux plantes, différents points critiques ont été traités:

- Etayer la méthode de préparation des différents extraits issus des échantillons des deux plantes;
- Déterminer le taux en polyphénols totaux (PPT) dans chacun des extraits;
- Evaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits bruts issus des deux espèces par la détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP) et la capacité antioxydant totale (TAC) ;
- Et enfin évaluer le pouvoir anti-inflammatoire par le test de protection de dénaturation thermique des protéines.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I

Phlomis bovei

1. Présentation de *Phlomis bovei*

Phlomis bovei est une espèce rare et endémique qui appartient au genre *Phlomis* et à la famille des Lamiaceae. Ce genre comprend plusieurs espèces dont plus de cent sont distribuées en Afrique et douze réparties en Asie et en Europe (KATAYOUN *et al*, 2004). Le nom *Phlomis* vient du grec «phlox» qui signifie flamme car les feuilles de ces plantes servaient à la fabrication de mèches de bougies. En Algérie, il existe 4 espèces endémiques: *Phlomis herba-venti*, *Phlomis bovei*, *Phlomis caballeroi* et *phlomiscrinita* (ALBALADEJO *et al*, 2005).

1.1. Classification systématique

La principale classification botanique de l'espèce *Phlomis bovei* est celle de CANTINO (1992), présentée dans le tableau I.

Tableau I : Classification botanique de *Phlomis bovei*.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Phlomis</i>
Espèce	<i>Phlomis bovei</i>

1.2. Description et répartition botanique

Phlomis bovei est plus connue sous le nom de «*Phlomis samia*» et en arabe sous celui de «khayatt el adjarah». Elle se rencontre principalement dans les côtes tempérées de l'Asie, de la Chine, et dans la région méditerranéenne. C'est une plante herbacée, généralement très velue, à feuilles persistantes, opposées simples et ridées. Chaque paire de feuilles forme un angle droit par rapport à la précédente. Les fleurs sont de couleur jaunes, roses, blanches, violacées ou pourprées et groupées en verticilles plus ou moins denses.

Elle est caractérisée par les critères suivants :

- Calice : Monophylle persistant, tubulé, oblongue, à cinq angles et cinq dents.

- Corolle : Monopétale, en tube étroit dans sa partie inférieure, partagée dans le reste en deux lèvres, dont la supérieure au-dessus velue est en forme de voûte , comprimée latéralement et plongée en avant, la lèvre inférieure est à trois lobes, dont celui du milieu est grand, arrondi, échancré, les latéraux sont petits et aigus.
- Etamines : Au nombre de quatre, dont deux plus longues et deux plus courtes, à filaments recourbés, cachés sous la lèvre supérieure.
- Pistil : composé de quatre ovaires avec un style filiforme, terminé par un stigmate bifide.
- Le fruit est formé de quatre akènes, inclus dans le calice persistant.

La figure1 représente les parties aériennes de *Phlomis bovei*.



Figure 1: Présentation des parties aériennes de *Phlomis bovei* (LIOLIOS *et al*, 2007).

2. Usages traditionnels et effets biologiques

La plante entière de *phlomis bovei* est utilisée dans la région méditerranéenne en médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire. Elle se caractérise par une diversité quantitative et qualitative dans sa composition en polyphénols ce qui donne à la plante un potentiel antioxydant majeur. En Algérie elle est utilisée en tant que colle cicatrisante pour traiter brulures, lésions, infections de peau et allergies (LIOLIOS *et al*, 2007).

En Turquie, cette plante est utilisée comme stimulant, tonifiant, remède contre les désordres gastriques (douleurs d'estomac et ulcères peptiques) et comme cicatrisant (YESILADA *et al*, 2002). En Chine, elle est utilisée pour calmer les douleurs.

Au Tibet, les racines de *phlomis bovei* sont utilisées pour traiter les rhumes et les fièvres.

Les propriétés curatives de cette espèce, sont aussi appréciées en Inde où elle est en particulier utilisée comme Insecticide.

Un certain nombre d'espèces du genre *Phlomis* sont utilisées comme stimulants, toniques, antalgiques, antidiabétiques, antipyrétiques, antidiarrhéiques, antiallergiques, antiulcéreux et anti-hémorroïdaires. Quelques études pharmacologiques et biologiques ont été réalisées sur le genre *Phlomis* dont certaines ont montré, en plus des activités anti-inflammatoires et antioxydantes ; des activités anti-nociceptives, immunosuppressives, antimutagènes et antimicrobiennes (AMIN ABEDINI., 2014).

3. Composition phytochimique

Une des propriétés typiques du genre *Phlomis* est sa richesse en différentes classes de composés naturels, 151 composés ont été isolés jusqu'à présent. On y trouve :

-Les diterpènes

Jusqu'à présent douze diterpènes ont été cités dans le genre *Phlomis* dont huit labdanes, deux diterpènes glycosylés, un kaurane et un pimarane (LI *et al*, 2010).

- Les flavonoides

Plus de quarante flavonoides ont été identifiés dans le genre *Phlomis* (KABOUCHE *et al*, 2005). La majorité des flavonoides identifiés dans ce genre sont de type flavones, flavonols et leurs dérivés : 7- ou 3-*O*-glycosyles. Les composés les plus isolés sont la luteolin-7-*O*- β -glucopyranoside, le chrysoeriol-7-*p*-coumarylglucoside et chrysoeriol-7-*O*-glucoside. On peut trouver aussi des flavones C-glycoside comme la vicienine-2 et les flavanones comme la naringenine et l'eriodictyol.

On rencontre aussi de nombreux autres métabolites secondaires tels que: glycoside acétophénone, acridone alcaloïde, l'alcool aliphatique glycoside, alcool benzylique glycoside, acide caféique esters, lignane, glucoside megastigmane, glycosides monoterpène, glucoside néolignane, les phenylpropanoïdes et les phenylethanoïdes ; ces deux dernier composés, ont un caractère taxonomique important dans le genre *Phlomis* (ZHANG *et* WANG., 2008).

Le tableau II nous donne un récapitulatif des différents composés secondaires rencontrés dans l'espèce *Phlomis bovei*

Tableau II: Composés chimiques rencontrés dans l'espèce *Phlomis bovei* (ILEF LIMEM-BEN AMOR *et al*, 2009).

Groupes chimiques	Composés polyphénoliques
Flavonoides :	-chrysoeriol 7-O-(3''-(<i>E</i> et <i>Z</i>)-<i>p</i>-coumaroyl)-β-glucopyranoside. -l'apigénine-7-O-glucoside. - apigénine-7-O-[6''-<i>E</i>-<i>p</i>-O-coumaryl]-D-glucopyranoside. (3''-<i>p</i>-coumaryl) glucopyranoside. - hispiduline -7-O-glucuronide. - apigénine-7-O-(6''-(5'''-methoxy-coumaryl)-glucoside
Phenylethanoid Glycosides:	- Acteoside -Samioside (1-O-3,4-(dihydroxyphenyl) ethyl β-D-apiofuranosyl-(1$\rightarrow$4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1$\rightarrow$3)-4-O-caffeoyl-β-D-glucopyranoside)

Chapitre II

Verbascum sinuatum

1. Présentation de Verbascum

Verbascum est le plus grand genre de la famille des Scrophulariacées, avec environ 2500 espèces dans le monde entier (TATLI I. *et al*, 2004). Le genre *Verbascum*, communément appelé molène, Comprend environ 360 espèces à fleurs (MIHAILAVIC Vladimir *et al*, 2016).

Selon les grecs, le *Verbascum* comprend deux espèces : Le *Verbascum* blanc (*Verbascum Thapsus*) et le *Verbascum* noire (*Verbascum Sinuatum*) (DUBOCHET., 1850 ; FERDINAND Hoefer., 1867).

1.1. Classification systématique

La principale classification botanique de l'espèce *Verbascum sinuatum* et celle de KERGUÉLIEN (1999), présentée dans le tableau III (VELA Errol *et al*, 2001).

Tableau III : Classification systématique

Super-Embranchement	Spermatophytes
Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotyledones
Sous-classe	Asteridées
Ordre	Lamiales
Famille	Scrophulariacées
Tribu	Verbascées
Genre	<i>Verbascum</i>
Espèce	<i>Verbascum sinuatum</i>

1.1. Description et répartition botanique

Verbascum sinuatum, plus connue sous le nom de « Molène sinuée », en arabe sous celui de « Ouden el hmar, Mouçaleh el andar » et en kabyle sous le nom de « Thisisra, Thisraou ». (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

Le nom *Verbascum* vient du mot *barbascum*, qui signifie barbu ; et *sinuatum* décrit les feuilles de la rosette qui sont dentées et ondulées.

Verbascum sinuatum est une plante bisannuelle tomenteuse et par ailleurs facilement hybridable (RAVEN *et al*, 2017). Elle se rencontre particulièrement dans la région

méditerranéenne et les terrains chauds, secs et bien exposés au soleil (DUBOCHET., 1850 ; GUY Nesom., 2012).

Elle est caractérisée par les critères botaniques suivants :

- C'est une plante herbacée de 50 cm à 1 mètre, à grande tige robuste cylindrique d'environ 10 mm de diamètre, avec de nombreuses ramifications ascendantes
- Les feuilles sont disposées en rosette basale ou alternées (figure 2), verdâtres, couvertes de poils étoilés. Les feuilles basales sont oblongues, sinuées, à bords lobés et ondulés, de 20 à 40 cm de longueur de 7 à 10 cm de largeur ; celles alternées sont caulinaires oblongues, légèrement crénelées sessiles, embarrassantes et décurrentes, de 5 à 9 cm de longueur de 2 à 4 cm de largeur avec un pétiole de 5 à 25 mm de longueur (ANTOINE Pierre et BAPTISTE Jean., 1805 ; FIRMIN DIDOT. et FRERES., 1852 ; FERDINAND., 1867 ; ASSELIN., 1872 ; GUY Nesom., 2012).

La figure 2 nous illustre les feuilles de *verbascum sinuatum* en rosette basale.



Figure 2 : Feuilles de *verbascum sinuatum* en rosette basale (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

- Les Fleurs planes pentamériques ; gamopétales, velus à l'extérieur, soudés à la base ; asymétrie actinomorphe radiaire qui est une caractéristique rare chez les Scrophulariacées, jaune vif, assez petites de 15 à 30 mm de diamètre, réunies par 2 à 5 en plusieurs petits bouquets, espacés (figure 3) ; la floraison se fait de juin à septembre (GUY Nesom., 2012).

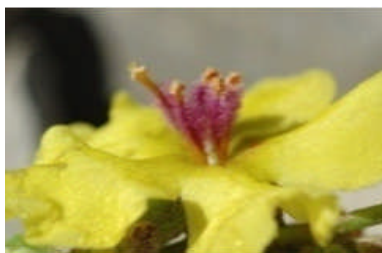


Figure 3 : Fleur de *Verbascum sinuatum* (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).

- Cinq étamines à filet orange velu, poils des filets violets. Les anthères sont toutes insérées transversalement à l'extrémité du file (GUY Nesom., 2012).
- L'ovaire est supère à deux loges avec un style solitaire donnant naissance à un fruit de type capsule à déhiscence septicide (SERVAIS Pascal et SEBA Pierre., 2017).
- Calice persistant de 3 à 5 mm, pentamérique à poils étoilées; gamosépale à la base avec cinq lobes imbriqués (GUY Nesom., 2012).

2. Usage traditionnel

Les espèces appartenant au genre *Verbascum* sont très utilisées en phytothérapie (POLETTI., 1988).

Les infusions des feuilles et des fleurs de différentes espèces du genre *Verbascum* sont encore utilisées pour leurs propriétés expectorantes et démultipliées pour traiter les problèmes respiratoires tels que la toux irritante (SENATORE Felice et al, 2007).. Une étude ethnobotanique faite au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou a montré que les feuilles basales de *Verbascum sinuatum* sont utilisées en usage externe pour soulager les douleurs rhumatismales et sciatiques (MEDDOUR R., 2009).

Les fleurs servent à apaiser le mal de l'oreille ; appliquées à l'extérieur pour l'eczéma et d'autres types de maladies de la peau et même consommées comme thé pour soulager les douleurs abdominales (TATLI. et AKDERMIR., 2006). Celles de l'espèce *Verbascum sinuatum* ont été utilisées contre les maladies oculaires (BOUKEF., 1986).

Le bouillon des racines de *Verbascum* s'avère très bénéfique contre les problèmes de foie (WIHELMINA et al, 1999).

3. Activités biologiques reconnues

Plusieurs activités biologiques ont été déterminées à partir d'extraits issus de différentes espèces du genre *Verbascum*, à savoir les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antivirales, antimicrobiennes, antitumorales, immunomodulatrices,

antiulcéreuses et antigéminatrices; et ceci grâce aux composés biologiquement actifs que renferment ces extraits, tels que les flavonoïdes, les glycosides phénylétaniques, les néolignanes, les saponines, les glycosides iridoïdes et monoterpéniques (TATLI. et AKDERMIR., 2006).

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Verbascum sinuatum* a été mise en évidence par l'étude de Senatore et collaborateurs. Cet extrait est composé de cinq principes actifs ayant pour noms : verbascoside, sinuatol, ajugol, luteoline 7-O- β -D-glucoside et aucubine.

L'activité allelopathique a été également retenue dans l'étude de Senatore et collaborateurs en 2007 ; et ceci après avoir analysé l'extrait méthanolique sur le radis ; cette activité inhibitrice a été attribuée au composé verbascoside (FRANCHET., 1868 ; SENATORE Felice *et al*, 2007 ; GEORGIEV Milen *et al*, 2011 ; BAJAJ., 2012).

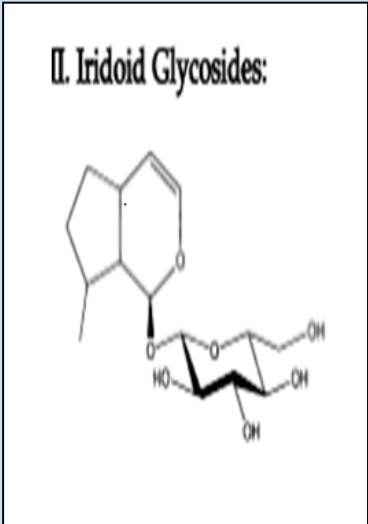
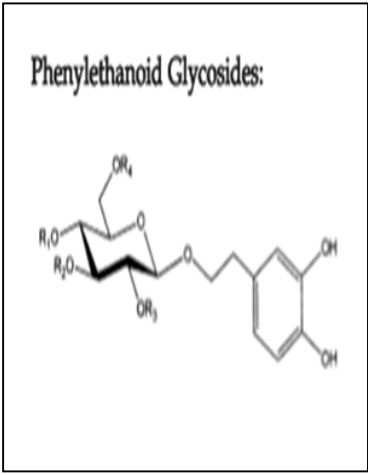
4. Composition phytochimique

Il est connu que les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires constitués de protéines, glucides et lipides. Ces composés, appartiennent à des groupes chimiques variés (Alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...etc) (MACHEIX *et al*, 2005). Bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants.

Les espèces du genre *Verbascum* renferment huit principaux groupes phytochimiques, tels que les saponines, les iridoïdes, les glucosides monoterpéniques, les glucosides, les flavonoïdes, les stéroïdes, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les acides gras et autres. Il ressort des études faites sur ces espèces que les principaux métabolites secondaires sont constitués de saponosides et d'iridoïdes.

Le tableau IV nous donne un récapitulatif des différents composés secondaires rencontrés dans le genre *Verbascum* ainsi que l'espèce *Verbascum sinuatum* (DUBOCHET., 1850).

Tableau IV : Composés et structures chimiques rencontrés dans l'espèce *verbascum sinuatum*. (TATLI Irem. et AKDERMIR Zeliha., 2004).

Groupes chimiques	Structure chimique générale	Composés polyphénoliques de l'espèce <i>Verbascum sinuatum</i>
Iridoïdes: Les espèces du genre <i>Verbascum</i> contiennent surtout des iridoïdes type aucubine et catalpol	 II. Iridoid Glycosides:	-Aucubin -6-O-β-D-glucopyranosyl aucubin - Sinuatol -6-O-β-D-xylopyranosyl aucubin -6-O-α-L-sinuosyl aucubin -Sinuoside -Aucuboside - Catalpol - 6-O-(3''O p -coumaroyl)-α-L rhamnopyranosylcatalpol - Pulverulentoside I - Harpagide - Harpagoside
Phenylethanoid Glycosides: sont des composés polyphénoliques naturels, structurellement, ils sont caractérisés comme des glycosides de phénylétanol, estérifiés de dérivés de l'acide cinnamiques, caféique et férulique.	 Phenylethanoid Glycosides:	-Verbascoside(Acteoside). -Poliumoside.

Chapitre III

Polyphénols et activités biologiques

1. Généralités

Largement répandues dans le règne végétal, les polyphénols ou composés phénoliques (CP), sont des molécules présentes dans toutes les parties de la plante. Ils sont qualifiés de métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante, comme la croissance ou la reproduction, ils ne sont donc pas strictement indispensables à la vie du végétal. Cependant ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème.

Leur répartition qualitative et quantitative varie selon les espèces, les organes de la plante et les différents stades physiologiques (ROBARDS K. *et al*, 1999). Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques (BRUNETON., 1999) dont plus de 8000 ont été identifiées (WAKSMUNDZKA-HAJNOS. et SHERMA., 2011) allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (VISIOLI., 2000) Ils sont donc un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes et offrent à l'homme la possibilité de les exploiter dans plusieurs domaines comme l'agroalimentaire, la cosmétique et pharmaceutique (DICKO *et al*, 2006).

2. Principales structures phénoliques

L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un groupement phénolique (figure 04), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (BRUNETON., 1999). Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines et tanins (CHEYNIER., 2005).

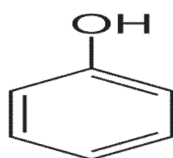


Figure 04: Structure chimique du groupement phénolique (CHEYNIER., 2005).

Les polyphénols sont répartis en différentes classes définies d'abord en fonction de la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres

molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des CP)(CROZIER., 2008).

Le tableau V regroupe les principales classes des polyphénols :

Tableau V : les principales classes des polyphénols. (MACHEIX., 2005 ; MANACH., 2004)

Squelette carboné		Classe	Principaux composés	Source principale
C6		Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces dont <i>Verbascum sinuatum</i>
Acides phénoliques	C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -hydroxybenzoïque acide gallique	Epices, fraises, feuilles de thé.
	C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique (acidechlorogénique), acide férulique	Pomme de terre, pomme, café, artichaut, carotte, blé, riz.
		Coumarines	Scopolétine	Citrus.
C6-C2-C6		Stilbènes	Resvératrol	Vigne (raisin), vin, soja, arachides (Chanforan.,2010)
C6-C3-C6		Flavonoïdes - Flavonols	Kamphérols, quercétine	Oignon, brocoli.
		- Flavones	Apigénine, luéoline	Persil, céleri, olive, poivron rouge.
		- Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs et fruits rouges, aubergines, raisin.
		- Flavanols	Catéchine, épictéchine	Pomme, raisin, abricot, chocolat, thé vert.

	- Flavanones	Naringénine	Citrus (agrumes).
	- Isoflavonols	Daidzéine, génistéine	Soja et produits dérivés.
	- Chalcones		Pomme.
(C6-C3) n	Lignines	Lignane(C6-C3-C3-C6)	Bois, noyau de fruits, pin.
(C15) n	Tanins	Polyphénols de haut poids moléculaire.	Raisin rouge, kaki, thé.

3. Classification des polyphénols

3.1. Les formes simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 (HABAUZIT. et HORCAJADA., 2008).

3.1.1. Les non flavonoïdes

a. Acides phénoliques

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques, représentés dans la figure 5 (LAFAY. et GIL-IZQUIERDO., 2008).

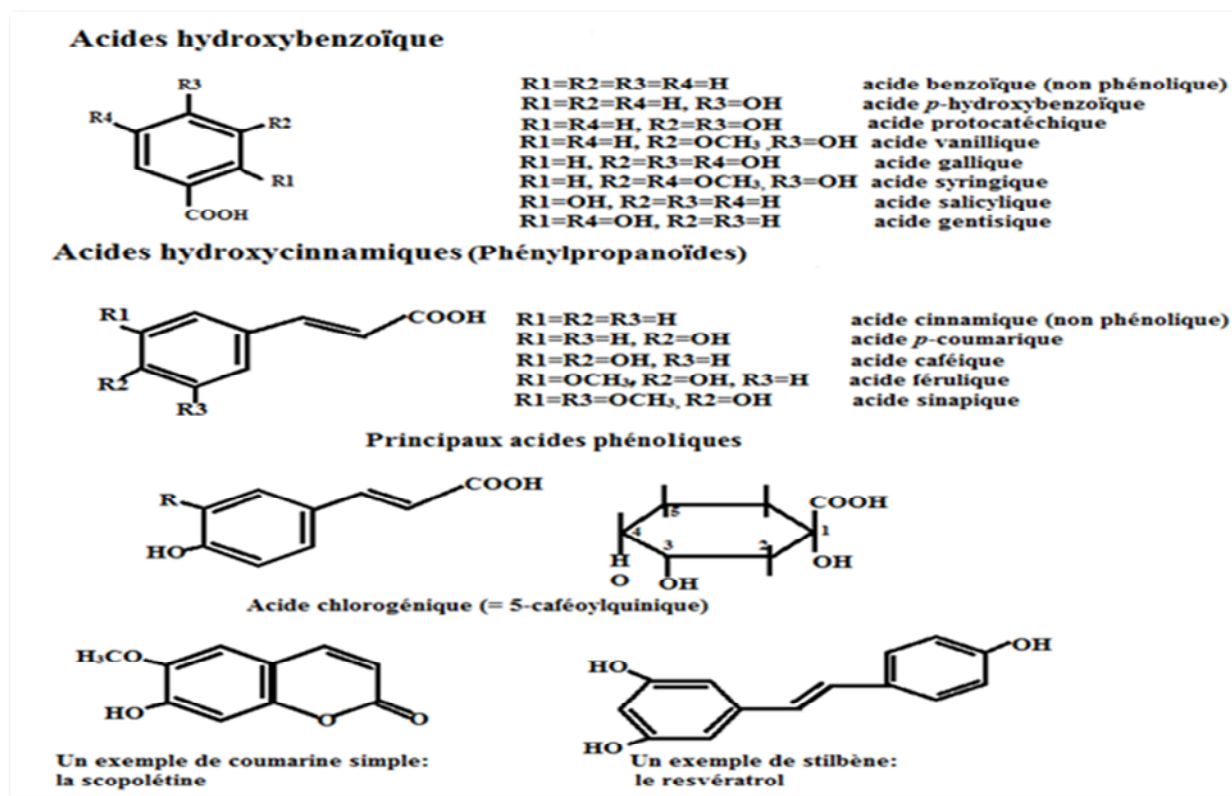


Figure 05: Structure chimique des principaux acides phénoliques ainsi que leurs quelques dérivés (ROHR. *et al*, 1999).

- Les Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

Ils dérivent de l'acide benzoïque et ont une formule de base simple de type C6-C1. Ils se retrouvent le plus souvent sous forme d'esters ou de glycosides (hétérosides) mais ils peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins (CHANFORAN., 2010).

- Acide hydroxycinnamique et dérivés

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. L'ensemble est souvent rapporté sous le vocable commun de « phénylpropanoïdes ». Ces acides sont retrouvés dans toutes les parties des fruits et des légumes. (FROEHLICHER *et al*, 2009 ; BARROS *et al*, 2011 ; BARROS *et al*, 2012).

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale suivie de modifications complémentaires.

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (figure 06). Ce sont des polyphénols cyclisés qui ont été isolés pour la

première fois par VOGEL en 1820 dans le *Coumarounaodorata*. Leur voie de biosynthèse peut varier d'une espèce à l'autre.

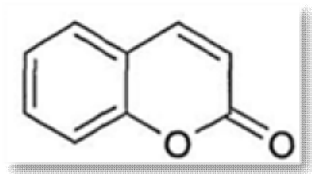


Figure 06 : Squelette de base des coumarines (BAHORUN., 1994).

Les coumarines sont considérées comme des phytoalexines, produits par les plantes en réponse à l'attaque par des micro-organismes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (HOFMANN., 2003). Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance. Elles constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché.

A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien.

b. Les Stilbènes

Les membres de cette famille présentent une structure en C6-C2-C6 dont les deux noyaux aromatiques sont reliés par une double liaison formant un système conjugué. Ce sont des phytoalexines qui se trouvent en petite quantité dans l'alimentation humaine (CASSIDY., 2000). Ils sont synthétisés à partir de dérivés d'acides cinnamiques (figure 5) et présents dans la plante sous forme de monomères, dimères, trimères ou polymères. Leur solubilité est négligeable dans l'eau et accrue dans la plupart des solvants organiques (Jean-Denis., 2005). La molécule la plus courante et la plus étudiée est le resvératrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbène) (figure 7) qui possède de nombreuses propriétés biologiques (GRESELE., 2011) ; cependant son pouvoir anticancéreux a suscité un grand intérêt (DEMELIN., 2012).

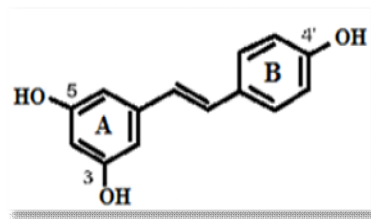


Figure 7 : structure chimique du resvératrol (JEAN-DENIS., 2005).

3.1.2. Les flavonoïdes

Le groupe de flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, il comprend à lui seul plus de 6000 composés regroupés en plusieurs sous-classes (MACHEIX., 2005), largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines, ou encore les racines des plantes) (FIORUCCI., 2006), c'est donc le groupe le plus représentatif des polyphénols. Presque toujours hydrosolubles et d'origine biosynthétique commune possédant le même élément structural de base en C6-C3-C6, constituée de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C (figure 8). Ce sont des pigments universels des végétaux responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes de la plante (des fleurs, des fruits et parfois des feuilles) (TAPAS et al, 2008 ; GHEDIRA., 2005).

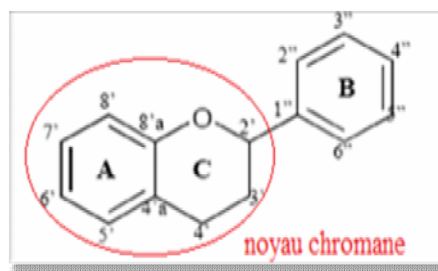


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (ANDERSEN. et MARKHAM., 2005).

Les principales classes de flavonoïdes sont : les flavones, isoflavones, flavonols, flavanones, flavanols, proanthocyanidines et anthocyanes (D'ARCHIVIO., 2007). Alors que des composés comme les chalcones et dihydrochalcones constituent la fraction minoritaire (Figure 9).

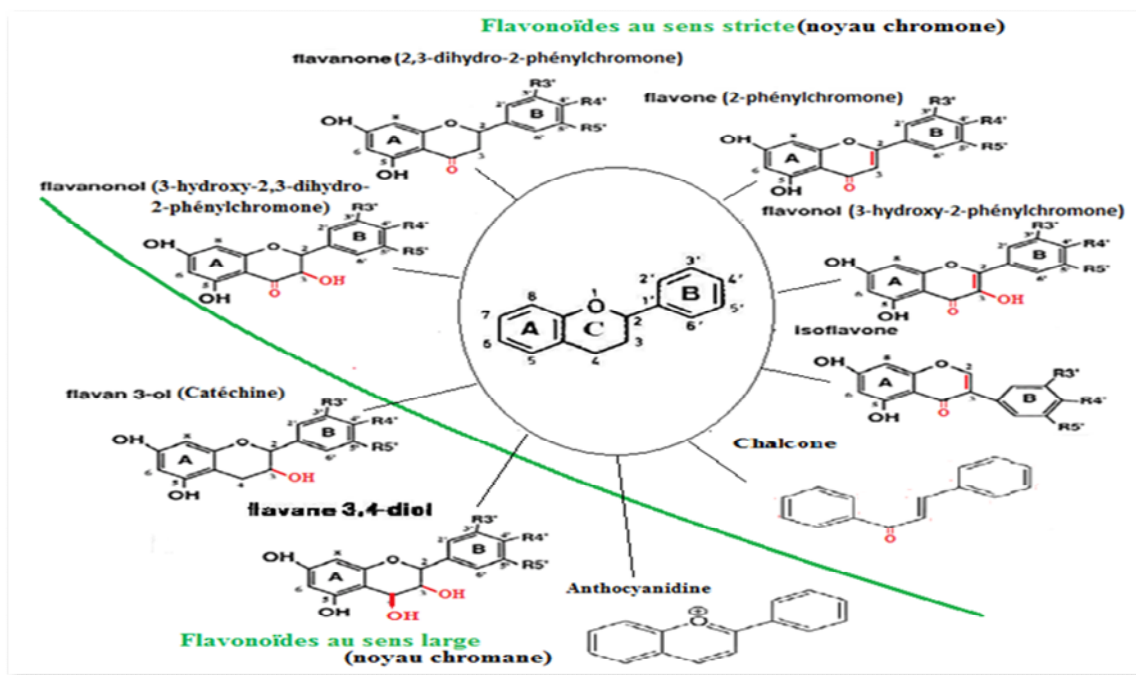


Figure 9 : Les principales classes des flavonoïdes (FIORUCCI., 2007).

On les classe en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central. On les distingue aussi par le nombre et la position des groupements hydroxyles, par l'existence ou non de substituants sur la génine (MARFAK., 2003). Les flavonoïdes peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central et sa liaison au noyau B dans les positions 2 ou 3 (figure 10) :

- En position 2 : le flavonoïde est appelé flavane.
- En position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme isoflavane.
- Si la position 4 du flavane porte un groupement carbonyle, la molécule est appelée flavanone.
- Si la liaison C2-C3 dans le squelette flavanone est plus insaturée, le composé est nommé flavone.
- Si le squelette précédent est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le nom de flavonol (ROMBI. et ROBERT., 2009).

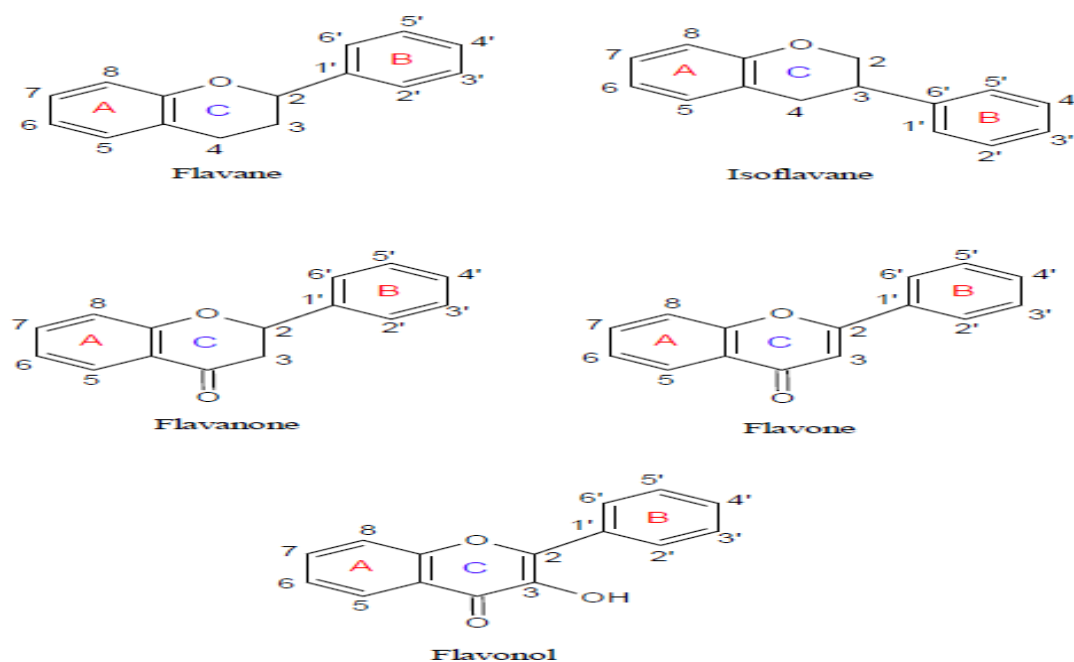


Figure 10 : Structures chimiques des différentes classes de flavonoïdes.

D'un point de vue physiologique, les flavonoïdes ont en général une action au niveau des capillaires et des petites veines. Cet effet se traduit par la diminution de la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcement de leur résistance (NIKOLOV., 1981). Ils représentent par ailleurs une source importante d'antioxydants dans notre alimentation.

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones de croissance végétales. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (BOUAKAZ., 2006).

3.2. Formes condensés

3.2.1. Tanins

Cette classe désigne un groupe de substances phénoliques polymériques. Ce sont des molécules fortement hydroxylées ayant en commun, outre les propriétés habituelles des polyphénols, la propriété de se combiner aux alcaloïdes et aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant.

Les tanins sont caractérisés par une saveur astringente et sont très répandus dans le règne végétal et peuvent exister dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (CHEYNIER., 2005).

3.2.2. Lignines et lignanes

Les lignines sont des polymères fortement ramifiés, localisés dans les parois cellulaires et plus spécialement dans les parois secondaires des éléments conducteurs et constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal, contribuant à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées (CASSIDY *et al*, 2000).

4. Biosynthèse des polyphénols

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 malonate (CHIRA *et al*, 2008).

4.1. La voie de Shikimate

C'est la voie de biosynthèse principale des composés aromatiques, dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaire) tel que les flavonoïdes, les acide phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes...etc (BRUNETON., 2009).

4.2. La voie de l'acétate malonate

Ce mode de synthèse consiste en la cyclisation des chaînes polycétonique, elles-mêmes obtenus par condensation de groupement acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonylCoA. Chez les flavonoïdes, le cycle latéral (A) provient de l'enchaînement de 3 acétyl-COA (MERGHEM, 2009).

5. Rôles et fonctions biologiques

Les recherches récentes sur les polyphénols sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés et effets bénéfiques sur la santé humaine ou chez les végétaux.

5.1. Chez l'être humain

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et

l'hypertension. Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies (MARTIN. et ANDRIANTSITOHAINA., 2002).

La recherche scientifique a permis de vérifier un nombre important d'activités biologiques pour les polyphénols comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antivirale, antibactérienne, antiallergique, antiathérogène, antithrombotique, cardioprotectrice et vasodilatatrice (FALLEH. et *al*, 2008)

Leurs propriétés sont liées au fait qu'ils peuvent moduler l'activité de nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, l'adénylate cyclase, les ATPases, les cyclo-oxygénases (COX), le cytochrome P450) et agir sur différents types cellulaires (MARTIN. et ANDRIANTSITOHAINA., 2002).

5.2. Chez les végétaux

Les polyphénols sont des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (EDEAS., 2007).

Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, le stress oxydatif et les attaques microbiennes.

Ils sont impliqués aussi dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits (BOIZOT. et CHARPENTIER., 2006).

6. Activité antioxydante

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats par les espèces réactives.

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances (figure11), comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques (superoxyde dismutase, catalase et la glutathion peroxydase) et des petites molécules hydrosolubles ou liposolubles (vit E, vit C, oligoéléments et les polyphénols) (DROGE., 2002).

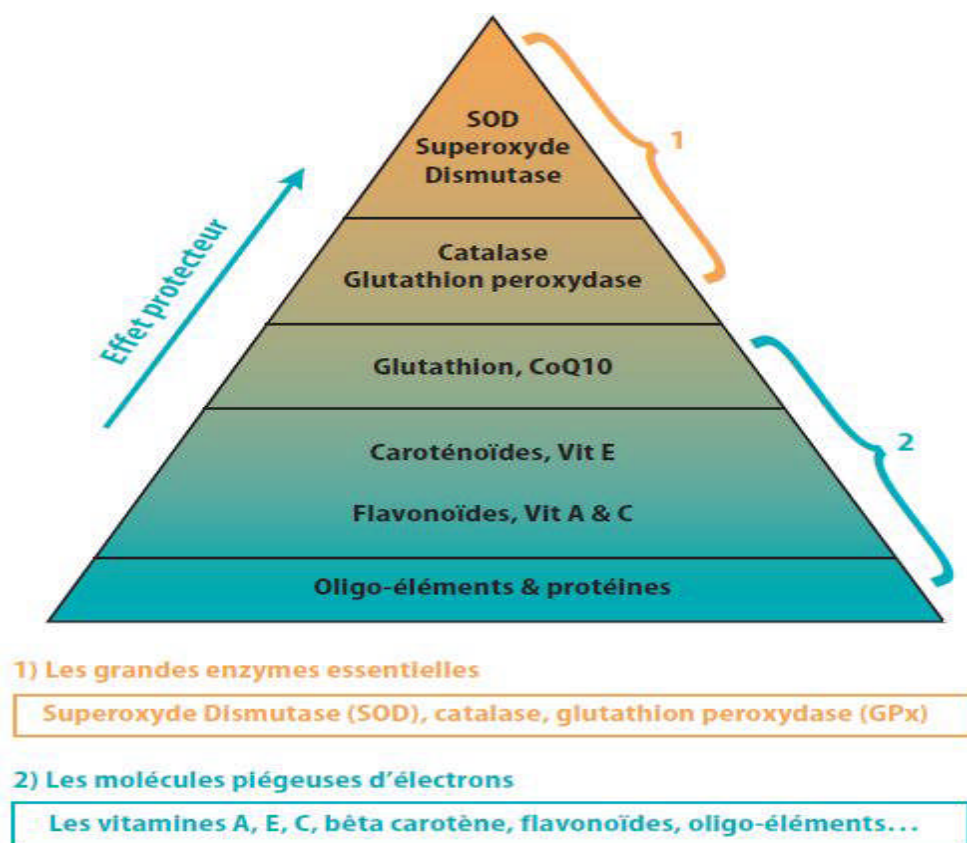


Figure 11: les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (MENVIELLE-BOURG., 2005).

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action en piégeurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques et inhibiteurs enzymatiques.

6.1. Piégeage des radicaux libres

Les polyphénols ont des propriétés antioxydantes en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, le processus est radicalaire. Ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon un mécanisme proposé par SHERWIN en 1976: l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène transférant ainsi son électron suivi de son proton produisant un composé réduit et un radical intermédiaire (figure12), ce dernier est stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (SÖKMEN., 2012).

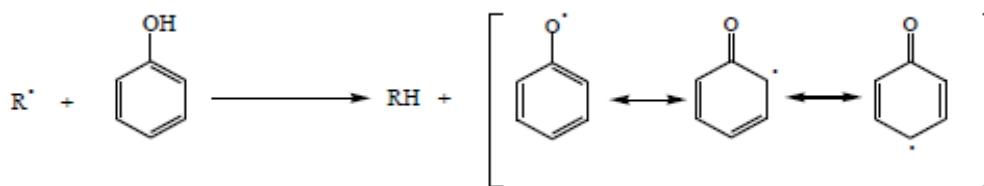


Figure 12 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.

Les radicaux intermédiaires phénoxy ($\text{PO}\bullet$) sont relativement stables en raison de la résonance et donc une nouvelle réaction en chaîne n'est pas facile à initier (DAI. et MUMPER., 2010). Par ailleurs, ils peuvent agir avec d'autres radicaux libres selon la réaction:



Les polyphénols possèdent une structure chimique idéale pour le piégeage des radicaux libres, parce qu'ils possèdent:

- Des groupes phénoliques hydroxyles qui sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre.
- Un système aromatique stabilisé par la résonance (DAI. et MUMPER., 2010).

Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piégeurs des radicaux libres (FRAGA C.G., 2007). Cette aptitude est due à la présence des groupements 3',4'-dihydroxy sur le noyau aromatique B et leur tendance à céder très facilement un électron.

En outre, la présence du 3-OH du cycle C est également bénéfique pour l'activité antioxydante des flavonoïdes. La présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le groupe 4-céto est responsable de la délocalisation des électrons du noyau B (figure13), ce qui améliore encore plus l'activité antiradicalaire (AMIC., 2003).

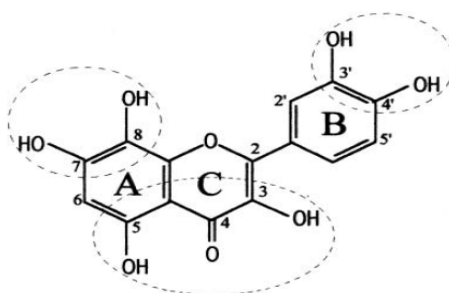


Figure 13 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes (Amic., 2003).

6.2. Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques indispensables à un grand nombre de processus biochimiques et physiologiques, peuvent induire la production des radicaux hydroxyles par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon les réactions de Fenton et Haber Weiss et qui sont impliqués dans l'oxydation des biomolécules cellulaires comme l'ADN, les lipides et les protéines (TIWARI., 2001).



Les polyphénols considérés comme de bons chélateurs ont la capacité de freiner la production des espèces réactives de l'oxygène et ceci par la chélation de ces ions métalliques. La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux :

- Noyau catéchol sur le cycle B
- Les groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C
- Le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (HEIM., 2002)

6.2. Inhibition enzymatique

En raison de la présence de multiples fonctions phénoliques, les polyphénols interagissent avec les protéines en formant des complexes protéines-polyphénols, qui ont une forte tendance à la précipitation.

Les enzymes impliquées dans la génération des espèces réactives sont de nature protéique et n'échappent pas à cette complexation par les polyphénols, celle-ci s'effectue comme pour tous les autres composés protéiques par l'intermédiaire de liaisons covalentes (CHEBIL., 2006).

7. Activité anti inflammatoire

7.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend :

- Des phénomènes généraux, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement par la fièvre et éventuellement une altération de l'état général ;
- Des phénomènes locaux : L'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé.

Elle est un processus habituellement bénéfique, dont le but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (GALANAUD., 1997).

7.2. Etiologies

Les causes de la réaction inflammatoire sont multiples et aboutissent à des lésions cellulaires et tissulaires irréversibles. Parmi ces causes nous pouvons citer :

- Infection : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons) ;
- Agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations ;
- Agents chimiques : caustiques, toxines, venins ;
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes modifiés;
- Défaut de vascularisation : réaction inflammatoire secondaire à une nécrose par ischémie (HOFFMANN., 1999).

7.3. Acteurs et déroulement de la réaction inflammatoire

L'inflammation fait intervenir des cellules, des vaisseaux, des modifications de la matrice extracellulaire et de nombreux médiateurs chimiques qui peuvent être pro ou anti-inflammatoires et qui peuvent modifier ou entretenir la réponse inflammatoire (voir figure 14).

Quelque soit son siège, et la nature de l'agent pathogène, le déroulement d'une réaction inflammatoire présente des caractères morphologiques généraux et des mécanismes communs. Néanmoins, les différentes étapes présentent des variations liées à la nature de l'agent pathogène, à l'organe où se déroule la réaction inflammatoire, au terrain physiologique de l'hôte. Tous ces éléments conditionnent l'intensité, la durée de la réaction inflammatoire et l'aspect lésionnel.

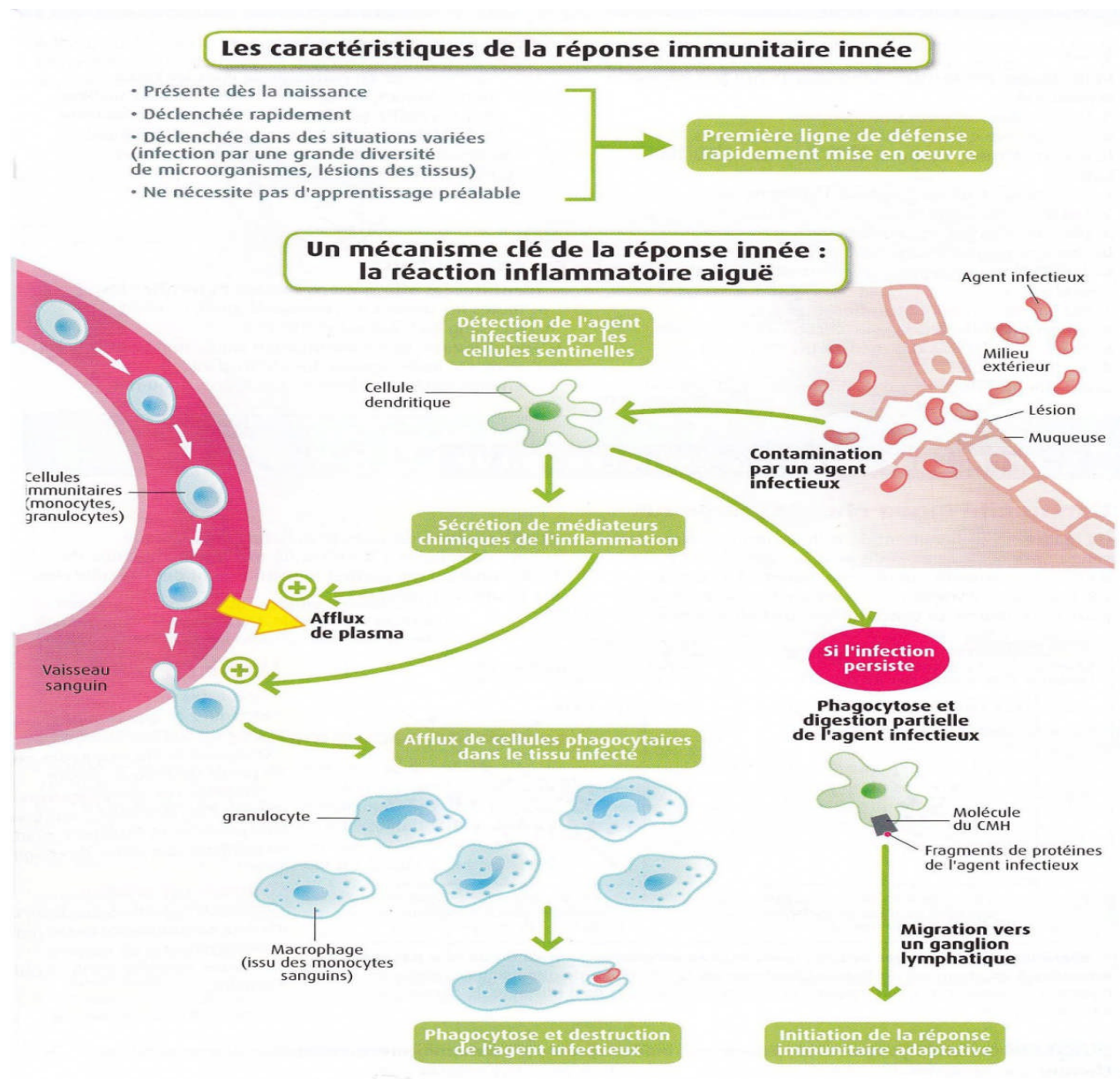


Figure 14 : Déroulement de la réaction anti-inflammatoire (BREEDVELD., 2000).

7.4. Effet anti-inflammatoire des polyphénols :

Sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires.

De nombreuses études indiquent que les polyphénols possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes impliquées dans le processus inflammatoire. Ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation

athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (GONZALEZ-GALLEGO et *al*, 2007). Certains composés phénoliques sont capables d'inhiber l'histamine (KIM et *al*, 2004), d'autres, sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire et d'autres possèdent une activité inhibitrice de la cyclooxygénase COX (TAPAS et *al*, 2008).

8. Autres activités biologiques

8.1. Propriétés vasculo-protectrices et veinotoniques

Dans les cas pathologiques caractérisés par un défaut de la perméabilité vasculaire, les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins en diminuant leur perméabilité et en renforçant leur résistance, ce qui permet de maintenir une perméabilité vasculaire normale (BRUNETON., 2009).

8.2. Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (BRUNETON., 2009).

8.3. Activité anti-ulcérogène

Les flavonoïdes exercent une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat. En effet, ils inhibent la croissance d'*Helicobacter pylorii* (très résistant aux antibiotiques). Le tableau VI récapitule les effets biologiques des polyphénols rapportés par la littérature.

Tableau VI : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.

Composés phénoliques	Activité biologique
Acides phénols	Antioxydante, antifongique, antibactérienne (ROBERTIS., 1989).
Tanins	Antioxydante, antidiarrhéique, antiseptique, vasoconstricteur et effet stabilisant sur le collagène (DADI P K. ,2009).
Flavonoïdes	Vitaminique P, Antioxydante, anti-inflammatoire, antiallergique, antitumorale, anticarcinogène, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne et effet hypotenseur et diurétique (LINK <i>et al</i> , ,2010).
Coumarines	Antioxydante, anticoagulante, protectrice vasculaire et antioédémateuse (AKROUM ., 2011).
Anthocyanes	Antioxydante et protectrice capillaro-veineuse (BRUNETON., 2009).
Proanthocyanidines	Antioxydante, anti-inflammatoire, antitumorale, antifongique et effet stabilisant sur le collagène (HOLLMAN., 2005).
Lignanes	Anti-inflammatoire et analgésique (LENOR., 2011).

Partie

Expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

Partie 2

Chapitre I : Matériels et méthodes

Nous avons mené une étude analytique, réalisée au sein du laboratoire LABAB du département de biologie, faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou. Nous nous sommes fixé pour objectifs la détermination des teneurs en polyphénols totaux des extraits bruts de deux espèces végétale à savoir *phlomis bovei* et *verbascum sinuatum*, ainsi que la mise en évidence de leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire.

Le Protocole expérimental adopté au cours de cette étude est schématisé dans la figure 15

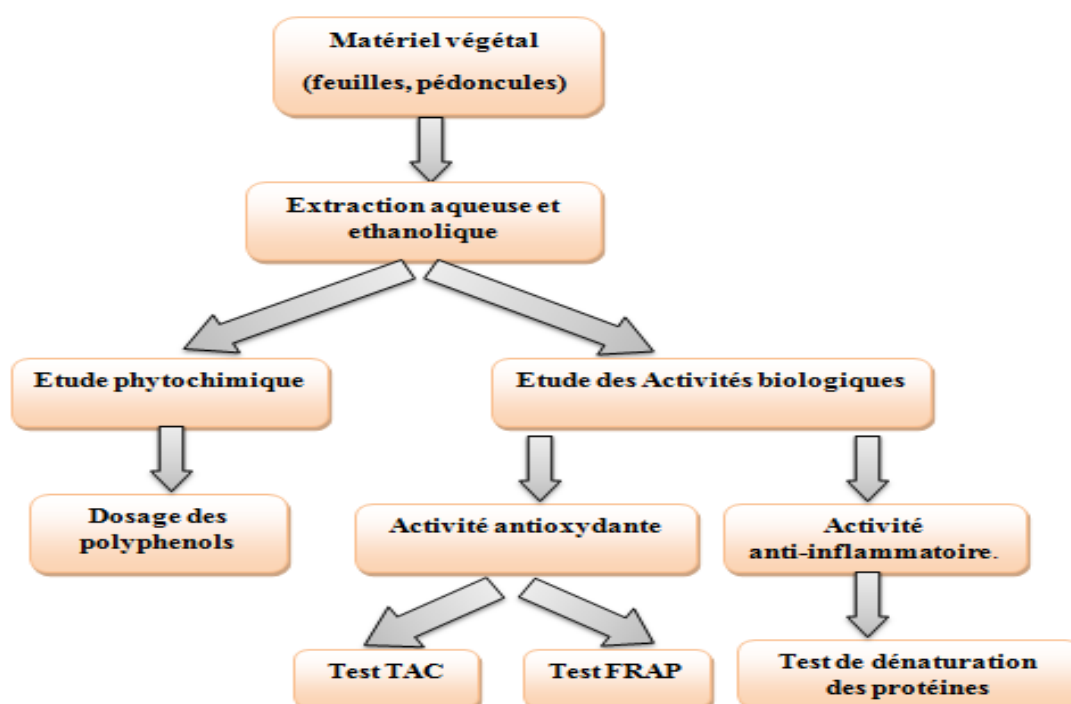


Figure 15 : Diagramme représentant les Protocoles expérimentaux adoptés.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles et pédoncules de *Phlomis bovie*, et de feuilles *Verbascum sinuatum*.

Les pédoncules et feuilles de *phlomis bovie* ont été récoltés au mois de mai 2016 dans la région d'Adekar, assif el hamam. Dans un premier temps, on a utilisé le lot contenant

les pédoncules de *phlomis bovie* noté phlomis 1 ; et dans un second temps, on a utilisé celui contenant seulement les feuilles de *phlomisbovie* noté phlomis 2.

Les feuilles de *verbascum sinuatum* ont été récoltées au mois d'aout 2016 dans la région d'El kseur.

1.2. Appareillage

Mis à part le matériel usuel couramment utilisé tel que: Spectrophotomètre UV- Visible, bain marie, centrifugeuse et autres, on a eu recours à l'utilisation du lyophilisateur CRAIST Alpha1-2 et de rota vapeur STUART RE300D13.

1.3. Solvants et réactifs

- Eau distillée ;
- Ethanol ;
- Réactif de Folin Ciocalteu ;
- Tampon Phosphate (0.2M, pH 6.6) ;
- Ferricyanure de Potassium à 1% ;
- Chlorure Ferrique ;
- Acide Trichloracétique (TCA) à 10% ;
- Acide Sulfurique à 0.6mM ;
- Phosphate de Sodium 28mM ;
- Molybdate d'ammonium.

1.4. Standards

- Acide Gallique ;
- Acide Ascorbique ;
- Albumine d'œuf ;
- Aspirine.

2. Méthodes d'analyse :

2.1. Séchage du matériel végétal

Après la récolte, le matériel végétal est nettoyé, débarrassé des débris puis séché à l'air libre et à l'obscurité. Après séchage le matériel végétal est broyé à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre ainsi obtenue conservée dans des flacons en verre et à l'abri de la del'humidité et de la lumière jusqu'à utilisation.

2.2. Préparation des extraits bruts

L'extraction est effectuée par macération, qui consiste à laisser la poudre végétal en contact pendant 24h avec le solvant approprié soit aqueux ou éthanolique pour en extraire les composés biologiquement actifs. Cette extraction est réalisée à température ambiante. Nous avons procédé à deux types d'extractions (Figure 16).

2.2.1. Extraction aqueuse

Vingt grammes de chacune des poudres issues de *Phlomis bovie* et *Verbascum sinuatum* sont mis à macérer séparément dans 200 ml d'eau distillée pendant 24h à température ambiante sous agitation continue. Le macéra aqueux obtenu est filtré successivement à l'aide d'une passoire puis d'un papier Watmann^{°1}. Le filtrat obtenu est réparti dans des cristallisoirs puis congelé pendant 24h à -80°C. Après congélation le filtrat est lyophilisé.

Le lyophilisat obtenu est stocké à l'abri de l'humidité et de la lumière. Ce dernier est considéré comme étant l'extrait aqueux.

2.2.2. Extraction éthanolique

Vingt grammes de la poudre issue des feuilles de *Verbascum sinuatum* sont mise à macérer dans 200ml d'éthanol sous agitation douce pendant 24h à température ambiante. Le macéra éthanolique obtenu est filtré successivement à l'aide d'une passoire puis d'un papier Watman n^{°1}. L'éthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rota-vapeur, permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur brune foncée. Cet extrait est considéré comme étant l'extrait éthanolique de *Verbascum sinuatum*.

Le schéma illustré dans la figure 16, récapitule les différentes étapes de l'extraction aqueuse et éthanolique.

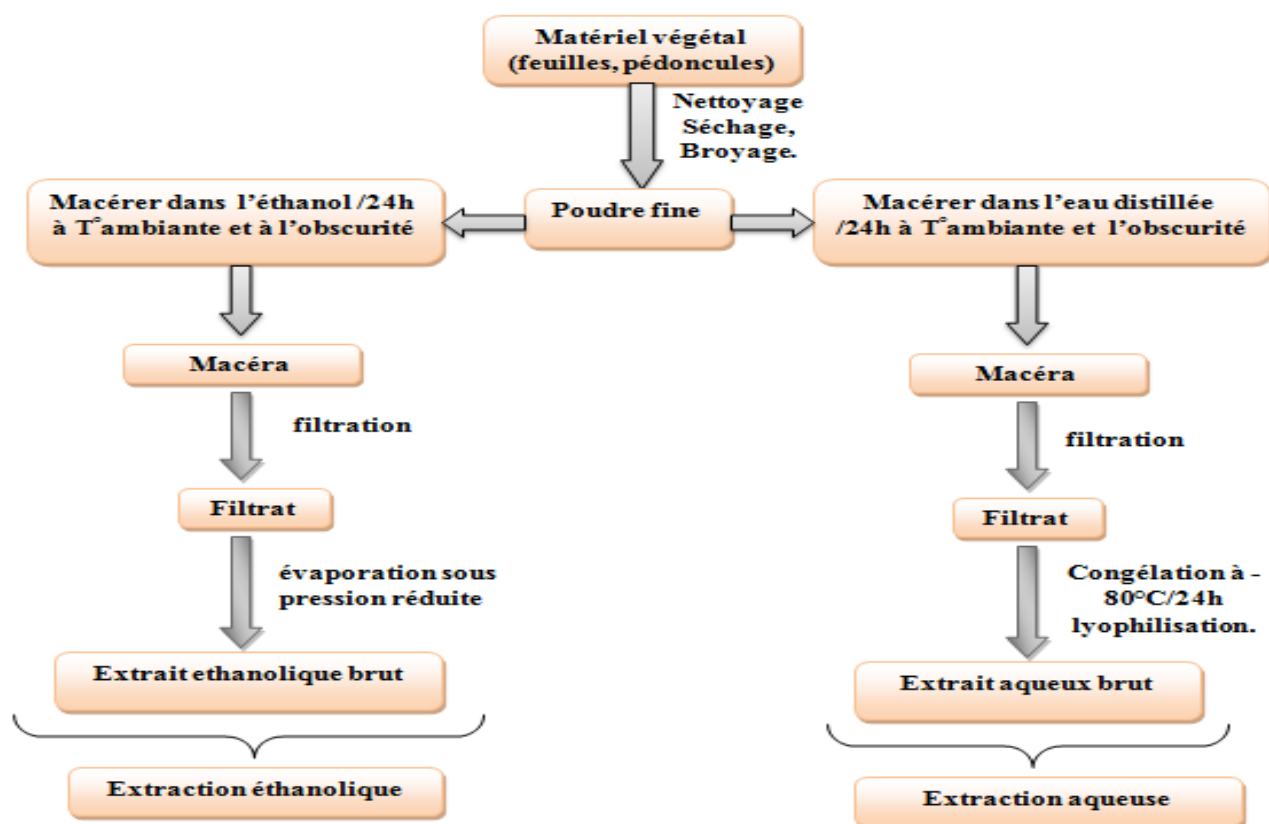


Figure 16: Schéma récapitulatif de l'extraction aqueuse et éthanolique.

2.3. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux de nos extraits est déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu mise au point par SINGLETON et ROSSI en 1965. Cependant, cette méthode n'est pas spécifique car elle ne donne pas d'indication sur la nature des PPT présents dans l'extrait brut.

On prépare 200 μ l, à partir de chaque extrait végétal, à une concentration de 100 μ g/ml. A ce mélange on ajoute 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 4min, 8ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont ajoutés pour stabiliser la réaction. Le mélange réactionnel est mis à l'abri de la lumière pendant 45min (figure 17).

Dans ce mélange réactionnel il s'établit une réaction d'oxydoréduction entre le réactif de Folin et les polyphénols présents dans nos différents extraits. Une coloration bleue ainsi produite est proportionnelle à la quantité des PPT présents dans les extraits végétaux. Ce

complexe coloré est quantifié par la lecture de l'absorbance à une longueur d'onde de 760nm.

Les valeurs de concentration sont déduites par extrapolation à partir de la droite d'étalonnage établie à l'aide de la solution de référence d'acide gallique à des concentrations allant de 10 à 100µg/ml.

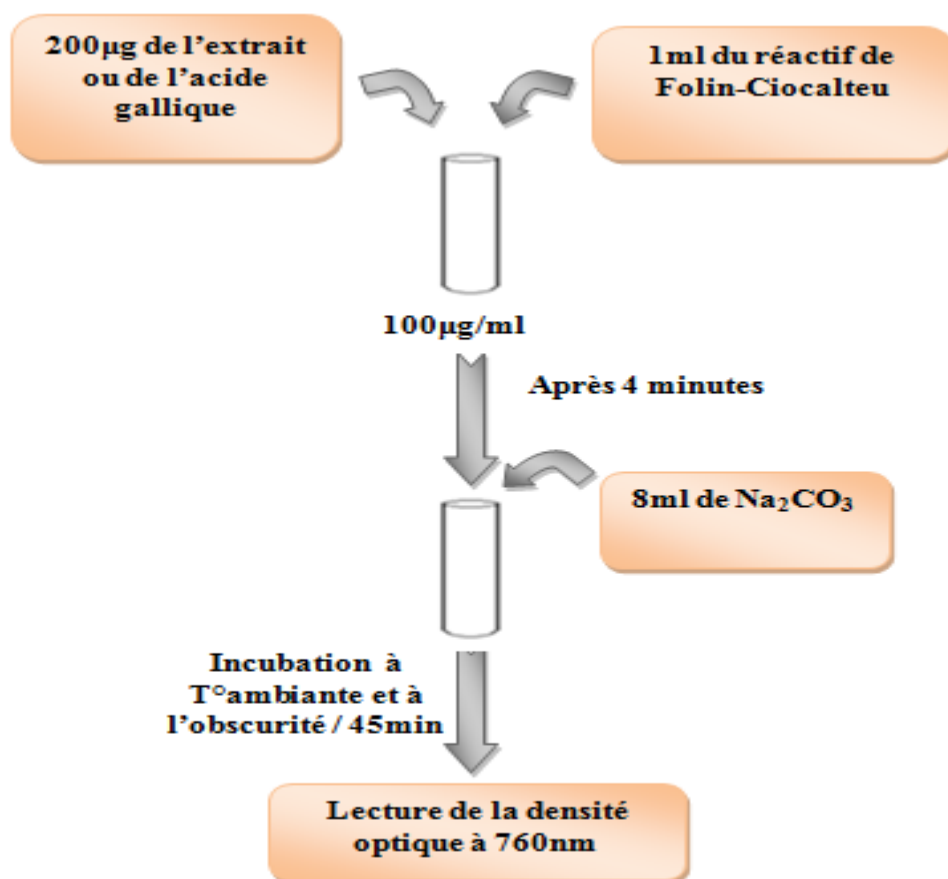


Figure 17: Schéma récapitulatif de protocole de dosage des polyphénols (SINGLETON et ROSSI, 1965).

2.4. Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

La détermination du pouvoir réducteur de nos extraits se fait selon la méthode décrite par CHEW et *al* (2009). Ce test est basé sur la réduction des ions ferriques (Fe^{+3}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ions ferreux (Fe^{+2}) en présence d'un antioxydant qui a le pouvoir de céder des électrons.

Pour cela, une gamme de concentration des extraits éthanolique et aqueux, allant de 100 à 600µg/ml est réalisée. 400µl de chacune de ces dilutions sont ajoutés à un mélange de 400µl de tampon phosphate (0.2M, PH 6.6) et 400µl de ferricyanure de potassium à 1%. Le milieu réactionnel est agité puis incubé à 50°C pendant 20min (figure 18).

Après incubation, 400µl d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés puis le mélange est centrifugé pendant 10 minutes à 3000 t/mn. 400µl du surnageant des différentes dilutions sont prélevés, complétés de 400µl d'eau distillée et de 80µl de chlorure ferrique à 0.1%. La lecture de l'absorbance se fait à 700nm avec un spectrophotomètre. L'augmentation de l'absorbance est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits testés.

Dans ce test, l'acide ascorbique est utilisé comme référent. La détermination du pouvoir réducteur de ce dernier est réalisée dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentration que nos extraits. Ensuite une courbe de référence est établie.

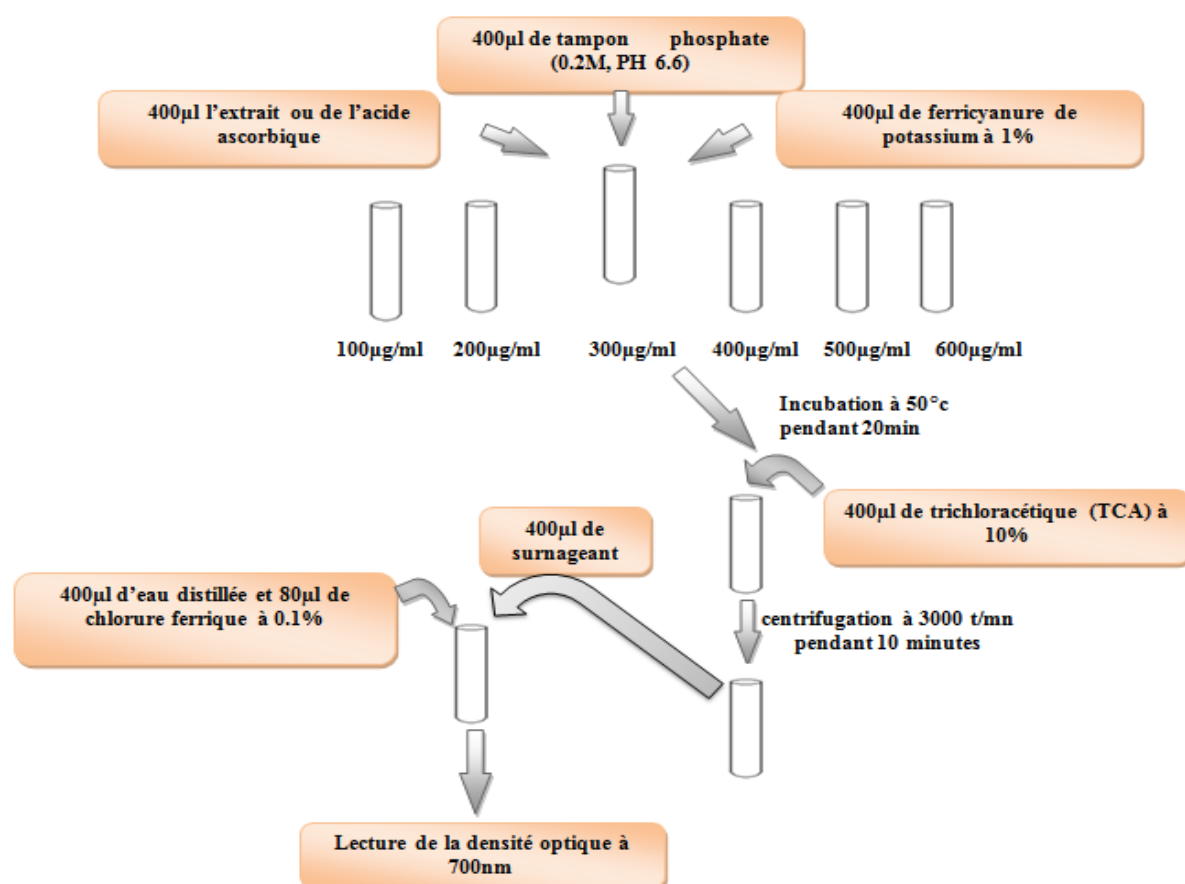


Figure 18: Protocole récapitulatif du test de détermination du pouvoir réducteur (FRAP) (CHEW et al, 2009)

2.5. Évaluation de la capacité antioxydante totale (TAC)

La détermination du pouvoir antioxydant des extraits végétaux est réalisée par la méthode de réduction du phosphomolybdate suivant le protocole décrit par PRIETO et *al* (1999). Dans ce test les antioxydants réduisent le Mo(VI) en Mo(V) et forment un complexe vert.

Pour cela, une gamme de concentration des extraits éthanolique et aqueux, allant de 100 à 600 µg/ml est réalisée. 0.1ml de chacune des dilutions est mélangé à 1ml de la solution réactionnelle (0.6mM de l'acide sulfurique, 28mM de phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium). Le mélange ainsi obtenu est incubé à 95°C pendant 90min. Après refroidissement à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 695nm (Figure 19).

Dans ce test, l'acide ascorbique est utilisé comme référent. La détermination du pouvoir réducteur de ce dernier est réalisée dans les mêmes conditions opératoires ainsi qu'avec la même gamme de concentration que nos extraits. Ensuite une courbe de référence est établie.

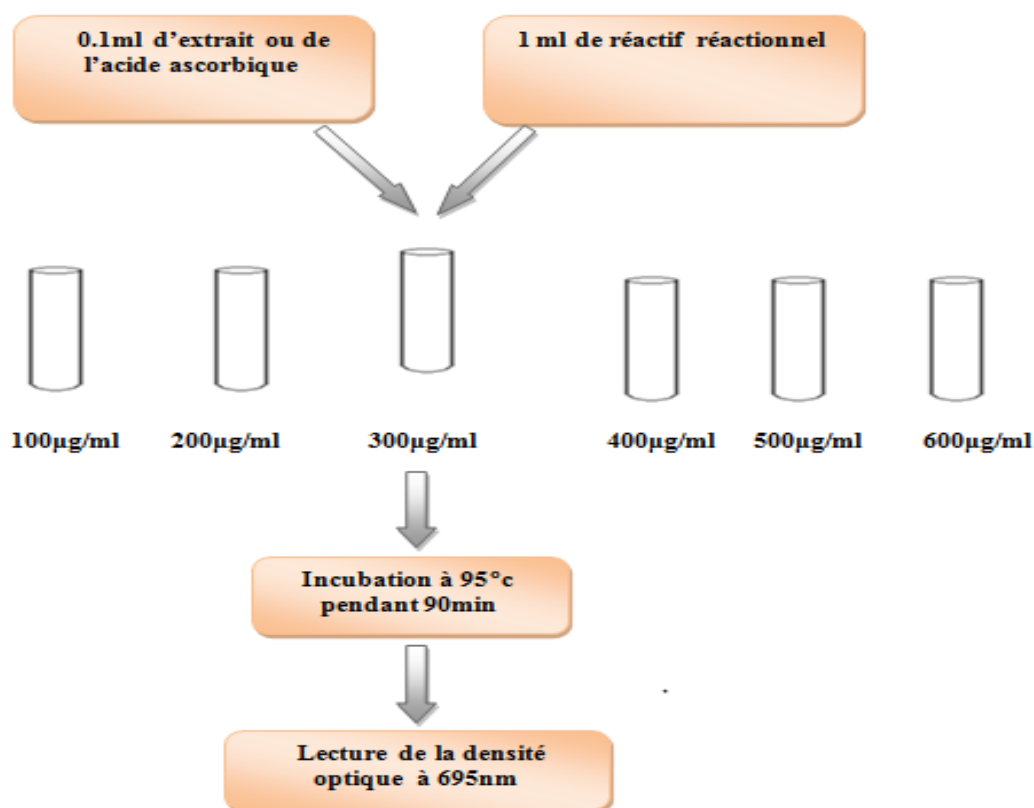


Figure 19 : Protocole récapitulatif du test de détermination de la capacité antioxydante totale (TAC) (PRIETO et *al*, 1999)

2.6. Activité anti-inflammatoire

La détermination de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux se fait selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines décrite par KARTHIK K. *et al* (2013)

Pour cela, une gamme de concentration des extraits éthanolique et aqueux, allant de 100 à 600 µg/ml est réalisée. 1ml de chacune des dilutions est ajouté à 1ml de la solution d'albumine d'œufs préparée dans l'eau distillée à 0.1%. Le mélange est ensuite incubé à 72°C pendant 5min puis refroidi rapidement. L'absorbance du milieu est mesuré à 660nm (voire figure 20).

La détermination de l'activité anti-inflammatoire est présentée sous forme de pourcentage de protection.

Dans ce test, l'aspirine est utilisée comme référent. La détermination de l'activité anti-inflammatoire de ce dernier est réalisée dans les mêmes conditions opératoires ainsi que dans la même gamme de concentration que nos extraits. Ensuite une courbe de référence est établie.

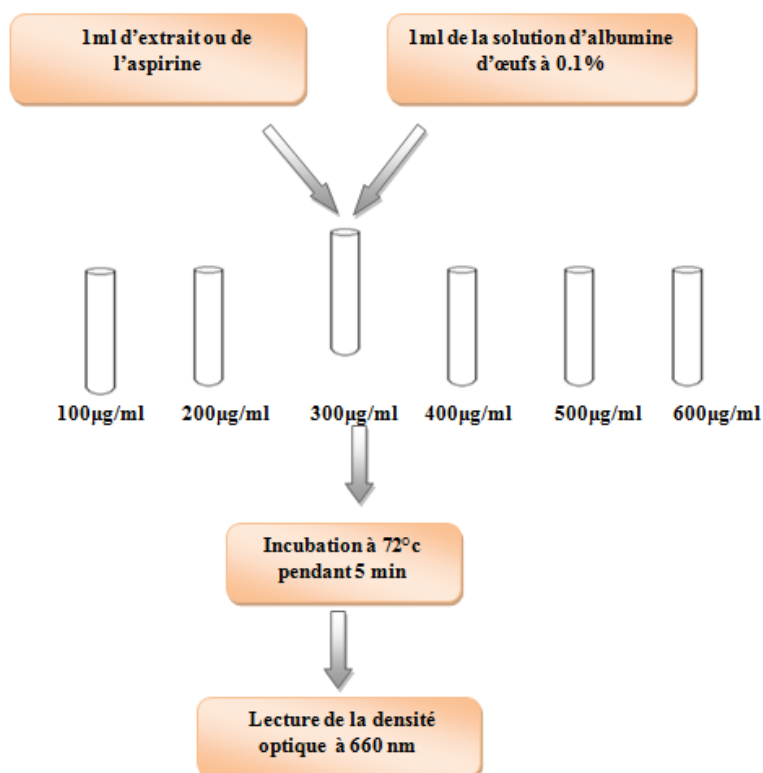


Figure 20 : Protocole récapitulatif du test de la dénaturation thermique des protéines.

Les variables quantitatives sont décrites sous forme de pourcentage.

2.7. Traitement des résultats

- L'ensemble des résultats obtenus sont traités par le logiciel Excel ;
- Les variables quantitatives sont décrites sous forme de moyenne arithmétique (M) des trois valeurs obtenues $\pm$ l'écart type
- Le test de l'analyse de la variance (ANOVA à plusieurs facteurs) est utilisé afin de vérifier l'influence des différents paramètres étudié (espèce, type de tissu et type d'extraction) sur les résultats obtenus (teneur en polyphenols totaux, pouvoir antioxydant « FRAP, TAC », pouvoir anti-inflammatoire).
- Le test de l'analyse de corrélation entre la teneur en PPT et les deux activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et activité anti-inflammatoire, est réalisé par le logiciel STATISTICA version 7.1.

Chapitre II

Résultats et discussion

Partie 02

Chapitre II : Résultats et discussion

La teneur en polyphénols totaux et l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire de chacun des extraits bruts sont présentés par espèce végétal :

1. *Phlomis bovei*

1.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux de nos extraits est déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu mise au point par SINGLETON et ROSSI en 1965. La coloration bleue obtenue est proportionnelle à la quantité de PPT présents dans les extraits végétaux. Ce complexe coloré est quantifié par la lecture de l'absorbance à une longueur d'onde de 760nm.

La courbe d'étalonnage présentée en figure 21, représente les variations de l'absorbance de l'acide gallique (AG) en fonction de la concentration. En plus de sa sensibilité, le protocole présente une reproductivité puisque l'absorbance est étroitement corrélée à la concentration de l'AG utilisé dans la gamme étalon, $R^2=0.986$.

La quantité de polyphénols totaux des extraits secs de l'espèce *Phlomis bovei* est calculée à partir de l'équation de régression ($y = 0.013X + 0.358$, $R^2=0.986$) de la courbe d'étalonnage. Celle-ci est exprimée en mg équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait sec (ES) (mg EAG/g ES).

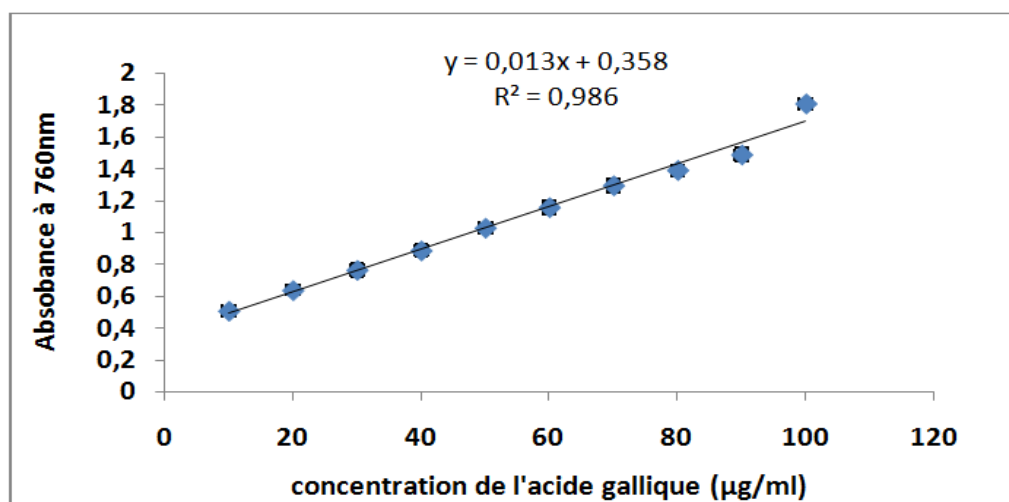


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux des deux parties de l'espèce étudiée sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Dosage des polyphénols totaux des extraits aqueux des deux parties de *Phlomis bovei*.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ES)
Extrait aqueux de <i>Phlomis</i> 1	786.15 ± 68.37
Extrait aqueux de <i>Phlomis</i> 2	57.17 ± 7.70

Phlomis 1 : Pédoncules de *Phlomis bovei*; **Phlomis 2** : Feuilles de *Phlomis bovei*

Une meilleure teneur en PPT est observée dans l'extrait aqueux issu des pédoncules, et estimée à 786.15 ± 68.37 mg EAG/g ES, comparativement à la teneur observée avec l'extrait aqueux issu des feuilles de la même espèce et qui est de 57.17 ± 7.70 mg EAG/g ES.

Cette différence de teneur en PPT est liée au type de tissus de la plante et confirmée par le test d'ANOVA (annexe 07) révélant une différence significative ($p < 0.05$).

Cette plante est considérée comme riche en composés phénoliques vu leurs teneurs élevées, ce qui concorde avec les résultats obtenus dans l'étude menée en 2012 par BOUGANDOURA et BENDIMERA, sur l'espèce *Satureja calamintha*.

Les teneurs en PPT dans les deux extraits aqueux de *Phlomis bovei* sont supérieures à celle trouvée dans l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. de la famille des lamiacées (PPT *Marrubium* sp = 3.07±0.76 mg EAG/g ES) dans l'étude menée en 2014 par GHEDADBA *et al.*

1.2. Pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

La détermination du pouvoir réducteur des extraits bruts se fait selon la méthode décrite par CHEW *et al* (2009). Elle consiste en la mesure de l'augmentation de la densité optique de la couleur bleu vert issue de la réduction du complexe Fe^{3+} -ferricyanide dans le milieu réactionnel à 700 nm.

La figure 22 représente les variations du pouvoir réducteur exprimé en absorbance de chaque extrait issu de *Phlomis bovei* comparées à l'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations. L'acide ascorbique composé réducteur par excellence est utilisé comme standard. Les densités optiques enregistrées pour ce dernier indiquent une activité réductrice dose dépendante, celle-ci pour des concentrations allant de 100 à 600 µg/ml, passe de 1.693 ± 0.014 (73% du pouvoir réducteur) à 2.318±0.173 (100% du pouvoir réducteur).

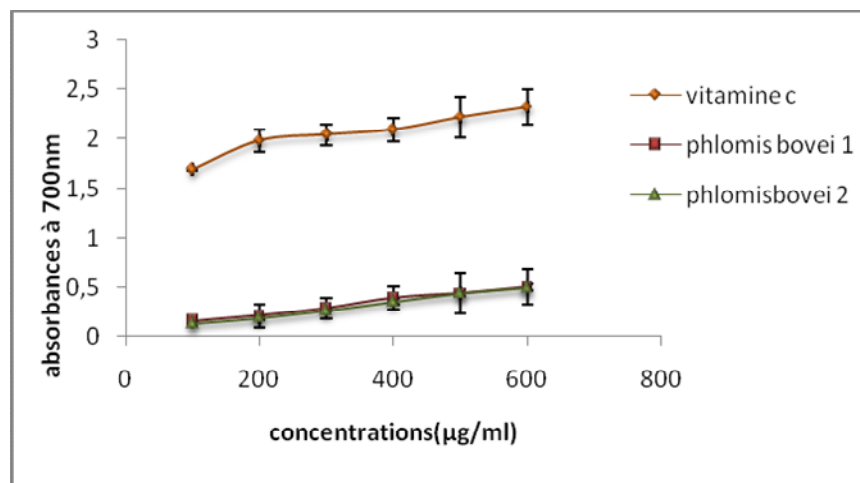


Figure 22: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des deux extraits bruts de *Phlomis bovei*.

Les résultats obtenus indiquent une variation dose dépendante de l'absorbance et donc du pouvoir réducteur des échantillons et du standard. Celle-ci passe respectivement de $1,693 \pm 0,014$ à $2,318 \pm 0,173$ (**73% à 100%**), de $0,159 \pm 0,008$ à $0,503 \pm 0,021$ (**7% à 22%**) et de $0,133 \pm 0,015$ à $0,5 \pm 0,033$ (**6% à 22%**) pour l'acide ascorbique, l'extrait phlomis1 et phlomis2.

Les résultats obtenus montrent également que le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux des pédoncules (Phlomis1) et des feuilles (phlomis 2) de *Phlomis bovei* se confondent, mais restent nettement inférieur à celui obtenu avec l'acide ascorbique. Selon GILGUN et al, (2004) le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son potentiel antioxydant et justifie ainsi son étude dans de nombreuses études.

D'après nos résultats, l'activité anti-oxydante de cette plante n'est pas très importante, de même le type de tissu n'a pas d'effet cette activité.

Le pouvoir réducteur de ces extraits est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants.

Les résultats du test FRAP de la présente étude correspondent aux ceux trouvés dans l'extrait aqueux de l'espèce *Satureja calamintha ssp* ayant révélé un pouvoir réducteur relativement faible comparativement à celui de l'acide ascorbique (BOUGANDOURA. et BENDIMERAD., 2012).

1.3. Capacité anti-oxydante totale (TAC)

Les histogrammes de la figure 23 représentent les variations de la capacité anti-oxydante totale exprimée en pourcentage de chacun des extraits issus de deux parties différentes de l'espèce *Phlomis bovei* et celle de l'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations. L'acide ascorbique est utilisé comme composé de référence dont l'activité anti-oxydante n'est plus à démontrer, elle passe de 34% à 100% d'activité anti-oxydante, et ce pour des concentrations allant de 100 à 600 µg/ml.

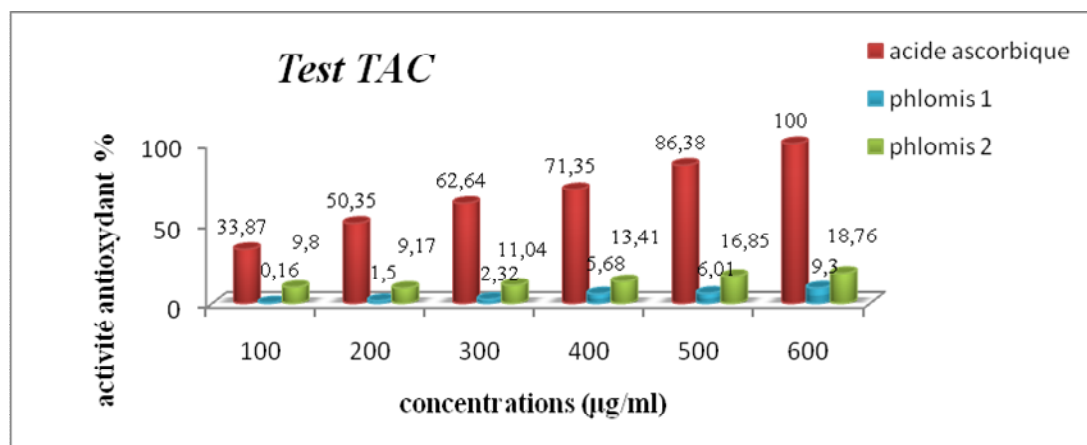


Figure 23 : Capacité anti-oxydante totale de l'acide ascorbique et des deux extraits aqueux de *Phlomis 1* et *Phlomis 2*.

Pour les solutions de l'extrait aqueux de phlomis1, préparées dans la même gamme de concentration que celle de l'acide ascorbique, leur pouvoir antioxydant passe de **0.1% à 9%**. Comparativement aux solutions préparées à partir de l'extrait aqueux de phlomis2, dont la capacité anti-oxydante passe de **10% à 19%**.

Il ressort de nos résultats que l'activité anti-oxydante des deux extraits aqueux de phlomis est faible par rapport à celle obtenue avec l'acide ascorbique. Néanmoins il faut noter que l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* présente une activité anti-oxydante deux fois supérieure à celle obtenue avec l'extrait aqueux des pédoncules de la même espèce.

Cette différence de l'activité anti-oxydante est liée à la partie de la plante utilisée et confirmée par l'analyse statistique effectuée par le test d'ANOVA (Annexe 09) révélant une différence significative avec $p=0.000684$ ($p < 0.05$).

Le test de corrélation (voir annexe19) effectué par le logiciel STATISTICA a révélé une faible relation linéaire et négative entre la teneur en PPT et la capacité anti-oxydante totale avec $r = -0.4219$, de même il a enregistré l'absence de l'influence de la teneur en PPT sur le TAC ($p=0.1720$ qui est supérieur à 0.05).

La capacité anti-oxydante totale des extraits de *Phlomis bovei* est nettement inférieure à celle estimée dans l'étude menée par CENGIZ SARIKURKCU *et al* en 2015 sur l'espèce *Phlomis armeniaca* qui est estimée à **50%**.

1.4. Activité anti-inflammatoire

La détermination de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, décrite par KARTHIK K. *et al* (2013).

Les histogrammes de la figure 24 représentent les variations de l'activité anti-inflammatoire exprimées en pourcentage de protection de l'albumine en fonction des concentrations ainsi que de la partie de la plante utilisée. L'aspirine connue pour son pouvoir anti-inflammatoire est ici utilisée comme composé de référence. Le pourcentage de protection aux concentrations allant de 100 à 600 $\mu\text{g/ml}$ exprimé par cette dernière passe de 40% à 65%.

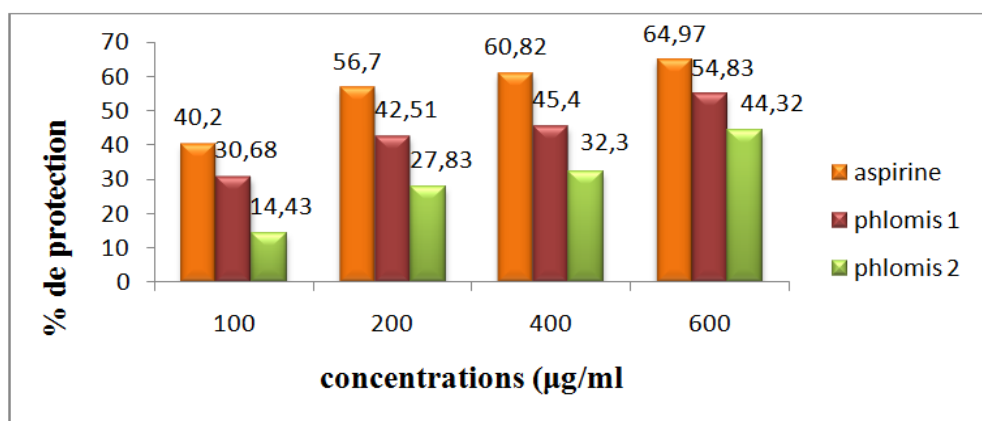


Figure 24 : Taux de protection contre la dénaturation thermique de l'albumine en présence de l'aspirine et des deux extraits aqueux de *Phlomis bovei*.

Pour l'extrait aqueux de *Phlomis* 1, préparées dans la même gamme de concentration que celle de l'aspirine, le pourcentage de protection passe de 31% à 55%. Comparativement à l'extrait aqueux de phlomis2, dont là le pourcentage de protection passe de 14% à 44%.

Il ressort de nos résultats que les deux extraits issus de l'espèce *Phlomis bovei* présentent une activité anti-inflammatoire relativement importante avec un maximum enregistré à la concentration de 600 $\mu\text{g/ml}$ mais reste légèrement faible par rapport à l'aspirine.

Cette différence de l'activité anti inflammatoire est liée à la partie de la plante ainsi qu'à la dose utilisée, ce qui est confirmée par l'analyse statistique effectuée par le test d'ANOVA (Annexe 10) révélant une différence significative avec $p=0.016$ ($p < 0.05$).

Le test de corrélation (annexe 18) effectué par le logiciel STATISTICA a montré une faible relation linéaire entre la teneur en PPT et l'activité anti inflammatoire ($r=0.4642$), avec une $p_{\text{value}}=0.1285$ qui est supérieur à 0.05, ce qui veut dire que la teneur en PPT n'influence pas sur l'activité anti inflammatoire.

La capacité anti-inflammatoire totale des extraits de *Phlomis bovei* est nettement inférieure à celle retrouvée dans l'étude menée par MOUALEK *et al* en 2016 sur l'espèce *Arbutus unedo* (74% de protection contre respectivement 55% et 44% pour phlomis 1 et phlomis 2).

2. *Verbascum sinuatum*

2.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux des deux extraits aqueux et éthanolique de *Verbascum sinuatum* sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Teneur des polyphénols totaux des extraits, aqueux et éthanolique, de *Verbascum sinuatum*.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ES)
Extrait aqueux de <i>Verbascum</i>	1014.35 ± 11.75
Extrait éthanolique de <i>Verbascum</i>	120.51 ± 3.21

Sur les deux extraits aqueux et éthanolique de l'espèce *Verbascum sinuatum*, une teneur importante en PPT a été observée avec l'extrait aqueux (1014.35 ± 11.75 mg EAG/g ES) comparativement à celle enregistré pour l'extrait éthanolique (120.51 ± 3.21 mg EAG/g ES). Le contenu phénolique dans les deux types d'extraits dépend de la polarité du solvant d'extraction, en raison de la nature polaire des composés phénoliques, un meilleur rendement en PPT est observé pour l'eau comparé à l'éthanol.

Cette différence de teneur en PPT est liée au type de solvant utilisé dans l'extraction et confirmée par le test d'ANOVA (annexe 07) révélant une différence significative ($p < 0.05$).

Les valeurs des PPT obtenues dans l'extrait aqueux de l'espèce étudiée (PPT *Verbascum sinuatum* aqueux = 1014.35 ± 11.75 mg EAG/g ES) sont assez proches de celles retrouvées dans l'étude menée sur l'espèce *Verbascum phlomoides* en 2016 par GABRIELA P. et al (PPT *Verbascum phlomoides* = 965.5 ± 8.9 mg EAG/g ES). Cependant, elles sont nettement supérieures à celle enregistrée dans l'étude menée en 2013 par KARAMIANet GHASEMLOU sur *Verbascum sinuatum* (PPT *Verbascum sinuatum* aqueux = 118.2 ± 2.46 mg EAG/g ES).

2.2. Pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

Les graphes de la figure 25 représentent les variations du pouvoir réducteur exprimé en absorbance de chacun des extraits aqueux et ethanolique de feuilles de *Verbascum sinuatum* et celle de l'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations.

L'acide ascorbique présente une variation des densités optiques dose dépendante et par là même son activité réductrice, qui passe d'une Do de 1.693 ± 0.014 (73% du pouvoir réducteur) à 2.318 ± 0.173 (100% du pouvoir réducteur), et ce pour des concentrations allant de 100 à 600 µg/ml.

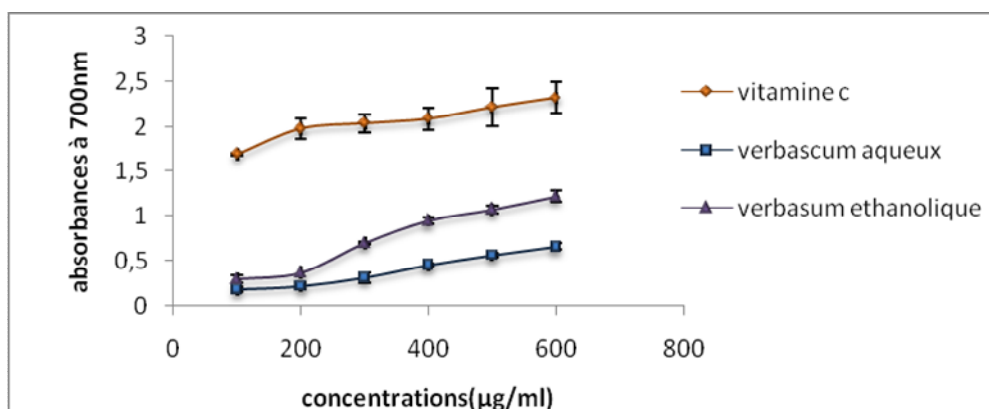


Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique et des deux extraits *Verbascum* aqueux et *Verbascum* éthanolique.

Il ressort de notre étude que l'absorbance des différents échantillons passe de $1,693 \pm 0.014$ à $2,318 \pm 0.173$ (**73% à 100%**) pour l'acide ascorbique, de $0,184 \pm 0.029$ à $0,662 \pm 0.038$ (**8% à 29%**) pour l'extrait aqueux et de $0,3 \pm 0.039$ à $1,22 \pm 0.063$ (**13% à 53%**) pour l'extrait éthanolique. De plus, il apparaît clairement que le pouvoir réducteur des extraits ainsi que de la vitamine C, est dose dépendant. Les résultats obtenus ont également montré que le pouvoir réducteur vis-à-vis de l'ion ferrique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Verbascum sinuatum* est supérieur de **24%** à celui obtenu avec l'extrait aqueux, mais il reste

inférieur à celui obtenu avec l'acide ascorbique. D'après nos résultats, les extraits de *Verbascum sinuatum* présentent une bonne activité anti-oxydante à la concentration de 600ug/ml et que le type d'extraction influence fortement cette activité.

Cette différence en terme d'activité anti-oxydante, liée à la dose ainsi qu'au type d'extraction, est confirmée par le test d'ANOVA (annexe 08) révélant une différence significative ($p < 0.05$).

Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'extraction éthanolique aboutissant à un extrait au pouvoir réducteur nettement plus important que l'extrait aqueux, influe qualitativement sur l'extrait obtenu et donc sur son potentiel réducteur.

Le pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait aqueux de l'espèce *Verbascum sinuatum* est inférieur de 50 % par rapport à celui enregistré avec l'espèce *Verbascum phlomoides* (GABRIELA. *et al*, 2016).

2.3. Capacité anti-oxydante totale (TAC)

Les histogrammes présentés en figure 26 représentent les variations de l'absorbance de chacun des extraits aqueux et éthanolique issu de l'espèce *Verbascum sinuatum* et celle de l'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations. L'acide ascorbique est utilisé comme composé de référence, sa densité optique est dose dépendante, elle passe de 34% à 100% pour des concentrations allant de 100 à 600 µg/ml.

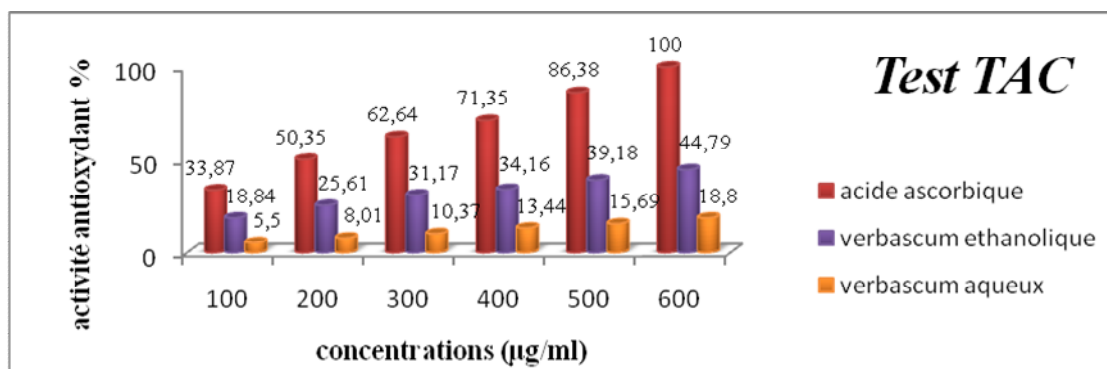


Figure 26 : Capacité anti-oxydante totale de l'acide ascorbique et des deux extraits *Verbascum* aqueux et *Verbascum* éthanolique.

La capacité anti-oxydante des solutions issues de l'extrait aqueux de l'espèce étudiée préparées dans la même gamme de concentration que celle de l'acide ascorbique, passe de 6% à 19%. Comparativement à l'extrait éthanolique, dont la capacité anti-oxydante passe de 19% à 45%.

Il ressort de nos résultats que l'activité anti-oxydante des deux extraits aqueux et éthanolique est faible par rapport à celle obtenue avec l'acide ascorbique. Néanmoins il faut

noter que l'extrait éthanolique présente une activité anti-oxydante supérieure **25%** à celle obtenue avec l'extrait aqueux mais reste comparativement doté d'une capacité antioxydante relativement moins importante que la vitamine C.

L'activité antioxydante de nos extraits varie selon le type de solvant utilisé, elle est plus importante dans l'éthanol que dans le solvant aqueux et ceci pourrait être expliqué par le passage important de composées phénoliques à fort pouvoir antioxydant dans l'éthanol plus que dans l'eau distillée. Dont l'efficacité augmente si la force de la liaison A-H est faible et le radical (A) résultant doit être le plus stable possible (SHAIDI et NACZK, 2004).

Les résultats ont été confirmés par l'analyse statistique effectuée par le test d'ANOVA (annexe 09) révélant une différence significative avec $p=0.000684$ ($p < 0.05$).

Le test de corrélation (voir annexe 19) effectué par le logiciel STATISTICA a révélé une faible relation linéaire négative entre la teneur en PPT et la capacité anti oxydante totale avec $r=-0.4219$, de même il a enregistré l'absence de l'influence de la teneur en PPT sur le TAC ($p=0.1720$ qui est supérieur à 0.05)

Ce qui contredit les résultats obtenus en 2011 par Zhang et *al* qui ont obtenu une meilleure activité anti-oxydante avec des extraits aqueux.

2.4. Activité anti inflammatoire

Les histogrammes de la figure 27 représentent les variations de l'activité anti-inflammatoire exprimée en pourcentage de protection contre la dénaturation de l'albumine en fonction des concentrations ainsi que de la nature du solvant utilisé. L'aspirine est utilisée comme composé de référence, son pouvoir protecteur aux concentrations allant de 100 à 600 $\mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de la dénaturation thermique passe de 40% à 65%.

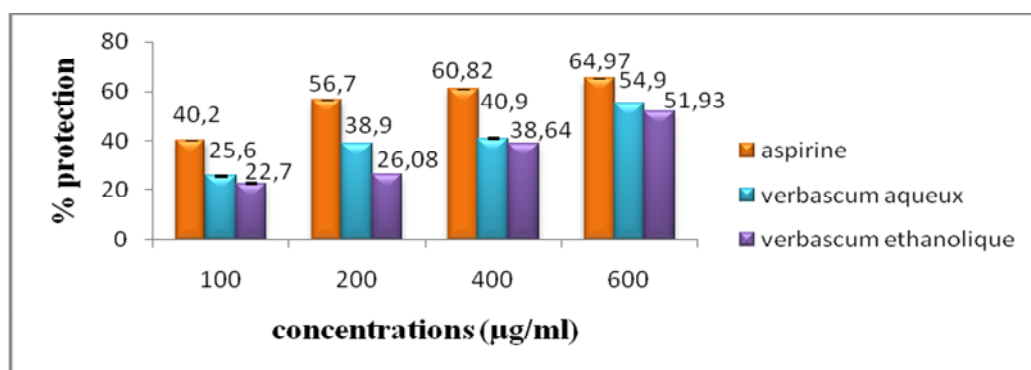


Figure 27 : Taux de protection contre la dénaturation thermique de l'albumine en présence de l'aspirine et des deux extraits de *Verbascum sinuatum*.

Pour l'extrait aqueux de *Verbascum sinuatum*, préparées dans la même gamme de concentration que celle de l'aspirine, le pourcentage de protection passe de 26% à 55%. Comparativement à l'extrait éthanolique, dont le pourcentage de protection passe de 23% à 52%, les deux extraits offrent aux concentrations étudiées le même potentiel anti-inflammatoire.

Il ressort de nos résultats que les deux extraits issus de l'espèce *Verbascum sinuatum* présentent une bonne activité anti-inflammatoire et presque identique dans l'ensemble des résultats avec un maximum d'activité à la concentration de 600 µg/ml mais reste légèrement faible comparativement à celle enregistrée avec l'aspirine.

Cette différence de l'activité anti-inflammatoire est liée à la dose ainsi qu'au solvant utilisé lors de l'extraction. Ceci est confirmée par l'analyse statistique effectuée par le test d'ANOVA (Annexe 10) révélant une différence significative avec $p < 0.05$. Le test de corrélation (Voir annexe 18) effectué par le logiciel STATISTICA a montré une faible relation entre la teneur en PPT et l'activité anti inflammatoire ($r=0.4642$), avec une $p_{value}=0.1285$ qui est supérieur à 0.05, ce qui veut dire que la teneur en PPT n'influence pas sur l'activité anti inflammatoire.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Verbascum sinuatum* est légèrement inférieure à celle retrouvée dans l'étude menée en 2009 par SACHINS *et al* sur l'extrait de l'espèce *Corniculata o.* avec un pourcentage de protection de la dénaturation de l'albumine égale à 76%.

3. Comparaison entre *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei*

3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

Les histogrammes de la figure 28 représentent la variation des taux en PPT en fonction de l'espèce.

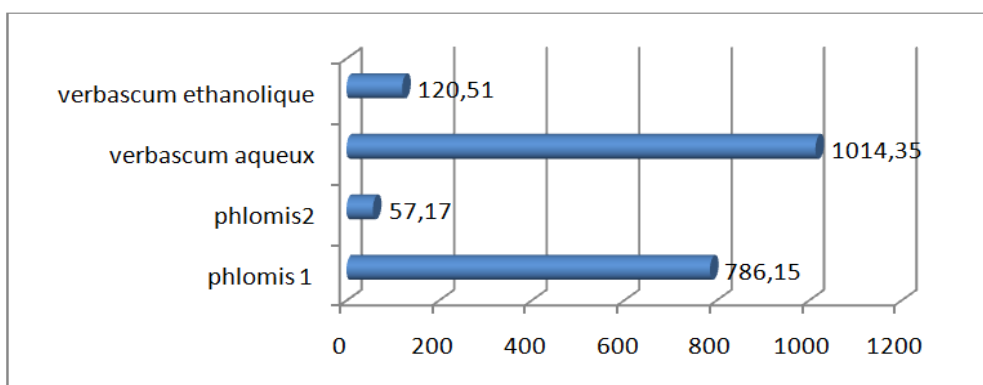


Figure 28 : Teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits.

Les résultats de la présente étude révèlent que la quantité en PPT varie entre 57.17 ± 7.7 mg EAG/g ES et 1014.35 ± 11.75 mg EAG/g ES pour l'ensemble des extraits issus des deux espèces. L'extrait aqueux issu des feuilles de *Verbascum sinuatum* a montré le taux le plus élevé, cependant il est 18 fois supérieur à celui de l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* (Phlomis 2)

Cette différence de teneur en PPT s'explique par l'origine des deux extraits qui sont issues de deux espèces différentes *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum*, et confirmée par l'analyse statistique effectuée par le test d'ANOVA (Annexe 07) révélant une différence significative avec $p=0.00009$ ($p < 0.05$).

3.2. Pouvoir réducteur (FRAP)

Les extraits étudiés ainsi que la vitamine C sont traités dans les mêmes conditions opératoires et les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante. Celle-ci nous montre la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance pour chaque échantillon.

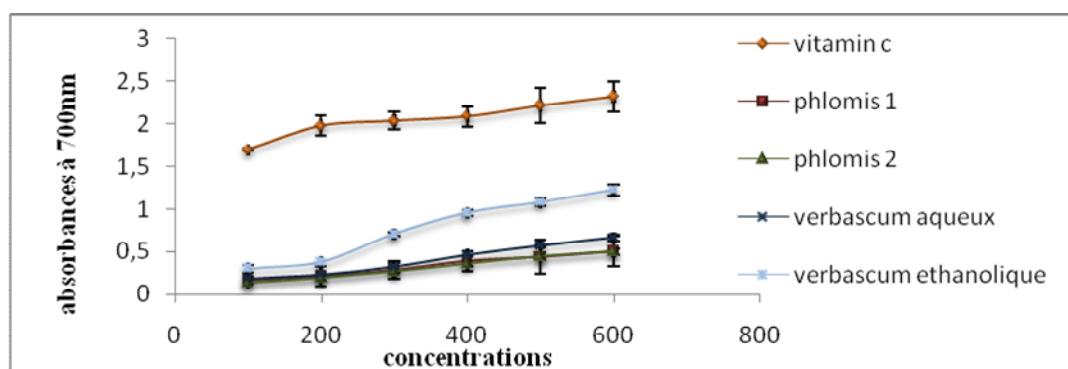


Figure 29 : Evaluation du pouvoir réducteur par la méthode de FRAP des différents extraits.

On note à partir des graphes illustrés dans la figure 29, que l'extrait éthanolique *Verbascum sinuatum* présente une activité réductrice plus importante avec une DO maximale de 1.22 à la concentration de 600 $\mu\text{g/ml}$ par rapport aux autres extraits. L'extrait aqueux *Verbascum sinuatum* quant à lui présente un pouvoir antioxydant similaire à celui obtenu avec l'extrait aqueux de *Phlomis bovei*.

3.3. Capacité antioxydante totale (TAC)

Les différents extraits sont traités de la même façon que ceux des solutions standards de l'acide ascorbique. Nous avons tracé les courbes représentants la variation de la capacité antioxydante totale (TAC) exprimée en absorbance pour chacune des dilutions. On résume les résultats des tests dans la figure 30 :

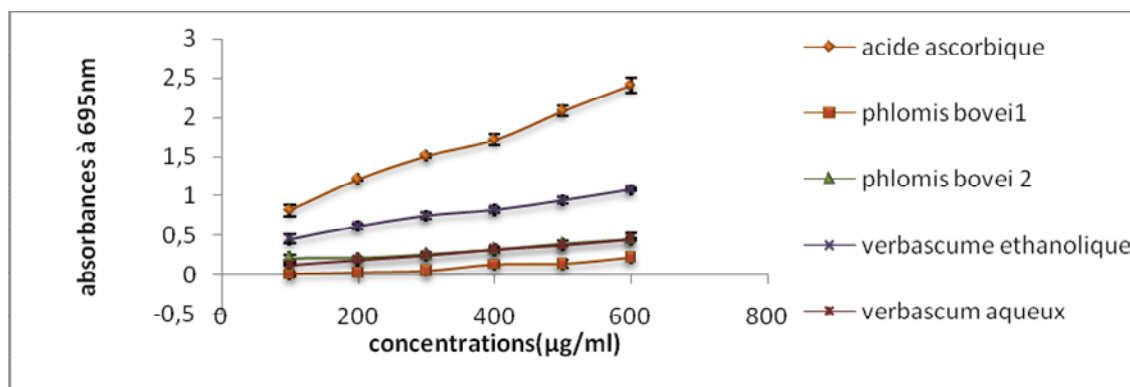


Figure 30 : Evaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits.

Il ressort des résultats trouvés, que l'extrait éthanolique de l'espèce *Verbascum sinuatum* est doté du plus fort pouvoir antioxydant avec une DO maximale =1.079 à la concentration de 600µg/ml par rapport à celle obtenue avec les autres extraits. On constate aussi que le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux issu des feuilles de *Phlomis bovei* est doté d'un pouvoir antioxydant pratiquement similaire à celui enregistré avec l'extrait aqueux de *Verbascum sinuatum*.

3.4. Activité anti inflammatoire

D'après les résultats précédemment obtenus dans le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, on constate que l'espèce *Verbascum sinuatum* présente une bonne activité anti-inflammatoire exprimée en pourcentage de protection qui est de 55% et qui est légèrement supérieure à celle retrouvé avec l'espèce *Phlomis bovei* dont le pourcentage est de 44%.

Cette différence de l'activité anti inflammatoire s'explique par l'origine des deux extraits qui sont issu à partir de deux espèces différentes *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* ainsi que par le taux de PPT. Ces résultats sont confirmés par l'analyse statistique effectuée par le test d'ANOVA (Annexe10) révélant une différence significative avec $p=0.000347$ ($p < 0.05$).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES :

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et ceci grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité de propriétés biologiques telles que les activités anti-oxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et anti-cancéreuse est liée aux vertus attribuées à une gamme de molécules bioactives synthétisées par la plante dont les polyphénols.

La famille des polyphénols renferme de nombreux composés très recherchés vu les effets secondaires et les séquelles néfastes des anti-oxydants de synthèse.

Dans cet axe l'objectif de notre étude est l'évaluation des propriétés anti-oxydante et anti-inflammatoire de deux plantes *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* qui sont largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde.

Dans la première partie, la quantification des polyphénols totaux (PPT) des différents extraits par le test colorimétrique de Folin-Ciocalteu nous montre que les extraits aqueux issus des pédoncules de *Phlomis bovei* et des feuilles de *Verbascum sinuatum* sont caractérisés par des teneurs élevées en PPT et qui sont respectivement de 786.15 ± 68.37 mg EAG/g ES et de 1014.35 ± 11.75 mg EAG/g ES.

Dans la deuxième partie, nous sommes intéressés par l'étude des propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires des deux plantes.

Le potentiel antioxydant a été confirmé par les méthodes de réduction de phosphomolybdate (TAC: Total Antioxidant Capacity) et celle de réduction des ions ferriques (FRAP: Ferric ion Reducing Antioxydant Parameter), ces tests ont montré que l'extrait éthanolique de l'espèce *Verbascum sinuatum* présente une meilleure activité antioxydante à la concentration 600 µg/ml et qui est estimée à 50% par rapport à celle de l'acide ascorbique qui est de 100% à la même concentration

L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine a montré que toutes les fractions présentent une bonne activité anti inflammatoire à la concentration de 600 µg/ml. Elle varie de 44% à 55% de protection contre 65% de protection en présence de l'aspirine à la même concentration.

Pour mieux cerner l'effet thérapeutique de ces plantes, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées:

- Appliquer d'autres tests antioxydants tel que le test de piégeage des radicaux libres (DPPH) pour avoir une indication plus affinée sur la capacité antioxydante de ces deux plantes;
- Identifier les classes de composés phénoliques impliquées dans les activités décrites ci-dessus;
- Evaluer les effets toxiques des différents extraits;
- Evaluer d'autres activités non seulement antioxydante et anti-inflammatoire, mais aussi anticancéreuse et antimicrobienne...etc ;
- Tester les différentes substances bioactives isolées *in vivo* afin d'enrichir ces résultats et de trouver une application thérapeutique à ces molécules actives.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- **AKROUM S. (2011).** Etude analytique et biologique des flavonoides naturels. Thèse doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ; Université Mentouri de Constantine, Algérie.
- **ALBALADEJO R.G., AGUILAR J.F., APARICIO A. et GONZALO N. (2005).** Contrasting nuclear-plastidial phylogenetic patterns in the recently diverged Iberian *Phlomis crinita* and *P. lychnitis* lineages (*Lamiaceae*). 54(4), 987-998.
- **AMIC D., DAVIDOVIC-AMIC D., BESLO D. et TRINAJSTIC N. (2003).** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *CroaticaChemica Acta*, **76** (1). 55-61.
- **ANDERSEN O.M. et MARKHAM K.R. (2005).** Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. Washington. CRC Press. 1254 p.
- **ARRIF Souad (2009).** Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre verbascum : *V. Ballii* et *V. Dentifolium* ; thèse de doctorat en sciences spécialité chimie université EL HADJ LAKHDAR. Batna, Algérie.
- **ARTS I C. et HOLLMAN P C. (2005).** Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 81(1):317-325.
- **ASSELIN P. (1872).** Botanique agricole et médicale ou étude des plantes qui intéressent principalement les médecins, Les vétérinaires et les agricultures. Page 569. Paris.
- **BAHORUN T., TROTIN F. et VASSEURT J. (1994).** Comparative polyphenolic productions in *Crataegus monogyna* callus cultures. *Phytochemistry*, 37(5).1273-6.
- **BAJAJ Y.P.S. (2012).** *Hygrophila erecta* in vitro culture and the production of verbascoside M.HENNY et al in. *Biotechnology in Agriculture and forestry* 21 Medicinal and aromatic plants IV. springer-verlag. Page 207. India.

- **BAPTISTE Jean et ANTOINE Pierre (1805).** Flore française ou description succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement 3^{ème} édition. Page 605. Paris.
- **BAPTISTE Jean et LAGER Saint (1884).** Recherches historiques sur les mots plantes males et plantes femelles. Page 37. Paris.
- **BARROS L., CARVALHO A.M. et FERREIRA ICFR. (2011).** Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochem Anal*, 122(2). 181-8.
- **BARROS L, DUEÑAS M, CARVALHO AM, FERREIRA ICFR. et SANTOS-BUELGA C. (2012).** Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. *Food Chem Toxicol*, 50(5). 1576-82.
- **BEN-AMOR ILEF L, BOUBAKER J, SGAIER M, SKANDRANI I, BHOURI W, NEFFATI A, KILANI S, BOUHLEL I, GHEDIRA K et CHEKIR-GHEDIRAL. (2009).** Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *Journal of Ethnopharmacology*. 125-202.
- **BOIZOT N. et CHARPENTIER J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. 79-82.
- **Botanique systématique des plantes à fleurs (2002).** 3^{eme} édition.
- **BOUAKAZ I. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*, Mémoire master, Batna.
- **BOUGANDOURA Nabila. et BENDIMERAD Nassima. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*. n° 09, Pages 14 à 19.

- **BOUKEF M.K. (1986).** Médecine Traditionnelle et pharmacopée. Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique. Paris, France.
- **BREEDVELD FC. (2000).** Therapeutic monoclonal antibodies. The Lancet. 355. 735-40.
- **BRUNETON J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 3e éd. Tec & Doc Lavoisier.1120. Paris.
- **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4e éd. Cachan: Tec & Doc. Lavoisier.
- **CANTINO P. D., HARLEY R. M. et WAGSTAFF S. J. (1992).** Genera and Classification. In Harrley, R.M. Reynolds,T. (eds) Advances in Labiate Science. Royal Botanic Gardens, Kew.511-522.
- **CASSIDY A., HANLEY B. et LAMUELA-RAVENTOS R.M. (2000).** Isoflavones, lignans and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health. J Sci Food Agric, 80(7). 1044-62.
- **CHANFORAN C. (2010).**Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate, Thèse de doctorat. Avignon: Institut national de la recherche agronomique. Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale. France.
- **CHEBIL L. (2006).** Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de Chemistry ; metabolism and structure-activity relationships. The journal of Nutritional Biochemistry. 13. 572-584.

- **CHEW Y.L., GOH J.K et LIM Y.Y. (2009).** Assessement of in vitro antioxydant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from leguminosae family in Peninsulæ Malaysia. *Food chemistry*, 116, 13-18.
- **CHEYNIER V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr*, 81(1). 223S-229S.
- **CHIRA K., SUH J.H., SAUCIER, C. et TERSCEDRE P.L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*.6. 75-82.
- **D'ARCHIVIO M., FILESI C., DI BENEDETTO R., GARGIULO R., GIOVANNINI C. et MASELLA R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann-Ist Super Sanita*, 43(4). 348-61.
- **DADI P K., AHMAD M. et AHMAD Z. (2009).** Inhibition of ATPase activity of *Escherichia coli* ATP synthase by polyphenols. *Int J Biol Macromol*, 45(1):72-9.
- **DAI J. et MUMPER R.J. (2010).** Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Properties. *Molécules*, 15(10). 7313-7352.
- **DICKO M.H., GRUPPEN H., TRAORE A.S., VORAGEN A.G.J. et BERKEL WJH VAN (2006).** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnol Mol Biol Rev*, 1(1). 20-37.
- **DROGE K.S. (2002).** Free radicals in physiological control of cell function. *Physiol.Rev.* 82. 47-95.
- **DUBOCHET J. J. (1850).** Histoire naturelle de PLINE, Tome 2. Page 185. Paris.
- **EDEAS M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*. 5, 264-270.

- **FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., BOURAOUI N. K., TRABELSI N., BOULAABA M. et ABDELLYC. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. C.R. Biologies. 331, 372-379.
- **FERDINAND Hoefer (1867).** Les saisons études de la nature. Page 319. Paris.
- **FIORUCCI S., GOLEBIOWSKI J., CABROL-BASS D. et ANTONCZAK S. (2007).** Study of Quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes. J Agric Food Chem, 55(3). 903-11.
- **FIRMIN DIDOT M. M. et FRERES. (1852).** Encyclopédie moderne dictionnaire abrégé des sciences, des lettres des arts, de l'industrie, de l'agriculture et du commerce, tome 25. Page 545. Paris.
- **FRAGA C.G. (2007).** Plant polyphenols: How to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. IUBMB Life, 59(4-5). 308-315.
- **FRANCHET M. A. (1868).** Essai sur les espèces du genre *verbascum*. Et plus particulièrement sur leur hybrides. , ANGERS, saint pierre, Tome XXII. page 65-204. Paris.
- **FROEHLICHER T., HENNEBELLE T., MARTIN-NIZARD F., CLEENEWERCK P., HILBERT J.L. et TROTIN F. (2009).** Phenolic profiles and antioxidative effects of Hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. Food Chem, 115(3). 897-903.
- **GEORGIEV Milen , ALIPIEVA Kalina, ORHAN Ilkay, ABRASHEVHEV Rodoslav, DENEV Petko et ANGELOVA Maria (2011).** Antioxydant and cholinesterases inhibitory activities of *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb. And its phenylethanoid glycosides, Food chemistry, volume 128 (1), 100-105, ISSN 0308- 8146.

- **GERMAI E. de saint pierre.** Nouveau dictionnaire de Botanique comprenant la description des familles naturelles les propriétés médicinales et les usages économiques des plantes la morphologie et la biologie des végétaux. Page 186.
- **GHEDADBA N., BOUSSELSA H., HAMBABA L., BENBIA S. et MOU-LOUD Y. (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare L.*, Phytothérapie © Springer-Verlag. Batna, Algérie.
- **GHEDIRA K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 3(4). 162-9.
- **GILLAN Yves (2000).** De bon usage des ressources renouvelables, Edition Amazane: Page 45. France.
- **GILGUN-SHERKI Y., MELAMED E. et OFFEN D. (2004).** The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. J Neurol, 251(3), 261-8.
- **GRESELE P., CERLETTI C., GUGLIELMINI G., PIGNATELLI P., GAETANO G. et VIOLI F. (2011).** Effects of Resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. J Nutr Biochem, 22(3). 201-11.
- **GUY Nesom L. (2012).** Flora of North America Verbascum Scrophulariaceae, taxon eds : Rabeler et Freeman, volume 17, 2-10.
- **GWEN J. Harden (1990).** Flora of New South Wales, volume 3. Page 566.
- **HABAUZIT V. et HORCAJADA M.N. (2008).** Phenolic phytochemicals and bone. Phytochem Rev, 7(2). 313-44.
- **HEIM E.K., TAGLIAFERRO A.R. et BOBILYA D.J. (2002).** Flavonoïdes antioxydants

- **HOFFMANN J.A., KAFATOS F.C. ET JANEWAY C.A. (1999).** Ezekowitz R.A.B. Science. 284. 1313-8.
Institut national polytechnique de LORRAINE.
- **JEAN-DENIS J.B.(2005).**Caractérisation de polyphénols stilbéniques et de dérivés induits ou constitutifs de la vigne impliqués dans sa défense contre l'agent pathogène du mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.). Thèse doctorat. Université de Neuchâtel. Suisse. Disponible sur: <https://doc.rero.ch/record/5615>
- **KABOUCHE A., KABOUCHE Z., SEGUIN E., TILLEQUIN F. et BRUNEAU C. (2005).** A phenylethanoid glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Lamiaceae). Biochemical Systematics and Ecology, 33(8). 813-816.
- **KARAMIAN Roya et GHASEMLOU Fatemeh (2013).** Total Phenolic Content, Antioxidant and Antibacterial Activities of Three Verbascum Species from Iran. Journal of Medicinal Plants and By-products.1, 43-51.
- **KARTHIK K., KUMAR B.R., PRIYA V.R., KUMAR S.K. et RATHORE R.S. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. J Res Pharm Biotechnol, 1 (5) pp. 729-730.
- **KATAYOUN M. S., MOHAMMED A., AFSANEH G. (2004).** The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. Flavour and Fragrance Journal, 19, 29–31.
- **KENING Y., VINCENZO D.L. et NOMAND B. (1995).** Creation of a metabolic Sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. The Plant Cell. 7. 1787-1799.
- **LAFAY S. et GIL-IZQUIERDO A. (2008).**Bioavailability of phenolic acids. Phytochem Rev. 7(2). 301.

- **LENOIR L. (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse doctorat. Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I; France. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00719693/document>
- **LIM X., SHANG X. F., JIA Z. P. et ZHANG R. X. (2010).** Phytochemistry and biological studies of plants from the genus *Phlomis*. *Chemistry and Biodiversity*. 7. 283-301.
- **LINK A., BALAGUER F. et GOEL A. (2010).** Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochem Pharmacol*, 80(12):1771-92.
- **LIOLIOS C., LAOUER H., BOULAACHEB N., GORTZI O. et CHINOUI I. (2007).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Algerian *Phlomis bovei* De Noe subsp. *Bovei*, *Molecules*, 12, 772–781.
- **MACHEIX J.J., FLEURIET A. et SARNI-MANCHADO P. (2005).** Les composés phénoliques dans la plante : structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: Cheynier V, Sarni-Manchado P *Les polyphénols en agroalimentaire*. Tec & Doc Lavoisier. Paris.
- **MACHEIX Jean Jacques, Annie Fleuriot CHRISTIAN et JAY-Allemand (2005),** Les composés phénoliques des Végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique *Presse Polytechniques et universitaires Romandes*. Page VII (1-181)
- **MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., REMESY C. et JIMENEZ L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 79(5). 727-47.
- **MARFAK A. 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides, Thèse de doctorat, Limoges.
- **MARTIN S. et ANDRIANTSITOHAINA R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie*. 51, 304-315.

- **MEDDOUR R. (2009).** La Flore Médicinale et ses Usages Actuels en Kabylie (wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie) : Quelques Résultats d'une Etude Ethnobotanique. *Revue des Régions Arides*, n° Spécial, pp. 181-201. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri. Tizi Ouzou, Algérie.
- **MENVIELLE-BOURG F.J. (2005).** La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*. 118-121.
- **MERGHEN R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Editions Bohaeddine. p111-123. Alger
- **MIHAILAVIC Vladimir., KREFT Samo., BENKOVIC Eva Tavcar., IVANOVIC Nevena. et STANKOVIC Milans. (2016).** Chemical profile, antioxidant activity and stability in stimulated gastro intestind tract model system of three verbascum species, industrial crops and products, Elsevier. 89, 141-151.
- **MOUALEK I., IRATNI A G., MESTAR GUECHAOUI N., LAHCENE S. et HOUALI K. (2016).**Antioxidant and anti-inflammatory activities of Arbutus unedo aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11): 937–944.
- **NIKOLOV N., DELLAMONIC G. et CHOPIN J. (1981).** Di-C-glycosyl-flavones from Crataegus monogyna. *Phytochemistry*,20(12). 2780-1.
- **PAUN Gabriela., NEAGU Elena., ALBU Camelia. et LUCIAN RADU Gabriel. (2016).** Vebascum phlomoides and solidago virgaureae herbs as natural source for preventing neurodegenerative diseases. *Journal of Herbal Medicine*, n° 146, page 7.
- **POLETTI A. (1988).** Fleurs et plantes médicinales, 2ème Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel Suisse.

- **PRIETO P., PINEDA M. et AGUILAR M.M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Anal Biochem.* 269. 337-341.
- **RAVEN et al (2017).** Biologie, 4^{ème} édition de Boeck supérieur. page 860.
- **ROBARDS K., PRENZLER P.D., TUCKER G., SWATSITANG P. et GLOVER W. (1999).** Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66(4). 401-36.
- **ROBERTIS E D P. et ROBERTIS E M F. (1983).** Biologie cellulaire et moléculaire. Laval Presse Univers. Québec. P758.
- **ROHR G.E., MEIER B. et STICHER O. (1999).** Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of procyanidins in *Crataegus* leaves and flowers. *J Chromatogr A*, 835(1-2). 59-65.
- **ROMBI M. et ROBERT D. (2009).** 120 plantes médicinales, compositions, mode d'action et intérêt thérapeutique. Monaco: Alpen éditions. 528 p.
- **SACHIN S., JUVEKAR R. et MANOJ N GAMBHIRE. (2009).** In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 2.
- **SARIKURKCU C., CEMIL UREN M., TEPE B., CENGİZ M. ET SEFA KOCAK M. (2015).** *Phlomis armeniaca*: Phenolic compounds, enzyme inhibitory and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 78: 95–101.
- **SENATORE Felice., RIGANO Daniela., FORMISANO Carmen., GRASSIA Armando., BASILE Adriana. et SORBO Sergio. (2007).** Phyto-growth-inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum*, *Fitoterapia*. Elsevier. 78, 244-247.
- **SERVAIS Pascal et SEBA Pierre (2017).** Tilo botanica flore du Tilos et du Dodécannèse, 2^{ème} ed, Attert Belgique.

- **SINGLETON V.L. et ROSSI J.A. (1965).**Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres.J. Applied Microbiol. 91. 1011-1022.
- **SÖKMEN B.B., AYDIN S. et KINALIOGLU K. (2012).** Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus*(Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology*, 71 (1). 43-51.
- **TAPAS A.R., SAKARKAR D.M. et KAKDE R.B. (2008).** Flavonoids as nutraceuticals: A review. *Trop J Pharm Res*, 7(3). 1089-99.
- **TATLI Irem I., AKDERMIR Zeliha S. (2004).** Chemical constituents of verbascum L. Species, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 29. 93-107.
- **TATLI Irem I. et AKDERMIR Zeliha S. (2006).**Traditional Uses and Biological Activities of Verbascum Species, *FABAD J. Pharm. Sci.* 31, 85-96.
- **TIWARI A.K. (2001).** Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*,81(9). 1179-1181.
- **VELA Errol, PAVON Daniel, GIRAUD Robert, DESTEFANO Monique et SAATKAMP Arne (2001).** Liste des plantes vasculaires du site classé des calanques. (Marseille, cassis, Bouches-du-rhone), *bull. Soc. Linn. Provence*. T 52. 139-148. ISSN 0373- 0875. Marseille, France.
- **VISIOLI F., BORSANI L. et GALLI C. (2000).** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovasc Res*, 47(3). 419-25.
- **WAKSMUNDZKA-HAJNOS M. et SHERMA J. (2011).** High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. *Chromatogr. Sci Ser.*477-87.

- **WIHELMINA FEEMSTER JASHAMSKI. (1999).** Apampeian herbal, ancient and modern medicinal plants, 1^{ère} édition, University Texas. Page 35.
- **WILLIAN G., HOPKIN S. (2003).** Physiologie végétale De Boeck. 92- 505. France.
- **YESILADA E. et GÛRBÛZ I. (2002).**A compilation of the studies on anti-ulcerogenic effects of medicinal plants. Recent progress in medicinal Plants, Vol. II, In: S. Singh,V.K. Singh, J.N. Govil. Ed. Phytochemistry and Pharmacology, SCI TechPublishing LLC, pp. 111-124. Houston, Texas.
- **ZHANG Y. et WANG Z.Z. (2008).**Comparative analysis of essential oil components of three *Phlomis* species in Qinling Mountains of China. J. Pharmaceut. Bio-med.Anal.47. 213-217.

Annexes

Annexe 01 : Les moyennes des densités optiques et les teneurs en polyphénols totaux de nos extraits végétaux

extraits	Concentrations (µg/ml)	Moyennes des densités optiques	Teneur en poly-phénos totaux (mg EAG/g ES)	Teneur moyenne en polyphénols totaux (mg EAG/g ES)
Phlomis 1	100	1.484 1.316 1.354	863.07 732.31 763.07	786.15±68.37
Phlomis 2	100	0.422 0.442 0.433	49.23 64.61 57.69	57.17±7.70
Verbascum aqueux	100	1.692 1.680 1.664	1024.61 1016.92 1001.53	1014.35±11.75
Verbascum ethanolique	100	0.517 0.518 0.516	116.92 123.08 121.53	120.51±3.21

Annexe 02 : Moyennes des densités optiques des différentes dilutions de nos extraits végétaux ainsi que ceux de l'acide ascorbique obtenus par le test TAC.

Concentrations (µg/ml)	acide ascorbique	phlomis 2	Phlomis 1	Verbascum aqueux	verbascum ethanolique
100	0,816±0.069	0,237±0.026	0,01±0.073	0,134±0.013	0,454±0.056
200	1,213±0.0115	0,221±0.008	0,036±0.066	0,193±0.004	0,617±0.033
300	1,509±0.028	0,266±0.031	0,056±0.009	0,25±0.009	0,751±0.047
400	1,719±0.075	0,323±0.032	0,137±0.019	0,324±0.015	0,823±0.035
500	2,081±0.063	0,397±0.037	0,145±0.041	0,378±0.011	0,944±0.033
600	2,409±0.096	0,452±0.079	0,224±0.005	0,453±0.009	1,079±0.018

Annexe 03 : Pourcentages du test TAC obtenus avec les différentes dilutions de nos extraits végétaux ainsi que ceux de l'acide ascorbique

Concentrations (µg/ml)	Acide ascorbique (%)	Phlomis 1 (%)	Phlomis 2 (%)	Vebascum aqueux (%)	Verbascum ethanolique (%)
100	33.87	0.16	9.80	5.50	18.84
200	50.35	1.50	9.17	8.01	25.61
300	62.64	2.32	11.04	10.37	31.17
400	71.35	5.68	13.41	13.44	34.16
500	86.38	6.01	16.85	15.69	39.18
600	100	9.30	18.76	18.80	44.79

Annexe 04 : Moyennes des densités optiques des différentes dilutions de nos extraits végétaux ainsi que ceux de l'acide ascorbique obtenus par le test FRAP

Concentrations (µg/ml)	acide ascorbique	phlomis 1	phlomis 2	Verbascum aqueux	verbascum ethanolique
100	1,693±0.014	0,159±0.008	0,133±0.015	0,184±0.029	0,3±0.039
200	1,977±0.115	0,21±0.017	0,189±0.023	0,224±0.032	0,372±0.005
300	2,036±0.101	0,285±0.051	0,265±0.006	0,319±0.058	0,701±0.017
400	2,087±0.118	0,391±0.018	0,357±0.032	0,458±0.008	0,952±0.035
500	2,214±0.205	0,438±0.015	0,445±0.043	0,567±0.017	1,075±0.042
600	2,318±0.173	0,503±0.021	0,5±0.033	0,662±0.038	1,22±0.063

Annexe 05 : Pourcentages du test FRAP obtenus avec les différentes dilutions de nos extraits végétaux ainsi que ceux de l'acide ascorbique

Concentrations (µg/ml)	Acide ascorbique (%)	Phlomis 1 (%)	Phlomis 2 (%)	Vebascum aqueux (%)	Verbascum ethanolique (%)
100	73.03	6.85	5.73	7.93	12.94
200	85.28	9.05	8.15	9.66	16.04
300	87.83	12.29	11.43	13.76	30.24
400	90.03	16.86	15.40	19.75	41.06
500	95.51	18.89	19.19	23.55	46.37
600	100	22.08	21.57	28.55	52.63

Annexe 06 : Les densités optiques et les pourcentages de protection contre la dénaturation thermique de l'albumine des différentes dilutions de nos extraits végétaux.

	Phlomis 1		Phlomis 2	
concentration	densités optiques	% de protection	densités optiques	%de protection
100 (µg/ml)	0.281/0.286/0.293	30.68%±0.006	0.084/0.087/0.078	14.43%±0.005
200(µg/ml)	0.114/0.197/0.218	42.51%±0.056	0.077/0.059/0.075	27.83%±0.01
400(µg/ml)	0.23/0.254/0.193	45.4%±0.031	0.065/0.056/0.076	32.30%±0.01
600(µg/ml)	0.183/0.186/0.193	54.83%±0.005	0.053/0.058/0.051	44.32%±0.003

	Verbascum Aqueux		Verbascum Ethanolicque	
	densités optiques	%de protection	densités optiques	%de protection
100(µg/ml)	0.308/0.274/0.342	25.6%±0.034	0.317/0.338/0.306	22.70%±0.016
200(µg/ml)	0.355/0.242/0.162	38.9%±0.097	0.304/0.294/0.320	26.08%±0.013
400(µg/ml)	0.302/0.188/0.243	40.9%±0.057	0.246/0.276/0.422	38.64%±0.039
600(µg/ml)	0.192/0.181/0.187	54.9%±0.006	0.221/0.183/0.188	51.93%±0.021

Annexe 07 : Test ANOVA démontrant les paramètres influençant sur la teneur en polyphénols totaux

Tests Univariés de Significativité pour DO (Feuille de données3) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse						
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	2934927	1	2934927	2404,804	0,000000	
plante	63745	1	63745	52,231	0,000090	
type	1975150	1	1975150	1618,388	0,000000	
plante*type	20387	1	20387	16,704	0,003500	
Erreur	9764	8	1220			

Annexe 08 : Test ANOVA démontrant les paramètres influençant sur le pouvoir réducteur Ferrique (FRAP)

Tests Univariés de Significativité pour DO (Feuille de données4) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse						
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	5,030673	1	5,030673	4141,608	0,000000	
plante	0,429873	1	0,429873	353,902	0,000000	
type	0,156171	1	0,156171	128,571	0,000000	
dose	1,667428	1	1,667428	1372,745	0,000000	
plante*type	0,184451	1	0,184451	151,853	0,000000	
plante*dose	0,177160	1	0,177160	145,851	0,000000	
type*dose	0,080968	1	0,080968	66,659	0,000000	
plante*type*dose	0,065940	1	0,065940	54,287	0,000002	
Erreur	0,019435	16	0,001215			

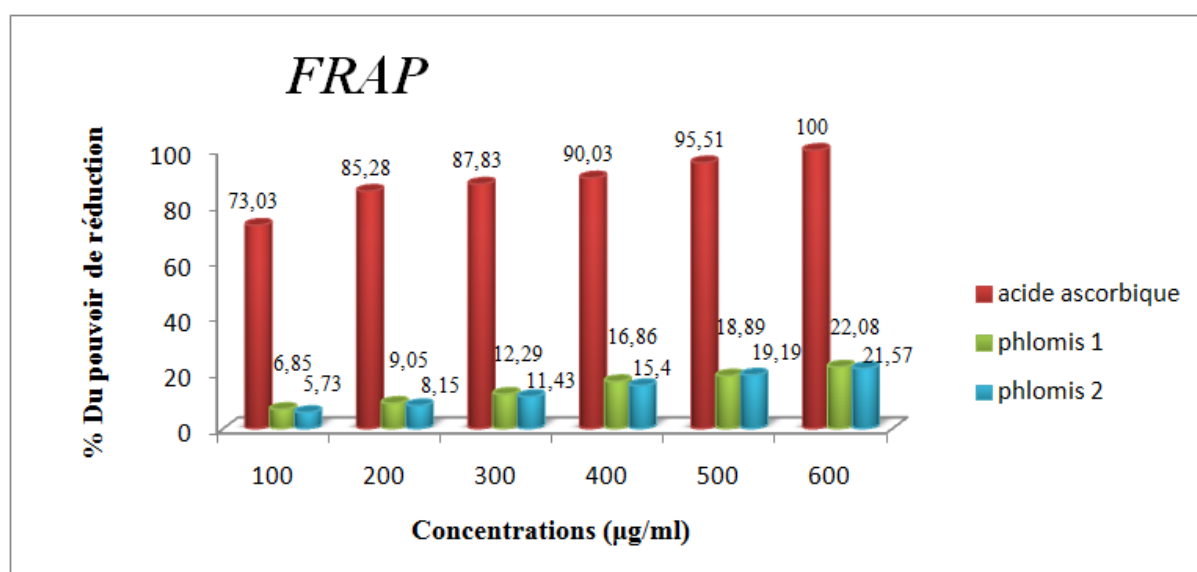
Annexe 09 : Test ANOVA démontrant les paramètres influençant sur la capacité antioxydante (TAC)

Effet	Tests Univariés de Significativité pour DO (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	3,582083	1	3,582083	2500,654	0,000000	
plante	0,498240	1	0,498240	347,822	0,000000	
type	0,108811	1	0,108811	75,961	0,000000	
dose	0,662008	1	0,662008	462,148	0,000000	
plante*type	0,687493	1	0,687493	479,940	0,000000	
plante*dose	0,117041	1	0,117041	81,706	0,000000	
type*dose	0,025220	1	0,025220	17,606	0,000684	
plante*type*dose	0,047171	1	0,047171	32,930	0,000031	
Erreur	0,022919	16	0,001432			

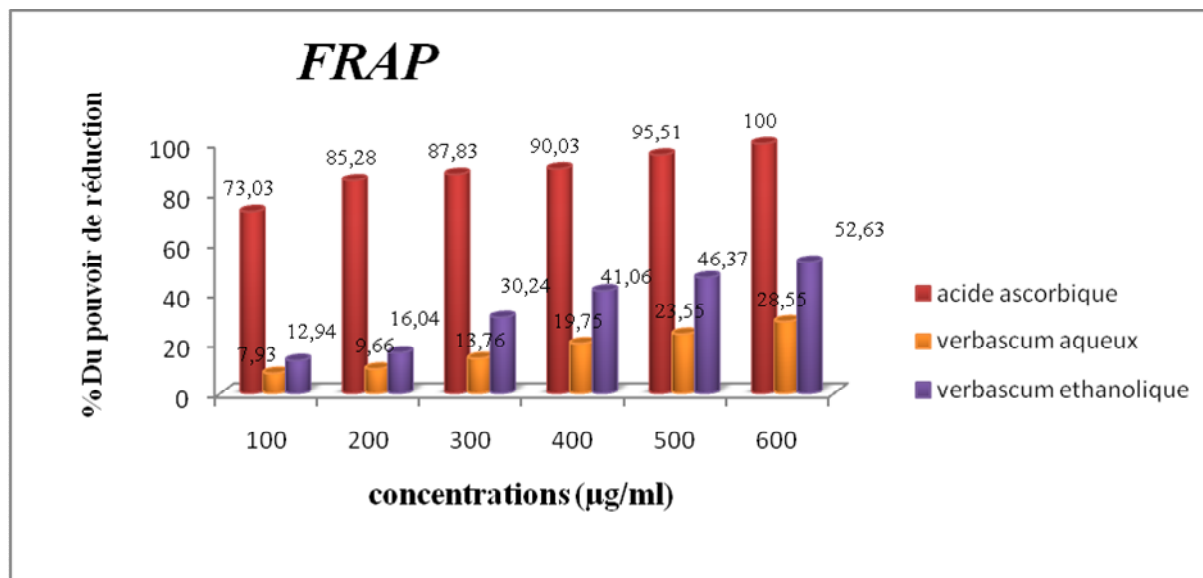
Annexe 10 : Test ANOVA démontrant les paramètres influençant sur la denaturation des thermique de l'albumine

Effet	Tests Univariés de Significativité pour do (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	0,988204	1	0,988204	4005,556	0,000000	
plante	0,060401	1	0,060401	244,826	0,000000	
type	0,036973	1	0,036973	149,867	0,000000	
dose	0,052080	1	0,052080	211,100	0,000000	
plante*type	0,048600	1	0,048600	196,994	0,000000	
plante*dose	0,005046	1	0,005046	20,453	0,000347	
type*dose	0,001768	1	0,001768	7,167	0,016528	
plante*type*dose	0,001944	1	0,001944	7,880	0,012655	
Erreur	0,003947	16	0,000247			

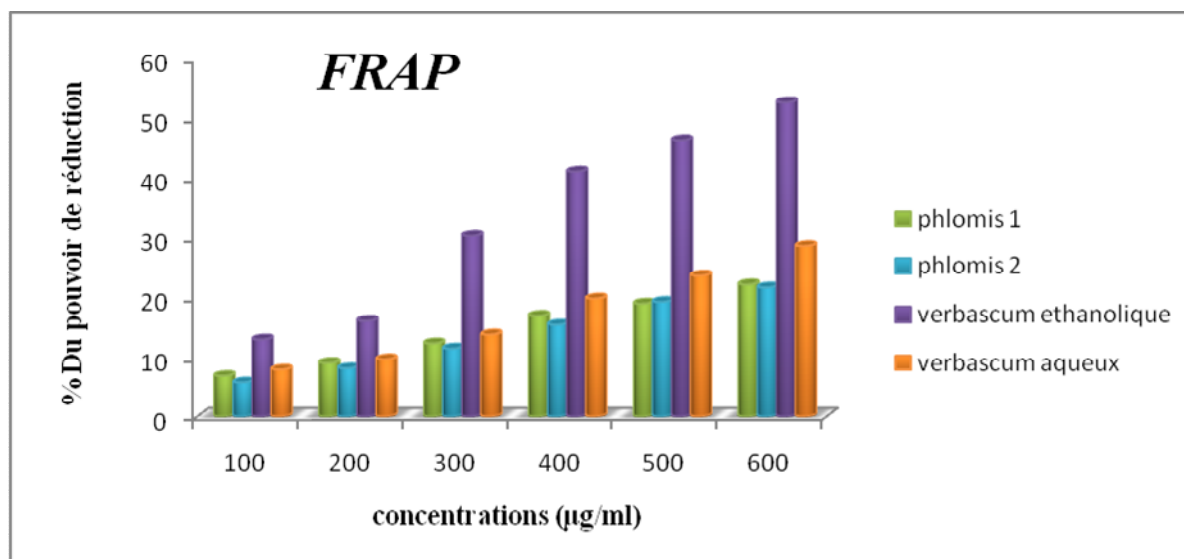
Annexe 11 : Résultats du test FRAP de l'acide ascorbique et des extraits de *Phlomis bovie* exprimées en %



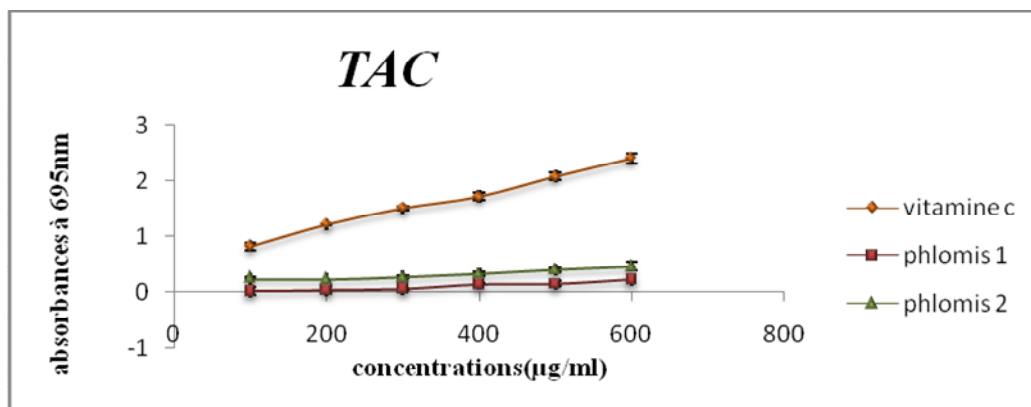
Annexe 12 : Résultats du test FRAP de l'acide ascorbique et des extraits de *Verbascum sinuatum* exprimées en %



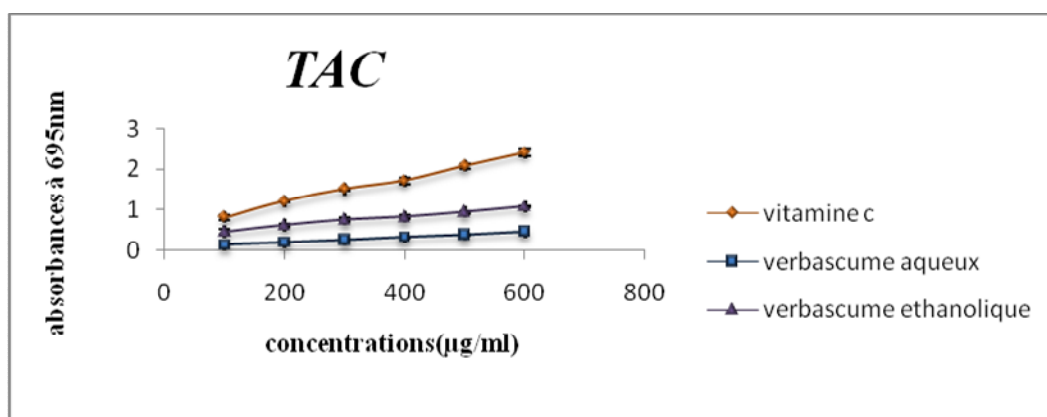
Annexe 13 : Résultats du test FRAP des extraits de *Phlomis bovie* et de *Verbascum sinuatum* exprimées en %



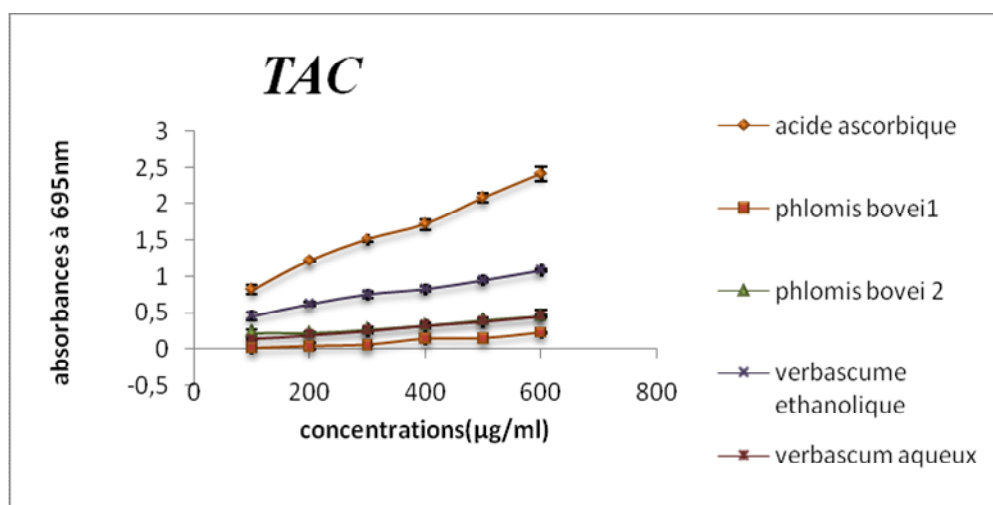
Annexe 14 : Résultats du test TAC de l'acide ascorbique et des extraits de *Phlomis bovie*.



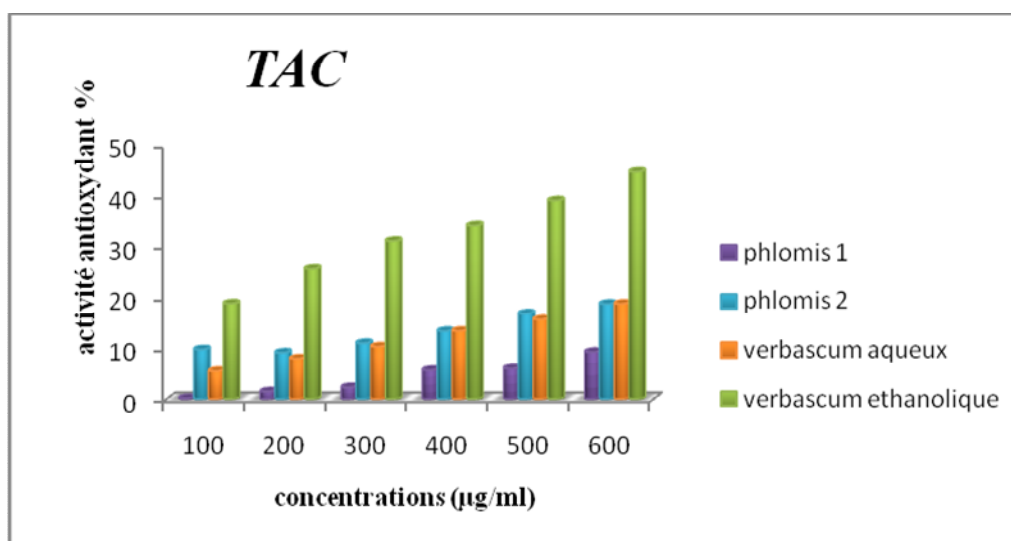
Annexe 15 : Résultats du test TAC de l'acide ascorbique et des extraits de *Verbascum sinuatum*.



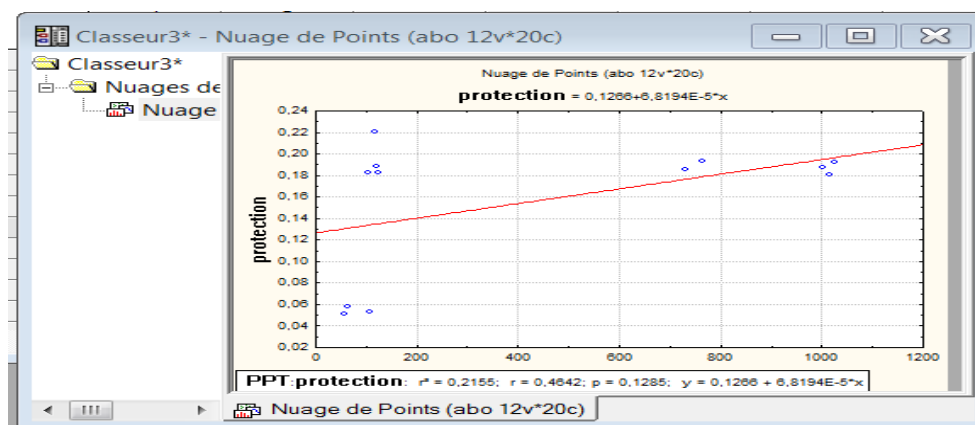
Annexe 16 : Résultats du test TAC des extraits de *Phlomis bovie* et de *Verbascum sinuatum*



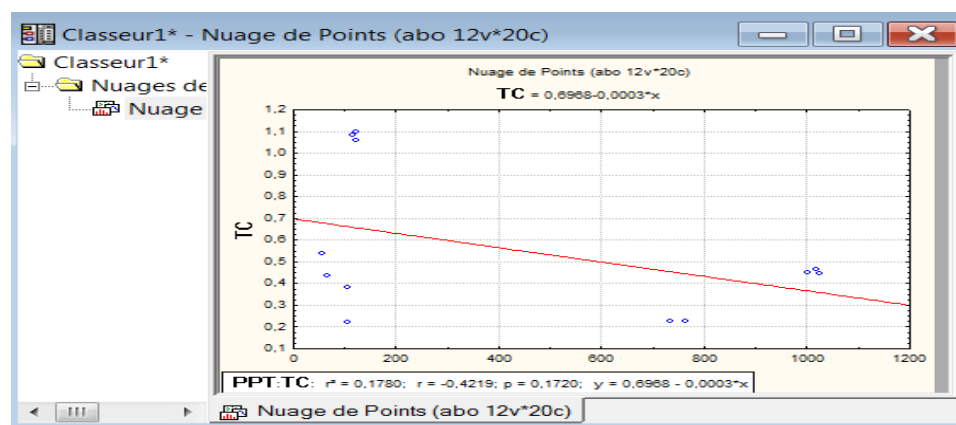
Annexe 17 : Résultats du test TAC des extraits de *Phlomis bovie* et de *Verbascum sinuatum*



Annexe 18 : Test de corrélation entre la teneur en ppt et la pourcentage de protection contre denaturation thermique de l'albumine, traité par le logiciel statistica



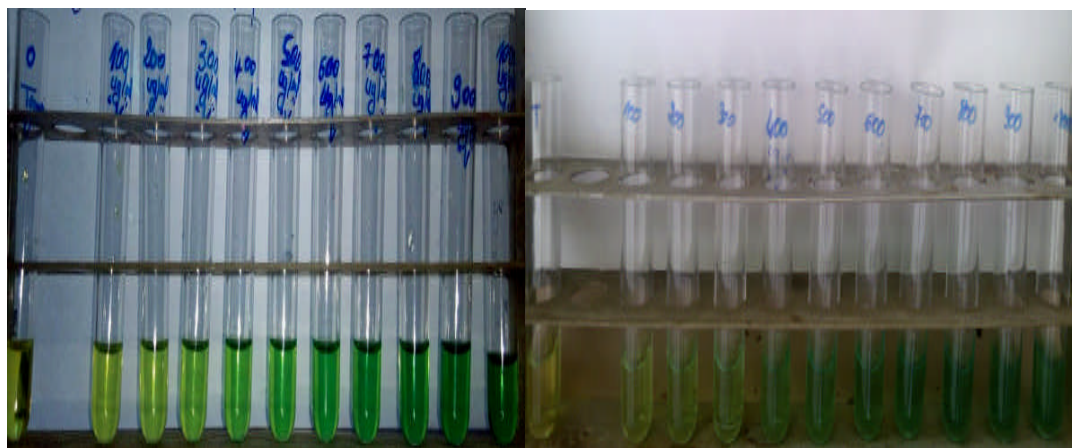
Annexe 19 : Test de corrélation traité par statistica entre la teneur PPT et TAC.



Annexe 20 : Photos de dosage des PPT de extrait verbascum ethanolique.



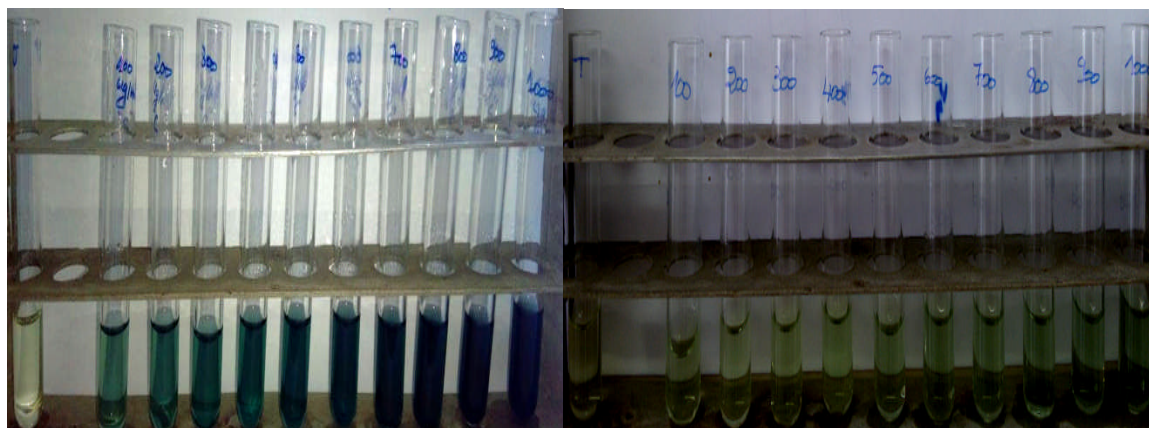
Annexe 21 : Photos de la réaction de réduction de fer de deux extraits : verbascum aqueux et phlomis 2.



FRAP verbascum aqueux

FRAP de l'extrait aqueux phlomis 2

Annexe 22 : Photos du test TAC de l'acide ascorbique et un de nos extraits : *Verbascum aqueux*.



TAC : acide ascorbique

TAC : extrait verbascum ethanolique

Résumé

Phlomis bovei de la famille des Lamiaceae, connu sous le nom de khayat el adjrah ; *Verbascum sinuatum* de la famille des Scrophulariacées, connu sous le nom de wdan lahmar, largement utilisées en médecine traditionnelle comme cicatrisant et pour traiter les problèmes respiratoires. Dans ce contexte, cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire des extraits bruts obtenus des deux espèces. Deux extraits aqueux ont été obtenus à partir des pédoncules et des feuilles séchées de *phlomis bovei* ; les deux autres, aqueux et éthanolique, ont été obtenus à partir des feuilles séchées de *verbascum sinuatum*.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux (PPT) par la méthode colorimétrique a montré que les extraits issus des pédoncules de *Phlomis* et de feuilles de *Verbascum*, sont caractérisés par des teneurs remarquablement élevées en PPT, celles-ci sont respectivement de 786.15 ± 68.37 mg équivalent acide gallique /g extrait sec et de 1014.35 ± 11.75 mg équivalent acide gallique /g extrait sec. L'évaluation de l'activité anti-oxydante des différents extraits, a montré que l'extrait éthanolique de *Verbascum sinuatum*, présente une meilleure activité à la concentration 600 µg/ml, et qui est estimée à 50% par rapport à celle de l'acide ascorbique qui est de 100% à la même concentration.

Cette étude a également montré que toutes les fractions présentent une bonne activité anti-inflammatoire, à la concentration de 600 µg/ml. Elle varie de 44% à 55% de protection de l'albumine contre 65% pour l'aspirine à la même concentration.

Mots clés: *Phlomis* ; *Verbascum* ; polyphénols ; activité antioxydante; activité anti-inflammatoire.

Abstract

Phlomis bovei of the Lamiaceae family, known as khayat el adjrah; *Verbascum sinuatum* of the family Scrophulariaceae, known as wdan lahmar, widely used in traditional medicine as healing and to treat respiratory problems. In this context, this study aims to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of the crude extracts obtained from the two species. Two aqueous extracts were obtained from the peduncles and dried leaves of *Phlomis bovei*; the other two, aqueous and ethanolic, were obtained from the dried leaves of *Verbascum sinuatum*.

Quantitative estimation of the total polyphenols (TPP) by the colorimetric method showed that the extracts from the *Phlomis* and *Verbascum* leaf stalks were characterized by remarkably high TPP contents respectively of (786.15 ± 68.37) mg gallic acid equivalent /g of extract and (1014.35 ± 11.75) mg gallic acid equivalent /g of extract. The evaluation of the antioxidant activity of the various extracts showed that the ethanolic extract of *Verbascum sinuatum* exhibits better activity at the concentration of 600 µg/ml and is estimated at 50% relative to that of ascorbic acid which is 100% at the same concentration.

This study also showed that all the fractions exhibit good anti-inflammatory activity, at the concentration of 600 µg / ml. It varies from 44% to 55% of albumin protection against 65% of protection in the presence of aspirin at the same concentration.

Keywords: *Phlomis*; *Verbascum*; polyphenols; antioxidant activity; anti-inflammatory activity