



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Ikram TORCHI et Randa MEITAH

Le : mercredi 30 septembre 2020

Thème

**l'effet du solvant et la méthode d'extraction sur
l'activité antioxydante d'*Inula viscosa* et
*Mentha rotundifolia***

Jury :

Titre	Lamia Boudjedjou	Grade	Université de Biskra	Président
Titre	Yamina Bouatrous	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Titre	Hayat Trabsa	Grade	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





Remerciements

Dieu le tout puissant, le très miséricordieux et à son prophète (paix et salut sur lui) ; pour nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience de mener à bien ce travail. Et qui nous a éclairé les chemins par la lumière de son immense.

Nos remerciements vont également :

À Madame la Docteur Bouatrous Yamina

Vous nous avez guidés tout au long de l'étude qui n'aurait pu être réalisée sans votre disponibilité et votre précieuse aide. Nous espérons que vous serez satisfait de ce travail et nous vous exprimons notre profonde reconnaissance.

Et pour finir

Nous tenons à remercier toutes les personnes aux quels nous pensons sans les citer, et toutes les personnes que nous avons dû oublier, toutes personnes ayant contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.





Dédicaces

Grâce à la bonne volonté, l'acharnement, Dieu tout puissant m'a donné la force et le courage pour la réalisation de ce travail que je dédie :

*Amon très cher papa **TORCHI MESSOUD** pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien, ses sacrifices et toutes les valeurs qu'il a su m'inculquer, je prie Dieu tout puissant de le garder dans son vaste Paradis.*

*Pour ma chère maman **TORCHI DJAHIDA** je suis à jamais reconnaissante pour tes multiples encouragements et marques de soutien tu as été présente à mes côtés tout au long de mon cursus universitaire. Je pris Dieu tout puissant de te prêter une longue vie et bonne santé.*

*A mes très chers frères et sœurs : **Islam, Abdo Rrahmane, Abo Baker, Omar al Farouk et Balkise***

*A toute ma famille, mes chers grands parents, tantes, en particulier **Ayach TORCHI, Soumia TORCHI,** oncles.*

*A ma belle professeure **Sara MECMHALE** et **Wraida HADOUCHE**.*



Dédicaces

Avec tout respect et amour je dédie ce modeste travail

À mes chers parents :

Mon père Meitah Omar et ma mère Nacira

Qui m'ont soutenue et encouragée durant ces années d'étude et pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué, avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

À mes chers frères et chères sœurs

Pour tout leur soutien moral et leur amour et affection, et pour me motiver à avoir autant de succès et de réussite.

A Negrichi Mabrouka

Table des matières

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	1

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales

I.1. Présentation de la plante <i>Inula viscosa</i>	3
I.1.1. Généralité.....	3
I.1.2. Description botanique.....	3
I.1.3. Taxonomie.....	4
I.1.4. Nom vernaculaire.....	4
I.1.5. Répartition géographique.....	4
I.1.6. Utilisation traditionnel.....	4
I.2. Présentation de la plante <i>Mentha Rotundifolia</i>	5
I.2.1. Généralité.....	5
I.2.2. Description botanique.....	5
I.2.3. Taxonomie.....	6
I.2.4. Nom vernaculaire :.....	6
I.2.5. Répartition géographique.....	7
I.2.6. Utilisation traditionnelle de <i>Mentha rotundifolia</i>	7

Chapitre II : Les composés phénoliques et l'activité antioxydante

II.1. Les métabolismes secondaires	8
II.1.1. Généralités.....	8
II.1.2. Les composés phénoliques	8
II.2. Activité biologiques de poly phénols.....	8
II.3. Stress oxydant.....	9
II.3.1. Radicaux libres	9
II.3.1.1. Principaux radicaux libres	10
II.3.2. Origine de stress oxydative	10
II.3.2.1. Radicaux libres oxygènes (ROS)	10
II.3.2.2. Radicaux libre azote (RNS).....	11
II.3.3. Les conséquences du stress oxydant :	11
II.4. Les antioxydants.....	11
II.4.1. Un système enzymatique	11
II.4.2. Un Système non enzymatique.....	12

Partie Expérimental

Chapitre III : Matériels & Méthodes

Objectif.....	13
III.1. Matériel utilisé	13
III.1.1. Matériel végétal	13
III.1.1.1. Présentation de la région	13
III.1.2. Réactifs et appareillages	14
III.2. Méthodes.....	14
III.2.1. Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes	14

III.2.1.1. Macération	14
III.2.1.2. Montage à reflux.....	15
III.2.2. Extraction	15
III.2.2.1. Calcul des rendements	18
III.2.3. Dosage des composés phénoliques	18
III.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	18

Chapitre IV : Résultats & Discussion

IV.1. Détermination des rendements des extraits des deux plants	19
IV.1.1. Rendement d'extraction par montage à reflux.....	19
IV.1.2. Rendement d'extraction par macération	20
IV.2. Dosage des polyphénols et flavoniodes totaux	21
IV.2.1. Résultats de l'étude de Dosage des polyphénols totaux	21
IV.3. La teneur des polyphénols et des flavoniodes de <i>Inula viscosa</i>	21
IV.3.1. La teneur des polyphénols	21
IV.3.2. La teneur des flavonoïdes	22
IV.4. Le teneur de polyphénol et les flavonoïdes de <i>Mentha rotundifolia</i>	23
IV.5. Résultat d'activité antioxydante d' <i>Inula viscosa</i>	25
IV.6. Résultats de l'activité antioxydant de <i>Mentha rotundifolia</i>	26
Conclusion.....	28
Bibliographie	29

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote	10
Tableau 2 : Représentation des appareillages, réactifs et d'autres matériaux.....	14
Tableau 3 : Caractéristique d'extraits alcoolique de plante étudiée.	21
Tableau 4 : Caractéristique d'extraits alcoolique de plante étudiée.....	21
Tableau 5 : Absorbance en fonction des différentes concentrations de l'acide gallique..	23
Tableau 6 :Teneurs en polyphénols des extrait de <i>L'Inula viscosa</i>.....	24
Tableau 7 : La teneur des flavoniodes d'<i>Inula viscosa</i>	25
Tableau 8 : activité antioxydant représentées par IC50 et teneurs en polyphénols des extraits de inula viscosa préparé par soxhlet.....	28
Tableau 9 : Le ouvier d'inhibition IC50 (µg/ml) des fifférent extraits de <i>Mentha rotundifolia</i>.	29

Liste des figures

Figure 1 : <i>Inula viscosa</i> .	3
Figure 2 : <i>Mentha rotundifolia</i>	6
Figure 3 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et radicaux libres.	9
Figure 4 : Principaux systèmes enzymatiques antioxydant impliqué dans le contrôle de ROS.	12
Figure 5 : Montage à reflux	16
Figure 6 : Méthode d'extraction par macération	16
Figure 7 : Montage à reflux	17
Figure 8 : Photographie de rotavapeur	17
Figure 9 : Schéma illustrant la démarche expérimental suivie dans cette étude Matériel	18
Figure 10 : Représentation graphique de rendement des extraits des deux plantes par montage à reflux	22
Figure 11 : Représentation graphique de rendement des extraits des deux plantes par macération.	22
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	Erreur ! Signet non défini.23

Liste des abréviations

%: pourcentage

°C: degré Celsius

Abs: Absorbance.

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

CAT : catalase

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EC50 : Concentration Effective à 50%

EQ : équivalent de quercétine

EqAG : équivalent d'acide galique

ERN: Espèces réactives d'azote

ERO: Espèces réactives d'oxygène

GPx : glutathion peroxydase

HO• : radical hydroxyle

I % : pourcentage d'inhibition

I. viscosa : *Inula viscosa*

IC50: inhibitrice concentration à 50 %.

M. rotundifolia : *Mentha rotundifolia*

R : Rendement

RL: radical libre

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SOD : Superoxyde dismutase

UV : ultraviolet

Introduction

Introduction

L'histoire de la médecine à base des plantes a été connue depuis l'antiquité. Les plantes médicinales représentent une source importante de substances chimiques complexes qu'on peut classer en plusieurs grands groupes parmi eux, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les terpènes et les stéroïdes et les alcaloïdes (Krief, 2003), et qui sont, de plus en plus présents dans plusieurs domaines, soit en agro-alimentaire, cosmétique et thérapeutiques (El Haib, 2001), en raison de leur utilisation dans le traitement de certaines maladies, notamment dans les problèmes de santé les plus fréquents comme l'inflammation, qu'est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions (Cheritia *et al.*, 2016).

Actuellement, un grand intérêt est porté à l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales dans le cadre de soins de santé car elle est considérée comme une source potentielle de molécules naturelle bioactive. Toutefois, cette utilisation demeure informelle en Algérie pour deux raisons. La première a trait à l'absence d'un cadre juridico-réglementaire encadrant utilisation des plantes médicinales traditionnelle et la phytothérapie. La seconde raison est l'absence d'éléments scientifique validant l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales traditionnelles.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche avec 3000 espèces appartenant à plusieurs plantes et parmi d'eux il y a : la plante d'*Inula viscosa* de la famille des Asteraceae et plante de *Mentha rotundifolia* de la famille Lamiaceae, et la raison du choix ces deux espèces est qu'elles sont toutes les deux endémiques et riches en composés phénoliques notamment les flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale, est une étape très importante dans leurs identifications. En conséquence, les différentes méthodes d'extraction ont une influence sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale. Des méthodes dites traditionnelles, comme par macération et extraction par montage à reflux qui est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction (Handa *et al.*, 2008), étaient jusqu'ici considérées comme techniques de choix pour extraire les composés naturels

L'objectif de notre travail est l'étude de l'effet de la méthode d'extraction et le solvant d'extraction (éthanol, méthanol, acétone), sur l'activité antioxydant de deux plantes médicinales : *Inula viscosa* et *Mentha rotundifolia*.

La présente étude inclut deux parties principales :

- La première partie est une synthèse bibliographique qui présente la description de la plante *Inula viscosa* et *Mentha rotundifolia*, les composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante.
- La deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale qui a pour but de déterminer la meilleure méthode d'extraction (extraction par macération et extraction par montage à reflux de deux plantes).
- La troisième partie permet de comparer les résultats des travaux précédents sur l'effet du solvant et la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les plantes médicinales

I.1. Présentation de la plante *Inula viscosa*

I.1.1. Généralité

Le genre *Inula* appartient à la famille des Asteraceae, il comprend une variété d'environ 90 espèces (Pignatti, 1982). Ce genre est présent principalement en Afrique, en Asie et dans la région Méditerranéenne de l'Europe (Kaur et Chahal, 2014). Plusieurs *Inula* spp ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle partout dans le monde, du fait des diverses activités biologiques qui leur sont attribuées telles que : anticancer, antibactérienne, hépato protectrice, cytotoxique, et anti-inflammatoire (Zhao *et al.*, 2006).

I.1.2. Description botanique

Inula viscosa est une plante glanduleuse, herbacées, visqueuse, à odeur forte qui appartient à la famille des Asteraceae (Quezel et Santa, 1963). Elle est vivace à tige frutescente à la base et de 40-100 cm, à rameaux rougeâtres (Fig.1).

Ses feuilles sont entières dentées, aiguës, sinuées ; rudées, recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses. Les caulinaires sont amplexicaule, plus largement lancéolées. Bractées externes de l'involucre scarieuses de même que les interne (Quezel et Santa, 1963 ; Ait Youssef, 2006). Des fleurs périphériques sont liguliformes, celles du centre sont tubulaires. Elles sont rayonnantes de couleur jaune et à forte odeur (Bensegueni-Tounsi, 2001).

La floraison commence à partir du mois de Septembre jusqu'au mois de Novembre (selon les lieux). Les inflorescences sont de longues nombreuse, capillaire de 10-12 de long (Quezel et Santa, 1963 ; Bonner, 1990). Les fruits sont des akènes (fruits secs) velus, un peu ovoïdes, sont surmontés par une petite aigrette jaunâtre de soies denticulées (Baydar et Fehmi, 1998).



Figure 1 : *Inula viscosa* (www.tela-botanica.org).

I.1.3. Taxonomie

D'après Guignard, (2001), la position systématique de *Inula viscosa* est comme suite :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphyte

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Astérides

Ordre : Astérales

Famille : Astéracea

Genre : *Inula*

Espèce : *Inula viscosa*.

I.1.4. Nom vernaculaire :

Nom en anglais : False yellon head.Woody fleabame (Brullo et De Marco, 2000), Yellon flabane (Brullo et De Marco, 2000 ; Wamidh *et al.*, 2012),Viscosa elecampane (Wamidh *et al.*, 2012), Stiky fleabame (Lev et Amar, 2000 ; Danino *et al.*, 2009).

Nom en français : Inule visqueuse, Aunée visqueuse (Halimi, 1997).

Nom en arabe : Terhal, Mâgrâmân or Amagramane (Kattouf *et al.*, 2009).

Nom en turc ; Yapiskan andız (elecampane) (Baytoup, 1999).

I.1.5. Répartition géographique

Inula viscosa est commun dans tout le bassin méditerranéen, son aire de répartition naturelle comprend les côtes du sud de l'Europe (France, Espagne, Grèce, Italie, Bulgarie, et Turquie...), le Moyen-Orient(Palestine, Jordanie et Syrie), ainsi que l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Égypte et Libye), et en Asie (China, Japon). On les trouve aussi dans, les rocailles (Lauro et Rolih, 1990), les sols salés, les prairies humides et les bords des cours d'eau et de routes (Lustra, 1993 ; Mamoci *et al.*, 2012).

I.1.6. Utilisation traditionnel

L'histoire thérapeutique de *Inula viscosa* est très diversifiée et connue depuis longtemps par les guérisseurs. Des anciens temps, il a été utilisé pour traiter les blessures, les meurtris, des ecchymoses et des troubles intestinaux. Il a été rapporté qu'elle est utilisée en

Italie comme : antipyrétiques, antiphlogistiques et antiseptiques (Lauro et Rolih, 1990). La partie aérienne de cette plante est utilisée en décoction pour le traitement de la pression artérielle et le diabète, ces feuilles sont utilisées en Maroc en cataplasme pour traiter les abcès, la gale, dermatoses, les ulcères etc (Kattouf *et al.*, 2009).

En Algérie, l'*Inula* est utilisée dans la médecine populaire comme antipyrétique en tisanes ou en cataplasme contre les maux de tête et les infections pulmonaires (Pérez-Alonso *et al.*, 1996 ; Camacho *et al.*, 2000). Les huiles essentielles d'*Inula viscosa* ont des propriétés antifongique, antiseptique, anti-inflammatoire, anti-infectieuse, microbicide, antibactérien et anti acétylcholinestérase des parties aériennes d'*Inula viscosa* (Silva *et al.*, 2005 ; Sílvia *et al.*, 2011 ; Blanc *et al.*, 2006).

I.2. Présentation de la plante *Mentha Rotundifolia*

I.2.1. Généralité

Le genre *Mentha* appartient à la famille Lamiaceae qui est l'une des importantes dans le monde végétal, elle comporte environ 200 genres et 6000 espèces distribuée dans les régions tempérées dans le monde entier (Govaerts, 2012). Le genre *Mentha* a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées. Plusieurs études ont montré que la famille des Lamiaceae est une source naturelle d'antioxydants (Ghoudhury *et al.*, 2006).

I.2.2. Description botanique

La *Mentha rotundifolia* est une plante herbacée vivace (Kokkina et Pageorgiou, 1988 ; Lorenzo *et al.*, 2002), renoncée mais assez agréable. Ses tiges sont dressées, très rameuses dès la base et pubescente au sommet atteignant environ 30 cm (Vilmorine-Andrieux, 1989), ou 60 cm de hauteur (Cazin, 1868).

Ses feuilles rondes, épaisses, opposées, et ridées avec des tiges, typiques des labiées, est à section carrée. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce à toucher (Benbouali, 2006), rugueuses en dessus et fortement panachées de vert et de blanc jaune clair, qui devient plus foncé avec l'âge (Vilmorine-Andrieux, 1989). Ses racines rampantes, longues et fibreuses (Cazin, 1868).

Les fleurs sont blanches ou rose, en glomérules nombreux disposés eux-mêmes en épis terminaux allongés, grêles cylindriques compactes. La hauteur de la plante est de 25 à 80 cm, les fleurs font 5 mm (Benbouali, 2006 ; Mossaddak, 1995).

La floraison est de Juillet à Septembre (Cazin, 1868). L'inflorescence est type spicate. Le calice est hérissé en dehors, les étamines sont saillantes et les fruits lissés (Harley et Brighton, 1977).



Figure 2 : *Mentha rotundifolia* (www.tela-botanica.org).

I.2.3. Taxonomie

D'après Iserin *et al.* (1997), la systématique du *Mentha rotundifolia* est comme suite :

Règne : plantae

Embranchement : Phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Gamopétales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Mentha*

Espèce : *Mentha rotundifolia*

I.2.4. Nom vernaculaire

Nom en français : *Mentha rotundifolia* (Rameau *et al.*, 2008).

Nom en arabe : Timija ou Timarssat (Hendriks et Van, 1976 ; Lawrence, 2007), Domrane.

Nom en anglais : Apple Mint (Rameau *et al.*, 2008 ; Hendriks et Van, 1976) Apple-scented Mint (Hendriks et Van, 1976), pineapple mint (Lawrence, 2007).

Nom scientifique : *Mentha suaveolens* Ehrh (Rameau *et al.*, 2008 ; Hendriks et Van, 1976).

M. rotundifolia est un hybride de *Mentha longique* et de *Mentha suaveolens* (Lorenzo, 2002), alors que d'autres références disent que *Mentha rotundifolia* et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce (Brada *et al.*, 2007).

I.2.5. Répartition géographique

M. rotundifolia (L) Hudson pousse dans les endroits humides d'Europe occidentale (du Danemark) jusqu'en Europe orientale et en Afrique du Nord (Lawrence, 2007), ainsi que dans les pays tempérés de l'hémisphère sud (Lorenzo, 2002).

I.2.6. Utilisation traditionnelle de *Mentha rotundifolia*

La *M. rotundifolia* conserve depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupe une large place dans la thérapeutique. Elle s'utilise contre la fièvre, la faiblesse, la toux, les nausées, les maux de l'estomac, la mélancolie, les maladies de poitrine, l'hystérie, les troubles de la vue (Garnier *et al.*, 1961 ; Fournier, 1984).

En pharmacie, les propriétés stimulantes, toniques, antiseptiques et anesthésiques, sont valorisées en plus de l'action aromatique. Elle s'utilise aussi en parfumerie et cosmétique (FAO, 2010).

Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle des pays du Maghreb pour ces propriétés : digestive, expectorante, antispasmodique, elle est aussi utilisée pour calmer les douleurs rhumatismales et des piqûres d'insectes. L'huile essentielle de cette plante est utilisée pour calmer les palpitations cardiaques (quelques gouttes d'huile essentielle avec eau chaude) (Lorenzo, 2002 ; Badra *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2013). Une étude biologique effectuée sur l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* poussant en Tunisie, a montré une activité antioxydante remarquable avec le DPPH et le β -carotène (Riahi *et al.*, 2013).

Chapitre II

Les composés phénoliques et l'activité antioxydante

II.1. Les métabolismes secondaires

II.1.1. Généralités

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, (Ramakrishna et Ravishankar, 2011). Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Merghem, 2009).

II.1.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate (Lugasi *et al.*, 2003).

L'élément structural fondamental qui caractérise toutes ces molécules est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyl, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1999).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (Lebham, 2005). D'autre part leurs actions anti bactériennes et antifongiques, participe à la pigmentation des fleurs des légumes et de quelque fruits (raisin, agrume, etc...). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence.

Les composés phénoliques (acides phénoliques, coumarines, flavonoïdes, anthocyanes, proanthocyanidines et Tanins gallique et catéchiques) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Bahorum, 1997).

II.2. Activité biologiques de poly phénols

De nos jours les propriétés des poly phénol sont largement étudiées dans le domaine médical ces études on mise en évidence plusieurs activités biologiques d'ont l'activité antioxydant (Pietta, 2002) ; (Osmianki *et al.*, 2007), l'activité anticancéreuse (Ames *et al.* 1995, Jhonson 1999), l'activité antibactérienne (Katarzyna *et al.*, 2007), l'activité anti-inflammatoires (Sakurai *et al.*, 2010) et aussi l'activité antivirale (HIV) (Liu *et al.*, 2005), des donnés épidémiologiques suggérant que la consommation de nourriture riche en flavonoïdes par exemple (xanthon, quercétine, myrcetin) aide à la prévention contre les maladies neurodégénératives liées à l'âge telle que la maladie d'Alzheimer (Heinrich et

Theo, 2004). Les poly phénols peuvent diminuer le taux de cholestérol dans le sang (Lin, 2012) et peuvent agir aussi comme un antidiabétique (Ong et khoo, 1997).

Martin et Andriantsitohaina montre que les poly phénols favorise la protection contre les altérations cardiaque et vasculaire (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.3. Stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme (Pincemail, 2004 ; Yopez *et al.*, 2002), lors d'un stress oxydant les ERO non «détoxiquées» par le système antioxydant attaque et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les protéines (Davies, 2003), les acides nucléiques (Cooke *et al.*, 2003), les acides gras et les carbohydrates (Prior et Cao, 1999 ; Azab *et al.*, 2007), ces dégâts structuraux et fonctionnelle conduit à des différentes maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de parkinson (Buckman *et al.*, 1990 ; Dauer et przedoborski, 2003).

Notre mode de vie et nos mauvaise habitudes alimentaires, augment de façon anormale la production des EOA dans notre organisme ceci peut aussi contribuer à l'apparition de stress oxydative et divers pathologies.



Figure 3 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et radicaux libres (Shimizi, 2004).

II.3.1. Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une entité chimique possédant, sur sa couche externe un électron non double, cette propriété rend cet élément très instable et réactif (demi-vie courte)

(Ortiz *et al.*, 2013), du fait de la tendance de cet électron à se ré-appairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules.

Ainsi, les molécules, à leur tour, se transforment en d'autres radicaux libres et déclenchent ainsi une réaction en chaîne (Dacosta, 2003).

II.3.1.1. Principaux radicaux libres

Tableau 1 : Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Sun, 2009).

Espèces réactives de l'oxygène (ROS)		Espèces réactives de l'azote (RNS)	
forme radicalaires	forme non radicalaires	forme radicalaires	forme non radicalaires
Le radical hydroxyle HO●	Le peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ .	L'oxyde nitrique(NO ⁻)	Acide nitreux (HNO ₂)
L'anion superoxyde O₂●-	L'acide hypochloreux HOCl.	Dioxyde d'azote (NO ⁻)	Trioxyde de diazote / tétroxyde (N ₂ O ₃)
Le radical hydroperoxyde HO₂●	L'oxygène singulet 1O ₂		nitronium (nitryl)
Le monoxyde d'azote ou oxyde nitrique NO●	Le peroxyde nitrite ONOEn		ion (NO ²⁺) peroxyde nitrite (ONOOy)
Le radical peroxyde RO₂●			peroxyde nitrite d'alkyle (ROONO)
			anion nitroxyde (NOY)
			cation nitrosyle (NO ⁺)
			chlorure de nitryle (NO ₂ CL)

II.3.2. Origine de stress oxydative

Les radicaux libres se trouvent dans l'organisme et ils sont produits par plusieurs mécanismes physiologiques. Cette production peut devenir toxique donc le corps a besoin d'utiliser le système antioxydant (Favier, 2003).

II.3.2.1. Radicaux libres oxygènes (ROS)

Leur source c'est par la NADPH oxydase membranaires et les enzymes du complexe e de chaîne respiratoire mitochondriale (Kannan et Jain, 2000).

II.3.2.2. Radicaux libre azote (RNS)

Produit au niveau cellulaire à partir d'arginine et d'oxygènes à la présence de NADPH (Bouguirne, 2012).

II.3.3. Les conséquences du stress oxydant

Les concentrations physiologiques d'espèces réactives de l'oxygène ont un effet bénéfique sur la croissance cellulaire tandis que des taux élevés sont destructeurs (Remacle *et al.*, 1995).

En effet, les ERO étant capables de réagir à différents niveaux dans les cellules, les conséquences liées à leur accumulation peuvent être très graves (Berlett et Stadtman, 1997 ; Dean *et al.*, 1997), tel que le diabète, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Montagnier *et al.*, 1997). Les ROS seraient impliquées dans les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer.

Le stress oxydatif peut provoquer une granulomatose septique, le cancer, la photovieillessement cutané (Favier, 2006). Une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lysesimmédiates (Favier, 2003). Les dommages oxydatifs sur les acides nucléiques entraînent des mutations et des dégradations des bases pouvant provoquer le clivage d'un brin d'ADN.

II.4. Les antioxydants

Les antioxydants ont été définis comme des composés qui protègent les systèmes biologiques contre les effets potentiellement délétères des processus ou des réactions qui peuvent provoquer une oxydation excessive (Park *et al.*, 2001).

II.4.1. Un système enzymatique

Tous d'abord il y a les super oxydes dismutases (SOD), les catalase(CAT) et les glutathions super oxydase (GSH-Px) (Favier, 1997).

Les SOD sont responsables de la production de molécules d'oxygène et une molécule d' H_2O_2 à partir de deux O_2 par une réaction de dismutation. Chez l'homme on distingue trois iso formes de SOD structurellement caractérisé par la présence d'un puits hydrophobe pour piéger le radical $O_2^{\cdot-}$, et ils diffèrent entre eux par leur localisation cellulaires ; les SOD manganèse (Mn-SOD), les SOD à cuivre-Zn (Cu, Zn-SOD) qui sont considéré comme le major et le plus antioxydant enzymatique abondant contre les $O_2^{\cdot-}$ (Favier, 2006 ; Jonshon et Giulivi, 2005 ; Mates et Sarchez Jimenez, 1999).

La catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) jouent un rôle déterminant dans la régulation de production intracellulaire de ROS.

La catalase, c'est un enzyme compétitive de (GPx) pour l' H_2O_2 , il est responsable de la transformation de H_2O_2 en oxygène plus eau (Wolinsky, 1998 ; Saver *et al.*, 2008) ont également montré qu'elle possède une activité dans le développement d'une réponse adaptatrice face au stress oxydant (Esposito *et al.*, 2002).

L'enzyme GPx, caractérisé par leur capacité de la réduction des différents hydroperoxyde organiques (ROOH et H_2O_2) par l'utilisation de glutathion (GSH) comme donneur d'électrons (Arthur, 2000).

Finellement, l'activité des enzymes antioxydant SOD ,CAT et GPO doit être complémentaires pour assuré un bon protection contre les ROS.

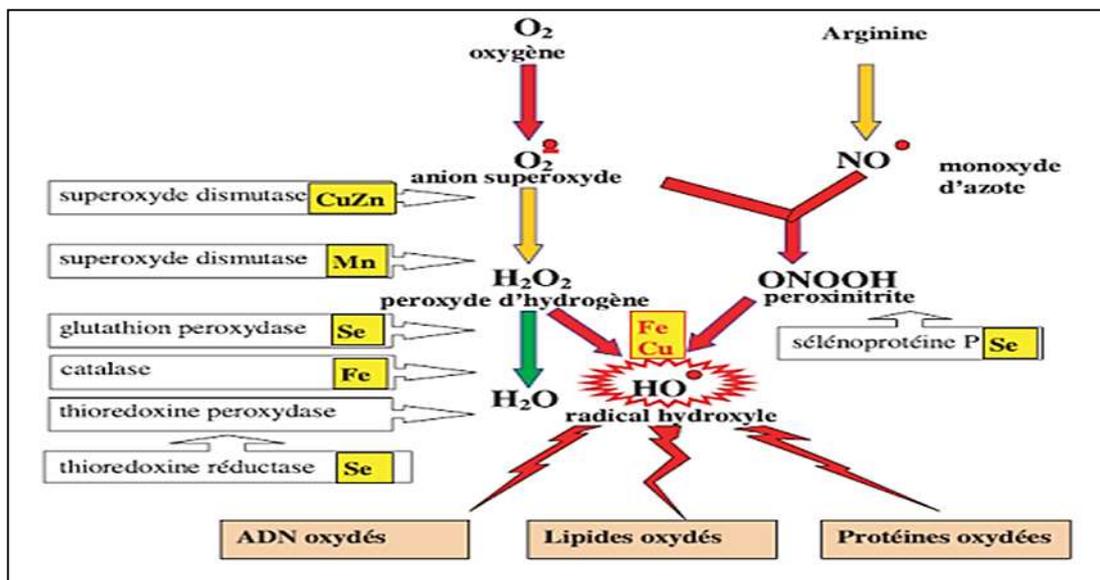


Figure 4 : Principaux systèmes enzymatiques antioxydant impliqué dans le contrôle de ROS (Favier, 2003).

II.4.2. Un Système non enzymatique

Les différents composés antioxydants non enzymatiques sont apportés via l'alimentation telle que les vitamines (C, E...etc.), et les oligo-éléments plus le statut antioxydant plasmatique total (TAS) représenté par l'albumine, l'acide urique (Yao *et al.*, 1998), ils sont généralement de bons capteurs de hydroxyle OH^{\bullet} et peroxydes RO_2^{\bullet} .

Partie
Expérimental

Chapitre III

Matériels & Méthodes

Objectif

L'objectif de notre travail est l'étude de l'effet de la méthode d'extraction et le solvant d'extraction (éthanol, méthanol, acétone), sur l'activité antioxydant de deux plantes médicinales : *Inula viscosa* et *Mentha rotundifolia*.

III.1. Matériel utilisé**III.1.1. Matériel végétal**

Les deux plantes *I. viscosa* et *M. rotundifolia* ont été récoltées dans la région de N'agous, Batna en Aout 2019. L'identification des deux plantes est effectuée par le Professeur Oudjehih à l'université de Batna.

Les deux plantes récoltées sont séchées à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil pendant 15 jours, puis broyé pour obtenir une poudre fine pour effectuer les analyses ultérieures.

III.1.1.1. Présentation de la région

C'est une ville bordant la Numidie, construite par les Romains au IIe siècle après JC. Elle est située entre les longitudes à 5 degrés à l'ouest de Batna, le siège de l'État, à 100 km de là, et en même temps elle s'élève à 770 mètres au-dessus du niveau de la mer. Du nord-ouest, nous trouvons les montagnes qatiennes, dans lesquelles le plus haut sommet du "Tishrert" s'élève à 1834 mètres. Et le bloc du mont Sultan Sons de l'est, et son plus haut sommet, Al-Rafa'a, atteint 2176 mètres au-dessus du niveau de la mer, avec une superficie de 8280 hectares, il occupe donc un emplacement stratégique qui sert de lien entre les zones vallonnées et les oasis d'Al-Zayban, et relie un certain nombre de villes historiques importantes. Elle délimitée :

Au nord, par Ras el aioun

Au l'est, par Ouled si slimane

Au l'ouest, par Gosbatté

Au sud, par Boumagueur.

III.1.2. Réactifs et appareillages

Tableau 2 : Représentation des appareillages, réactifs et d'autres matériaux.

Appareillages	Réactifs	Autre matériel
<ul style="list-style-type: none"> • Balance électrique • Microbalance • Etuve • Montage à reflux • Rotavap • Vortex • Spectrophotomètre 	<ul style="list-style-type: none"> • Méthanol (CH₃OH) • Ethanol • Acétone : (C₃H₆O) • Eau distillée • Acide gallique • Folin- Ciocalteu 	<ul style="list-style-type: none"> • Boîtes de pétri • Papier filtre • Micropipette • Flacons • Tube à essai • Éprouvette • Entonnoir • Bêchers • Spatule • Erlenmeyer • Anse de platine • Spatule • Balance électrique

III.2. Méthodes

III.2.1. Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

L'extraction est une étape très importante dans l'isolement, l'identification et l'utilisation des composés phénoliques (Ignat *et al.*, 2011).

Les extraits utilisés sont préparés selon le mode d'extraction en macération et par montage à reflux.

III.2.1.1. Macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide (Ignat *et al.*, 2011) qui peut être de l'eau, des alcools ou des mélanges (Stalikas, 2007).

Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température

ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégralité des molécules phénoliques qui sont sensibles aux changements de température.

III.2.1.2. Montage à reflux

C'est un procédé qui est utilisé pour extraire les principes actifs tels que les flavonoïdes et les tanins, il consiste à porter à ébullition un mélange de matière végétale et de solvant. On utilise ici un réfrigérant à boule, plutôt qu'un réfrigérant droit, afin d'augmenter la surface de contact avec les vapeurs. La vapeur dégagée est condensée sur les parois froides du bas du réfrigérant ce qui permet de former des gouttes de liquide qui tombent régulièrement du réfrigérant dans la mixture, ainsi, on a récupéré le produit final.



Figure 5 : Montage à reflux.

III.2.2. Extraction

Cette étape consiste à extraire le maximum des principes actifs contenus dans la plante. Les extraits méthanolique, éthanoliques et acétonique, les deux plants ont été préparés par macération et par montage à reflux.

Prise d'essai de 10g de poudre été mise à macérer dans 200 ml du solvant (Méthanol, Ethanol absolu et acétone) sous agitation continu, pendant 24 H, puis les extraits sont ensuite filtrés. Cette procédure répéter trois fois.

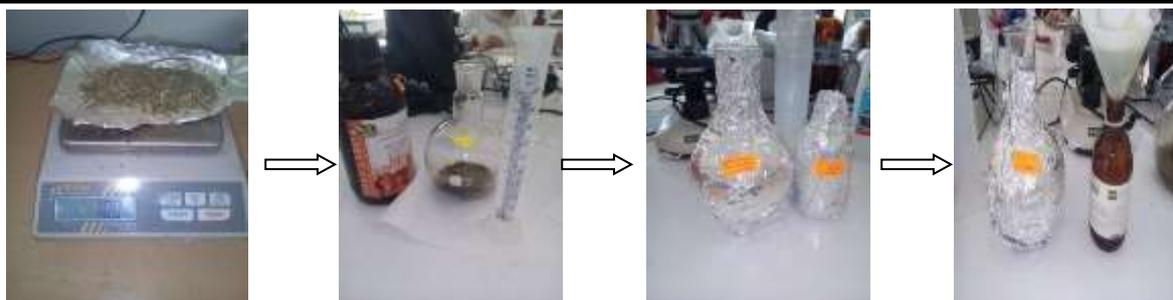


Figure 6 : Méthode d'extraction par macération.

Refaire la description de la méthode : montage à reflux.

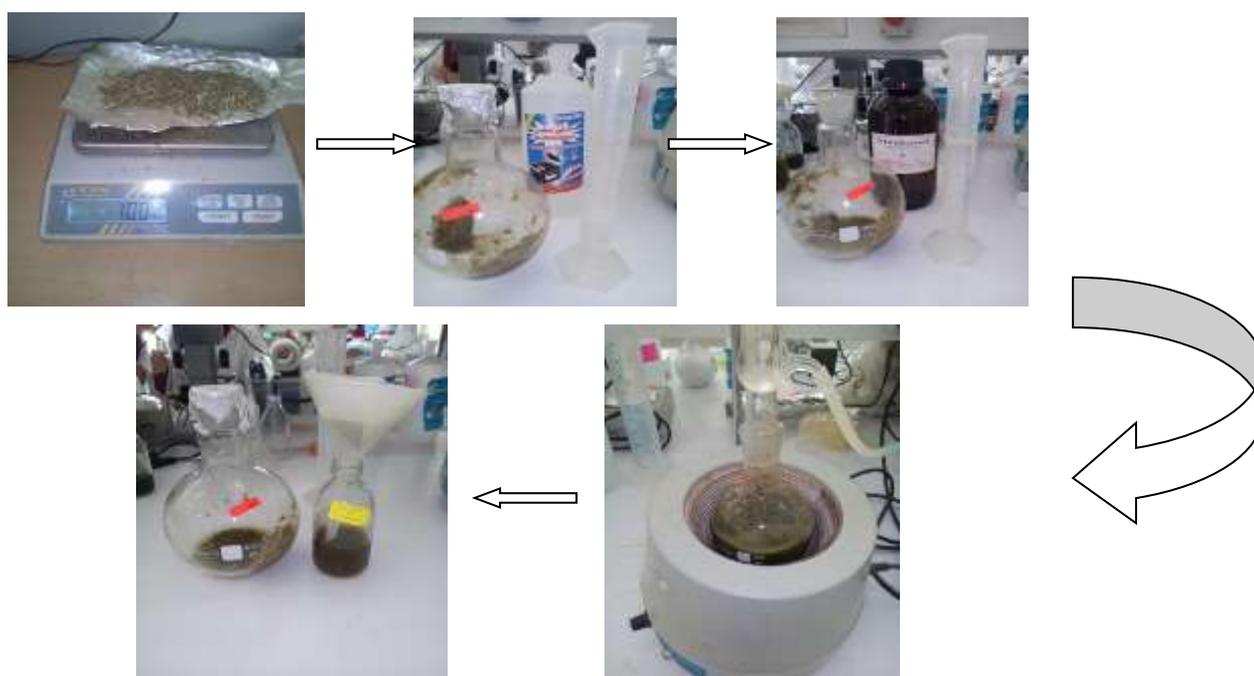


Figure 7 : Méthode d'extraction par montage à reflux.

Les filtrats obtenus par macération ou par montage à reflux sont ensuite évaporés à sec sous pression au rotavapeur pour éliminer le solvant sous vide. Les extraits secs obtenus sont conservés à 4C° jusqu'à son utilisation.



Figure 8 : Photographie de rotavapeur.

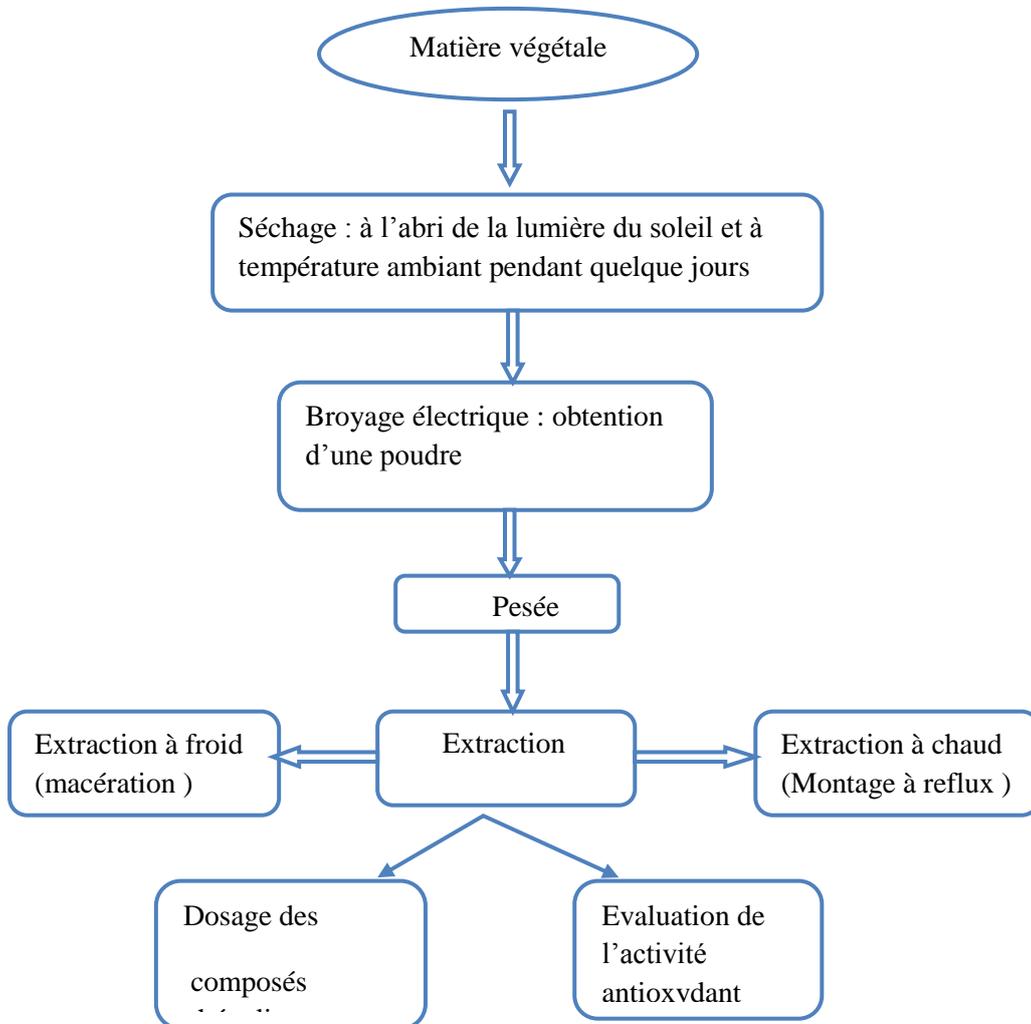


Figure 9 : Schéma illustrant la démarche expérimental suivie dans cette étude.

III.2.2.1. Calcul des rendements

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : Poids de la boîte pétri avec extrais après évaporation.

P2 : Poids de la boîte pétri vide.

P3 : Poids de la matière végétale de départ

III.2.2. Dosage des composés phénoliques**III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de (Singleton et Ross, 1965) en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu décrit par le protocole de (Li *et al.*, 2007). À un volume de 200 µl de chaque extrait de plante, est ajouté 1 mlde Folin Ciocalteu dilué 10 fois. Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7.5 % est additionné. Le mélange est agité et laissé à une température ambiante et à l’obscurité pendant 2 heures. L’absorbance est mesurée à 765 nm au spectrophotomètre contre un blanc sans extrait. Une courbe d’étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l’acide gallique comme contrôle positif à concentrations finales allant de (0-150 µg/ml) pour la quantification des polyphénols et exprimée en microgramme équivalent d’acide gallique par milligramme d’extrait (mg EqAG/g d’extrait).

Chapitre IV

Résultats & Discussion

IV.1. Détermination des rendements des extraits des deux plants

Après extraction et récupération des extraits sous forme de poudre, le rendement, la couleur ainsi que l'aspect physique de chaque extrait sont déterminées et représentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristique d'extraits alcoolique de plante étudiée.

La plante	Les techniques d'extraction	Les solvants	Aspect physique	Couleur	Rendement(%)
<i>Iula viscoa</i>	Montage à reflux	Méthanol	Poudre	Marron	40
		Éthanol			36
		Acétone			24
	Macération	Méthanol	Poudre	Marron	38
		Éthanol			28
		Acétone			34

Tableau 4 : Caractéristique d'extraits alcoolique de plante étudiée.

La plante	Les techniques d'extraction	Les solvants	Aspect physique	Couleur	Rendement
<i>Mentha rotundifolia</i>	Montage à reflux	Méthanol	Poudre	Vert	69
		Éthanol			16
		Acétone			15
	Macération	Méthanol	Poudre	Vert	44
		Éthanol			28
		Acétone			28

IV.1.1. Rendement d'extraction par montage à reflux

D'après la figure 13, l'extrait méthanolique présente le meilleur rendement ; soit une moyenne de 40% pour *I. viscosa* et 69% pour *M. rotundifolia*, alors que l'extrait acétonique présente le rendement le plus faible pour les deux plante avec 24% et 15% pour *I. viscosa* et *M. rotundifolia* respectivement.

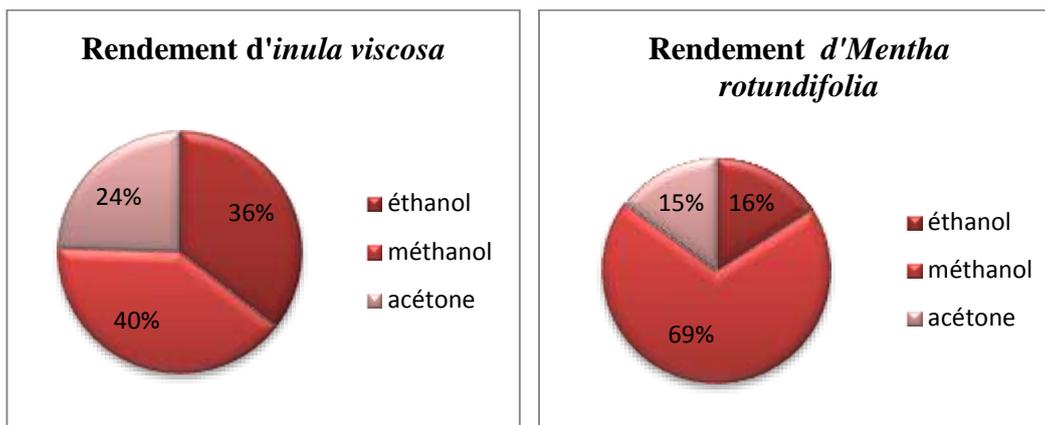


Figure 10 : Représentation graphique de rendement des extraits des deux plantes par montage à reflux.

IV.1.2. Rendement d'extraction par macération

Le rendement obtenu par macération présente dans la figure 14. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique est le meilleur avec un pourcentage 38% pour *I. viscosa* et 44% pour *M. rotundifolia*. En revanche, l'extrait éthanolique et l'extrait acétonique de *M. rotundifolia* viennent ensuite un pourcentage de 28%. Alors que l'extrait l'extrait éthanolique et l'extrait acétonique de *I. viscosa* présente un rendement de 28% et 34% respectivement.

Dans la présente étude, *M. rotundifolia* a enregistré le meilleur rendement par la méthode d'extraction montage à ruflux.

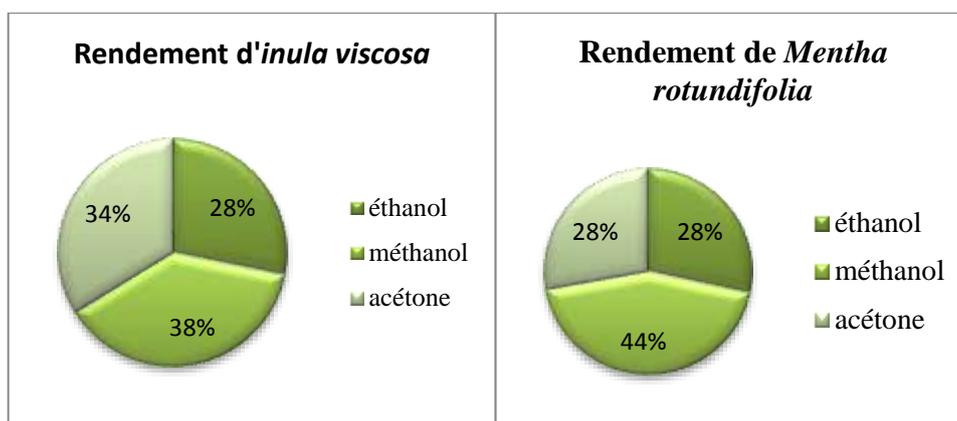


Figure 11 : Représentation graphique de rendement des extraits des deux plantes par macération.

IV.2. Dosage des polyphénols et flavonoïde totaux

IV.2.1. Résultats de l'étude de Dosage des polyphénols totaux

La méthode utilisée pour établir la courbe d'étalonnage de l'acide galique est celle de (Singleton et Ross, 1965) en utilisant le réactif de folin-coicalteu. L'acide gallique est utilisé à des concentrations allant de 0 à 160 µg/ml.

Tableau 5 : Absorbance en fonction des différentes concentrations de l'acide gallique.

Concentration de l'acide gallique mg/ml	20	40	60	80	100	120	140	160
Absorbance a =765 nm	0,296	0,534	0,737	0,912	0,104	1,281	1,502	1,673

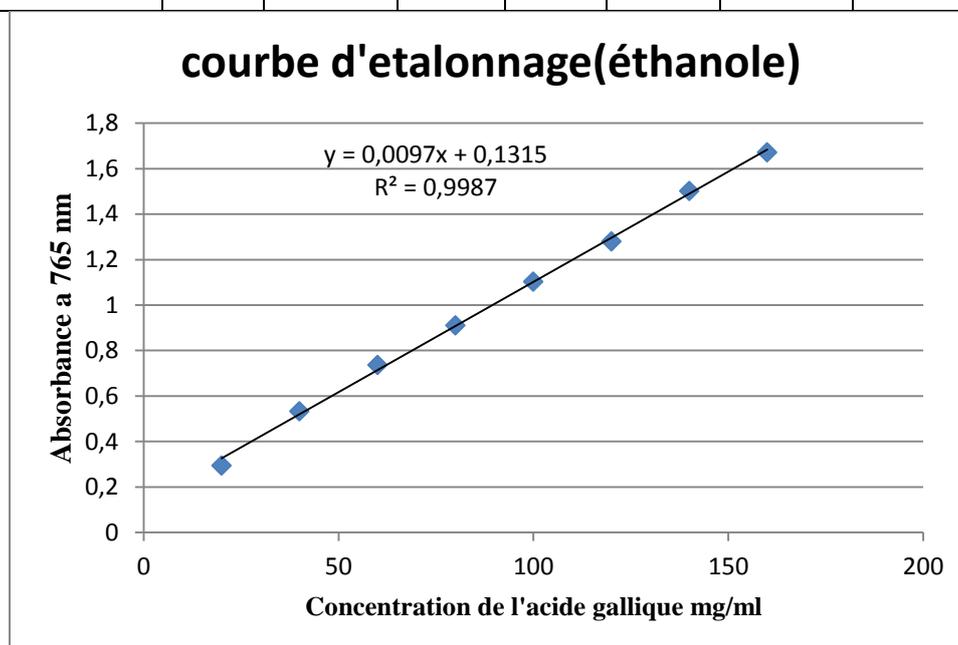


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

IV.3. La teneur des polyphénols et des flavonoïdes d'*Inula viscosa*

IV.3.1. La teneur des polyphénols

La teneur des polyphénols totaux dans les extraits méthanolique préparé par macération à chaud est estimée à $117,58 \pm 1,29$ (mg GAE/g d'extrait) selon le travail de (Rhim *et al.*, 2019). Cette concentration est inférieure à celle obtenue par l'étude de Salim *et al.* (2017) qui enregistre deux teneurs des polyphénols totaux plus élevées de l'extrait méthanolique préparé par macération à froid égal à 152,7 mg EGA/g d'extrait) suivi par l'extrait éthanolique dont la teneur est estimée de 129,9mg EGA/g d'extrait.

Ce qui permet de conclure que la macération à froid est plus préférable par rapport à la macération à chaud, et que la teneur en polyphénol est influencée par la méthode d'extraction.

En revanche, d'après l'étude de Derriche *et al.* (2015) les trois extraits méthanoliques, éthanoliques et acétoniques préparés par la technique de soxhlet enregistrent des concentrations polyphénoliques différentes. En effet, l'extrait méthanolique comporte une concentration des composés phénoliques totaux plus élevée que les deux extraits éthanoliques et acétonique. Ce dernier contient une faible concentration des composés phénoliques, comme le démontre le tableau suivant :

Tableau 6 : Teneurs en polyphénols des extrait de *L'Inula viscosa*.

Extrait	Polyphénols totaux (mg AGE/ g MS)
Méthanol	106,34 ± 1,49
Ethanol	70,79 ± 1,20
Acétone	51,25 ± 0,71

Par ailleurs, l'extrait méthanolique préparé par soxhlet est estimé à 299,1 ± 34,5 mg GAE par g d'extrait séché (Brahmi-Chendouh *et al.*, 2019), était environ 3 fois plus élevé que celui précédemment rapporté par Mahmoudi *et al.* (2016) pour un extrait par macération à 80% de méthanol d'*I. viscosa*. Ces résultats indiquent que l'extrait méthanolique est le meilleur pour l'extraction des polyphénols totaux et que la méthode d'extraction par le soxhlet est plus efficace que la macération. Ce qui permet de conclure que la méthode d'extraction influence sur les concentrations des polyphénols.

IV.3.2. La teneur des flavonoïdes

Concernant la teneur de flavonoïdes, une autre étude Mahmoudi *et al.* (2015) enregistre des valeurs nettement supérieures à celles des correspondants du même type par Trimech *et al.* (2014) pour préparer l'extrait méthanolique comme le montre le tableau ci-dessous :

Tableaux 7 : La teneur des flavoniodes d'*Inula viscosa*

	<i>I. viscosa</i> (Mahmoudi <i>et al.</i> , 2015)	<i>I. viscosa</i> (Trimech <i>et al.</i> , 2014)
Concentration totale de flavonoïdes mg CE/g d'extrait)	84.92 ± 1.41	29.43 ± 55.75

Selon l'étude de Salim *et al.* (2017), l'extrait méthanolique a donné la meilleure teneur de flavonoïde par rapport à l'extrait éthanolique estimée à 142,5 et 129,9 mg CE/g d'extrait respectivement. Ce qui permet de dire que l'extrait méthanol est le plus propice pour l'extraction des flavonoïdes.

On déduit que la différence des teneurs de polyphénol et de flavonoïde peut revenir aux solvants, parmi les plus couramment utilisés pour l'extraction de composés phénoliques à partir de plantes à différentes concentrations sont l'éthanol, le méthanol, l'acétone (Antolovich *et al.*, 2010 ; Luthitia *et al.*, 2005). L'extraction polyphénolique produite à partir de matières végétales dépend de la solubilité des composés phénoliques dans le solvant utilisé pour l'extraction. En d'autres termes, les types de solvants utilisés dans le processus d'extraction sont très importants ainsi que leur polarité (Alotham *et al.*, 2009). Par exemple, dans l'extraction de composés phénoliques des plantes, le méthanol a été utilisé comme solvant et il a été prouvé que la teneur en composés polyphénoliques était plus élevée que celle de l'éthanol (Casazza *et al.*, 2010). Le temps d'extraction est un autre facteur qui influence la concentration des polyphénols car les solutés sont en contact avec le solvant, donc l'efficacité d'extraction est fortement influencée par le temps d'interaction entre les deux phases (Ossain *et al.*, 2012). La température est l'un des principaux facteurs impliqués.

IV.4. Le teneur de polyphénol et les flavonoïdes de *Mentha rotundifolia*

La teneur des polyphénols totaux dans les extraits méthanolique préparé par macération à froide et estimé de 350,10±0,96 (mg/GAE/g d'extrait) selon le travail de Benabdallah *et al.* (2014), cette concentration est supérieure à la concentration des poly

phénols totaux de l'extrait méthanolique obtenus par macération à chaude ($15,10 \pm 0,60$ mg/GAE/g d'extrait) (Kebieche *et al.*, 2017).

En revanche, la teneur des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique préparé par la technique de macération à chaude et estimée de ($79,44 \pm 0,76$ mg GAE/g d'extrait) selon le travail de Kebieche *et al.* (2017). Cette concentration est supérieure à la concentration des flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique obtenus par macération à chaude ($12,30 \pm 0,30$ mg GAE/g d'extrait) (Benabdallah *et al.*, 2014).

Ce qui permet de conclure que la macération à froide est plus préférable par rapport à la macération à chaude, et que la teneur en polyphénol et en flavonoïdes est influencée par la méthode d'extraction car l'augmentation de la température conduit à une perméabilité plus élevée des parois cellulaires, donc une solubilité totale du composé phénolique et dénaturation oxydative partielle de certains composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Comme le cas d'extraction par macération à chaude. Donc le rendement de polyphénol et de flavonoïdes est diminué.

La teneur des polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques préparés par macération pendant les 48 heures et estimée de 331 ± 6 , $5179,44 \pm 0,76$ mg GAE/g d'extrait selon le travail de (Alinaghi *et al.*, 2008). Cette concentration est supérieure à celle obtenue par l'étude de (Brahmi *et al.*, 2018). Cette dernière enregistre des teneurs en polyphénols totaux de $23,8 \pm 3,3$, $79,44 \pm 0,76$ mg GAE/g d'extrait de l'extrait méthanolique préparé par macération pendant les 24 heures (Brahmi *et al.*, 2018). Ces résultats indiquent que le temps d'extraction peut influencer sur la concentration des polyphénols totaux.

On conclut que les teneurs de polyphénols totaux ont été augmentées considérablement quand le temps d'extraction a été augmenté de 24 heures à 48 heures. Des résultats similaires sont enregistrés par (Chirinos *et al.*, 2007 ; Druzynska *et al.*, 2007 ; Silva *et al.*, 2007). Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention sur la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long ce qui peut mener à l'inverse des résultats.

La teneur des polyphénols totaux dans les extraits acétoniques préparés par Soxhlet est estimée de $113,7 \pm 2$ µg GAE /mg selon le travail de (Ferdjiou *et al.*, 2019). Cette concentration est supérieure à la concentration des polyphénols totaux de l'extrait acétonique obtenus par macération ($100,6 \pm 2,4$ mg QE/g d'extrait) (Brahmi *et al.*, 2019).

Selon l'étude de Brahmi *et al.* (2019), les extraits acétonique préparé par soxhlet ont donné les meilleures concentrations de flavonoïde ($16,275 \pm 0,375 \mu\text{g GAE /mg d'extract}$) par rapport à l'extrait acétonique préparé par macération ($3,8 \pm 0,4 \text{mg QE/g d'extract}$). Ce qui permet de conclure que la méthode de soxhlet est le plus propice pour d'extraction des composé et phénolique totale et de flavonoïdes totaux.

La comparaison de deux travaille précédent du (Seladji *et al.*, 2014 ; Kebieche *et al.*, 2017) indique que la méthode d'extraction soit des composés phénoliques totaux ou des flavonoïdes par macération est plus efficace que l'extraction des polyphénol totaux et flavonoïdes par la méthode de montage à reflux.

Des facteurs extrinsèque (tels que les facteurs géographiques et climatiques), des facteurs génétique, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une fort influence sur le contenu en polyphénols et flavonoïdes.

IV.5. Résultat d'activité antioxydante d'*Inula viscosa*

D'après l'étude de Mohti *et al.* (2019) le résultat de test DPPH dans les extraits éthanoliques préparé par la technique de soxhlet est estimé de $54,24 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$ et dans les extraits méthanolique préparé par la technique de macération est estimée de $148,79 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$. Cette concentration est supérieure à celle obtenue par l'étude de Chahmi *et al.* (2015). Cette dernière enregistre une concentration d'activité antioxydante présente dans l'extrait éthanolique préparé par macération (0,2g/l) (Chahmi *et al.*, 2015).

Ce qui permet de conclure que le soxhlet est plus préférable par apport à la technique de macération, car c'est une méthode convenable permettent de répéter infiniment le cycle d'extraction avec le solvant jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matrice végétale d'où vient son efficacité élevée.

Concernant les résultats obtenus par macération, la concentration de l'extrait éthanolique permet de réduire 50% du radical DPPH et peut être affecté par le degré d'agitation mécanique des particules dans le solvant, du fait que la vitesse d'agitation peut influencer la mise en suspension des particule solides. Si elle est maintenue durant une longue période, elle favorise des chocs entre les différentes particules.

Selon l'étude de Derriche *et al.* (2015). Les résultats du test DPPH pour les extraits méthanolique, éthanolique et acétonique préparé par la technique de soxhlet montrent que l'extrait méthanolique possède l'activité antioxydante la plus élevée.

Il est remarquable que les teneurs en polyphénols suivent la même variation que celle des activités antioxydantes, l'extrait méthanolique est très riche en polyphénols, une variation linéaire est observée pour les solvants polaires. Il a été rapporté la majorité des polyphénols sont classés comme antioxydant hydrophile.

Le méthanol était le solvant le plus efficace pour l'extraction des composés antioxydants, notamment des polyphénols. Cela peut être dû à la meilleure solvatation des antioxydants suite aux interactions (liaisons hydrogènes) entre les sites polaires des antioxydants et le méthanol. L'éthanol est moins efficace que le méthanol dans l'extraction des antioxydants bien que leurs polarités soient voisines. Ceci peut être dû à une solvatation plus faible, probablement à cause du radical éthyle qui est plus long que le méthyle présent dans le méthanol. On déduit donc que les polyphénols de *Inula viscosa* sont très solubles dans le méthanol.

L'extrait acétonique enregistre une activité antioxydante et une teneur en polyphénol total relativement faible. Ceci indique que le pouvoir solvant de l'acétone est moins efficace, cela peut être expliqué par le fait que l'acétone est un récepteur de protons tandis que les autres solvants sont aussi des donneurs. Nous déduisons à partir de ces résultats que l'activité antioxydante corrèle positivement avec la teneur en polyphénols et même les rendements.

Tableau 8 : activité antioxydante représentée par IC50 et teneurs en polyphénols des extraits de *Inula viscosa* préparés par Soxhlet

Extrait	IC50(µg/ml)	Polyphénols totale (mg/AGE /g MS)
Ethanolique	17,57±0,58	70,79±1,20
Méthanolique	5,33±0,58	106,34±1,49
Acétone	30,00 ± 5,00	51,25 ± 0,71

IV.6. Résultats de l'activité antioxydante de *Mentha rotundifolia*

D'après l'étude de Norhaliza et Zukify (2017) ; Fardijio et Siham (2019), pour l'évaluation de l'activité antioxydante de deux extraits acétonique et éthanolique de la plante *Mentha rotundifolia* obtenus par la technique de la Soxhlet, le résultat relatif à ces études est consigné dans le tableau :

Tableau 9 : Le pouvoir d'inhibition IC₅₀ (µg/ml) des différents extraits de *Mentha rotundifolia*.

Etude	Extrait	IC ₅₀ µg/ml
Fardijio et Siham, 2019	Acétonique	204,355 ± 3,925
Norhaliza et Zukify, 2017	Éthanolique	à 2780

Ce qui permet de conclure que les valeurs de IC₅₀ varient d'un extrait à autre, et que les extraits acétoniques sont généralement le plus antioxydant par rapport aux extraits éthanoliques car la valeur IC₅₀ dans les extraits acétoniques est relativement faible par rapport à celle des extraits éthanoliques (204,355±3,925µg/ml ; 2780 µg/ml) respectivement.

De là on conclut que l'extrait acétonique riche en composé phénolique et flavonoïdes qui sont responsables de l'activité antioxydante, car elle possède une polarité qui permet de dissoudre et solubiliser différents composés phénoliques. Donc dans ce cas l'acétone est préférable que l'éthanol et l'activité antioxydante de *Mentha rotundifolia* est sensible de type de solvant organique.

En revanche, l'étude de Seladji *et al.* (2014) dans les extraits méthanoliques préparés par montage à reflux est estimée de IC₅₀=0,7±0,03µg/ml. Cette concentration est supérieure à celle obtenue par l'étude d'Amina *et al.* 2019. Cette dernière enregistre la concentration dans les extraits méthanoliques préparés par macération à chaud est estimée de IC₅₀(31,66±2,16µg/ml).

D'après cette comparaison on remarque que l'activité antioxydante des extraits par le test DPPH a révélé une différence significative attribuée à la méthode d'extraction, et que l'extrait méthanolique obtenu par le montage à reflux présente un pouvoir réducteur plus important.

On conclut de ces comparaisons des différentes études sur l'effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante des deux plantes médicinales *Mentha rotundifolia* et *Inula viscosa* dans les points essentiels :

Mentha rotundifolia et *Inula viscosa* sont des plantes riches en composé phénolique,

L'activité antioxydante des deux plantes est efficace par la méthode d'extraction et la polarité du solvant.

Conclusion

Conclusion

Notre étude a porté sur la détermination de l'effet du solvant et de la méthode d'extraction à savoir l'extraction à chaud (montage à reflux) et l'extraction assistée par macération sur l'activité antioxydante et l'évaluation de la teneur en composé phénolique et flavonoïde.

Les résultats ont montrés que le rendement des extraits varie selon la méthode d'extraction et le solvant utilisé.

Le dosage des composés phénoliques révèle que l'extraction à chaud pour *Inula viscosa* est la plus adéquate pour l'extraction des polyphénols, par contre l'extraction par macération à froid pour les flavonoïdes totaux est la plus adéquate. En plus, l'extraction par macération à froid montre des teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïde totaux, pour le *M. rotundifolia*.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits alcooliques présentent des variations selon le solvant utilisé pour les deux plantes ainsi que la méthode d'extraction.

En perspective, plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

Élargir l'étude des activités antioxydant de *Mentha rotundifolia* et *Inula viscosa* d'autre région d'Algérie.

Étudié de l'effet des méthode des extraction modern (sonication ,..) sur l'activité antioxydant.

Étudié les possibles activités biologiques de ces extraits afin mettre en évidence d'éventuelle activité anti-inflammatoire, antimicrobienne.

Bibliographie

Bibliographie

.A

- AIT YOUSSEF M. 2006. Plantes médicinales de Kabylie, ed. Ibis Press, Paris :164.
- ALOTHMAN, M., BHAT, R. and KARIM, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic compound of selected tropical fruits from malaysia, extracted with different solvent. Journal of Food Chemistry, 115: 785 – 788.
- ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P., ROBARDS, K. and RYAN, D. (2000). Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruit. Journal of Analyst, 125: 989 – 1009.
- ARTHUR J R. 2000. The glutathione peroxidases, Cell Mol.Life Sci.57 :1825-1835.
- AZAB A E., ALBASHA M O. 2017. Elsayed ,ASI.Prevention of nephropathy by some natural sources if antioxidants.Yangtze Medicine.1:235-266.

B

- BAHORUN T (1997). Substances Naturelles actives : La flore mauricienne une source d’approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, Food and Agriculturalresearch council, réduit, Mauritius, p83.
- BAYDAR H., FİHMI G. 1998. Antalya Dogal Florasında Bal Arısı (Apis mellifera)’nın Polen Toplama Aktivitesi, Polen Tercihi ve Farklı Polen Tiplerinin Morfolojik ve Kalite Özellikleri», Tr. J. of Agriculture and Forestry : 475-482.
- BAYTOP T. 1999. Therapy with Medicinal Plants in Turkey, Nobel Medical Publication, İstanbul , Turkey.
- BENABDALLAH A., RAHMOUNE C., BOUMENDJEL M., AISSI O., MESSAOUD C. 2016. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild Mentha species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. Ecology 6 (9) : 760-766.
- BENBOUALI M. 2006. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : "Mentha rotundifolia et Thymus vulgaris". Hassiba Ben Bouali, Chlef.
- BENSEGUENI-TOUNSI L., 2001. Etude in vitro de l’effet antibactérien et antiphagique de : Inulaviscosa-Lawsoniainernis- Asphodelusmicrocarpus- Aloevera- Juniperusoxydrus, Thèse de Magistère en médecine vétérinaire. Option Biologie Animale, Département de vétérinaire, Faculté des sciences, Université de Constantine.
- BERLETT BS., STADTMAN E R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. J Biol

BLANC M C., BRADESI P., GONÇALVES M J., SALGUEIRO L., CASANOVA J. 2006. Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *FlavourFragr. J.* 21(2):324-332.

BONNER G. *La grande flore*. Ed. Belin: 517.565.568.

BOUGUIRNE B. 2012. Conception et synthèse des dérivés phénoliques hautement

BOUSSOUF L., BOUTENNOUNE H., KEBIECHE M., ADJEROUDA N., AL-QAOUD K., MADANI K. 2017. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *Biochimie* 113 : 77-83.

BRADA M., BEZZINA M., MARLIER M., CARLIER A., LOGNAY G. 2007. Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *BiotechnolAgron Soc Env.* 11(1).

BRAHMI F., DAHMOUNE F., KADRI N., CHIBANE M., DAIRI S., REMINI H., OUKMANOU-BENSIDHOUM S., MOUNI L., MADANI K. 2016. Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia* (L.) Huds, *M. pulegium* L., extracted with different solvent systems. *Biophysique Biochimie* 10 : 9p.

BRAHMI-CHENDOUEH N., PICCOLELLA S., CRESCENTE G., PACIFICO F., BOULEKBACHE L., HAMRI-ZEGHICHI S., AKKAL S., MADANI K., PACIFICO S. 2019. A nutraceutical extract from *Inula viscosa* leaves: UHPLC-HR-MS/MS based polyphenol profile, and antioxidant and cytotoxic activities. 27 : 692-702.

BRULLO S., MARCO G., 2000. Taxonomical revision of the genus *K* *Dittrichia* (Asteraceae). *Portugaliae Acta Biologica.* 19: 341-354.

Bruneton J., 1999. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3^{ème} Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier, P. 207-211.

BUCCHINI A., RICCI D., MESSINA F., MARCOTULLIO M C., CURINI M., GIAMPERI L. 2015. Antioxidant and antifungal activity of different extracts obtained from aerial parts of *Inula crithmoides* L. 29 (12) : 1173-1176.

C

CAMACHO A., FERNÁNDEZ A., FERNÁNDEZ C., ALTAREJOS J., LAURENT R. 2000. Composition of the essential oil of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Riv. Ital. EPPOS.* 29:3-8.

CASAZZA, A. A., ALIAKBARIAN, B., MANTEGNA, S., CRAVOTTO, G. and PEREGO, P. (2010). Extraction of phenolics from

CAZIN F J. 1868. Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes acclimatées : avec un atlas de 200 planches lithographiées, ed, revue et augmentée par le docteur Henri Cazin. Ancien interne des hôpitaux de Pajis .PARIS.P.Asselin, successeur de bécet et labé libraire de la faculté de médecine place l'école-fie-médecine.

CHAHMI N., JENNAN S., ANISSI J., FARAH A., SENDIDE K., EL HASSOUNI M. 2015. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Biotechnology*, 5(3) :228-233.

CHEM. 1997;272(33):20313–6.modulators of cell function. ELSEVIER *Mutat Res.* 1995;316:103–22.

CHERITI A, RAHMANI S, BELBOUKHARI N, SEKKOUM K. EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE D'EXTRAITS AQUEUX DE FEUILLES *Limoniastrum feei* (PLUMBAGINACEA). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"* 2016;6(1):80-6.

COOKE M., EVANS M. 2003. Dizdaroglu, M., Lunec,J. Oxidative DNA damage :mechanisms, mutation, and disease, *FASEB Journal*, vol.17:1195-1214.5/5/.

D

DACOSTA Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques. Ed. Yves .Dacosta. Paris.

DANINO., GOTTLIEB H E., GROSSMAN S., BERGMAN M. 2009. Atioxidant activity of 1,3-dicaffeoylquinic acid isolated From *Inula viscosa*.*Food Res.Intern.*42,1273-1280.

DAVIES M. 2003. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochemical and Biophysical Research Communication* ,vol.305,pp.761-770.

DEAN R T., FU S., STOCKER R., DAVIES MJ. 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J.*(1):1–18.

DERRICHE R., MESSAOUDI S., LAHOVAZI N., AMROUCHE S. 2015. Teneur en Polyphénols et Activité Antioxydante des Huiles Essentielles, Hydrolats et Extraits des Feuilles de l'*Inula viscosa* (L.) Aiton d'Algérie. 4 : 35-38.

E

EL HAIB A. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques: Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier; 2011.

ESPOSITO E., ROTITIO D., DI MATTEO V., DI GIULIO C., CACCHIO M., ALGERI S. 2002. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiology of Aging* 23:719-735.

F

FAVIER A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la

Favier, A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* Mémoire de Activitésantioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64: 390-396.

FAVIER A., 1997. Le stress oxydant :intérêt de sa mise en évidence en biologie médicinale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* ,55(1) :9-16.

FERDJIOUI S., BELHATTAB R., AL-ZOUBI R. 2019. Chemical Composition and Antioxidant Effect of *Mentha rotundifolia* Extracts. 11 (3) : 521-526.

FERREIRA J., SANTOS S., PEREIRA H. 2020. In Vitro Screening for Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of *Quercus suber* Cork and Corkback Extracts. *Medicine* 2020 : 8p.

FOURNIER P. 1948. Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon.* from the genus *Inula*. *Chem. Biodivers.* 3,371–384.

G

GARNIER G., BÉZANGER-BEAUQUESNE L., DEBRAUX G. 1961. Ressources médicinales de la flore française. Vigot frère. Paris.1511.

GHOUDHURY P., KUMAR R., GRAG A. N. 2006. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) foressential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. *J. Pharm. Biomed. Aanl.*, 41:825-832.

GOVAERTS R. 2012. World checklist of *Stachys* L. facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet.

GUIGNARD J.L. 2001. Botanique, Systématique moléculaire. Ed. MASSON, Paris. 100 - 272.

H

HADI M. 2004. "La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs

HALIMI A. 1997. Les plantes médicinales en Algérie. P .158-159.

HANDA S.S. (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *In*: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) *Extraction Technologies,for Medicinal and Aromatic Plants.* International Centre For Science and High Technology,Trieste, Italy , p :21-54

HARLEY R.M., BRIGHTON C.A. 1977. Chromosome numbers in the genus *Mentha* L. Botanical Journal of the Linnean Society 74: 71-96.

HENDRIKS H., Van Os, F.H.L., 1976. Essential oils of two chemotypes of *M. suaveolens* during ontogenesis. Phytochemistry, 15:1127-1130 .

Houghton P. J., Raman A. 1998. "Laboratory Hand book for Fractionation of Natural Extracts". 1^{ère} éd; Londres, pp:29-31

I

IGNAT I., IRINA V., VALENTIN I. 15juin2011.«Acritical Review of méthodes for characterisation of phenolic compounds in fruits and vegetables». In: Food chemistry 126 (4):1821-1853.

ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI, J P. 1997. Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin , Larousse-Bordas.

Jhonson, F., Giulvi, C., 2005. Superoxide dismutases and their impact upon human health. Mol. Aspects Med. 26 :340-352.

K

KANNAN K., JAIN S K., 2000. Oxidative stress and apoptosis Pathophysiology. 7:153-163.

Kattouf ,J., Belmoukhtar ,M., Harnafi, H., Mekhfi, H., Ziyat, A., Aziz ,M., Bnouham, M., A., Legssyer, A., 2009. Effect of an aqueous extract of *Inula viscosa* leaves. Phytothérapie. 7, 309-312 .

KAUR R., CHAHAL K K. 2014. Chemistry and biological activity of some alantoloid from *Inula* species-A REVIEW.

KOKKIN, S., PAPAGEORGIOU V P. 1988. Constituents of Essential Oils from *Mentha X rotundifolia* Growing Wild in Greece . Planta Med. 38 : 166–167.

KRIEF S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées: MNHN Paris; 2003.

L

LAURO L., ROLIH C. 1990. Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait. Boll. Della Soc. Ital. Biol. Sper. 66(9):829-834.

LAWRENCE B M. 2007. Mint: The Genus *Mentha*. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles, CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton, FL.

Lebham (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes

LEV E., AMAR Z. 2000. Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century. *J. Ethnopharmacol.*72:191-205.

LI J W., FAN L P., DING S D., DING X L. (2007). Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chemistry*, 103 (2): 454-460.

LORENZO D., PAZ D., DELLACASSA E., DAVIES P., VILA R., CANIGUERAL S. 2002. Essential Oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Bras. Arch. Boil. Technol.* 45(4) : 519–524.

LUGASI A., HOVARI J., SAGI K V., BIRO L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szegedientisis* 1-4 : 119-125.

LUGASI A., HÓVÁRI J., SÁGI K V., BÍRÓ L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Bio. Szegediensis*, 47(1-4): 119-25.

LUSTRA C A., LÓPEZ A., MOTILVA V. 1993. Gastroprotection and prostaglandin e2 generation in rats by flavonoids of *dittrichia viscosa*. *Planta Med.* 59(6):497-501.

LUTHRIA, D. L. and MUKHOPADHYAY, S. (2005). Influence of sample preparation on assay of phenolic acids from eggplant. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54: 41 – 47.

M

MAHMOUDI H., HOSNI K., ZAOUALI., AMRI I., ZARGOUNI H., BEN HAMIDA N., KADDOUR R., HAMROUNI L., BEN NASRI M., OUERGHI Z. 2016. Comprehensive phytochemical analysis, Antioxidant and antifungal activities of *Inula viscosa* aiton leaves. *Physiologie et Biochimie* 36 : 77-88.

MAMOCI E., CAVOSKI I., ANDRES M F., DÍAZ C E., GONZALEZ-COLOMA A., 2012. Chemical characterization of the aphid antifeedant extracts from *Dittrichia viscosa* and *Ferula communis*. *Biochem. Syst. Ecol.* 43:101-107.

MATES J M., SANCHEZ-JIMENEZ F. 1999. Antioxidant enzymes and their implication in pathophysiological processes. *Front Biosci.*4:D 339-D345.

MERGHEM R. 2009. *Eléments de biochimie végétale*. Bahaeddine Editions: 95-121.

MOHTI H., TAVIANO M. F., CACCIOLA F., DUGO P., MONDELLO L., MARINO A., CRISAFI G., BENAMEUR Q., ZAID A., MICELI N. 2019. *Inula viscosa* (L.) Aiton leaves and flower buds: Effect of extraction solvent/technique on their antioxidant ability, antimicrobial properties and phenolic profile. 10 : 8p.

MONTAGNIER, L., OLIVIER, R., PASQUIER ,C., 1997. *Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases*. Marcel Dekker, New York: CRC Press. 576 p.

MOSSADDAK B. 1995. Investigation du polymorphisme chimique via la caractérisation chimiotaxinomique des menthes cultivées au Maroc, Thèse de DES ès-sciences physiques, spécialité chimie organique, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat.

N

NOR H., ZULKIFLY A. 2017. Microwave-Assisted Extraction Of Phenolic Compound From Pineapple Skins: The Optimum Operating Condition And Comparison With Soxhlet Extraction. *Analytical Sciences* 21 (3) : 690-699.

O

ORTIZ G G., PACHECO-MOISÉS F P., BITZER-QUINTERO O K., RAMÍREZ-ANGUIANO A C., FLORES-ALVARADO L J., RAMÍREZ-RAMÍREZ V., MACIAS-ISLAS M A., TORRES-SÁNCHEZ E D. 2013 Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach. *Clinical and Developmental Immunology* :1-14.

P

PARK P J., JUNG W K., NAM K S., SHAHIDI F., KIM S K. 2001. Purification and Characterisation of antioxidative peptides from proteinhydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American oil Chemists Society*, 78(6):651-656.

PÉREZ-ALONSO M J., VELASCO-NEGUERUELA A., DURU M E., HARMANDAR M., GARCÍA VALLEJO M C. 1996. Composition of the Volatile Oil from the Aerial Parts of *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Flavour Fragr. J.* 11(6):349-351. 1996.

PIGNATTI S., 1982. *Flora d'Italia*. Edagricole.

PINCEMAIL J. Comment évaluer votre état de stress oxydant. *Journal de santé*, 2004, pp.2-4.

Prior, R., Cao, G., 1999. Antioxidant Capacity and Polyphenol Compounds of Teas. *PSEBM*. 220:225-261.

Q

QUEZEL P., SANTA S. 1963. Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II.

radicaux libres; études et applications thérapeutiques". These de doctorat. Université Louis Pasteur.

R

RAMAKRISHNA A., RAVISHANKAR G A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 6(11), 1-12.

RAMEAU J C., DOMIQUE MANSION D., DUMÉ G., GAUBERVILLE C., BARDAT J., BRUNO E., KELLER R. 2008. Flore forsière francais :guide ecologie illustré. Flore forestière française tome 3 : Région méditerranéenne (Français) Baguettes de reliure plastique – 29 juillet 2008

REMACLE J, RAES M, TOUSSAINT O, RENARD P, RAO G. Low levels of reactive oxygen speciesas .

RHIMI W., HLEL R., BEN SALEM I., BOULILA A., REJEB A., SAIDI M. 2019. *Dittrichia viscosa* L. Ethanolic Extract Based Ointment with Antiradical, Antioxidant, and Healing Wound Activities. 2019 : 10p.

RIahi, L., ELFERCHICHI, M., GHAZGHAZI ,H., JEBALI, J., ZIADI, S., AOUADHI, C., CHOGRANI, H.,

RÍOS-ARRABAL,S., ARTACHO-CORDÓN,F., LEÓ, J., ROMÁN-MARINETTO ,E., SALINAS-ASENSIO, M.M., CALVENTE, I. NÚÑEZ M.I., 2013. Involvement of free radicals in breast cancer. Springerplus, 2(404); 1-12.

S

SALIM.H, WALEED H., RIMAWI., MJAHEd A. 2017. Analysis of Extracts From Palestinian *Inula Viscosa* for Their Phenolic, Flavonoid and Lipid Contents, Antioxidant and Antibacterial Activity. Chemistry and Biochemistry 5 (1) : 12-23.

SELADJI M., BELMEKKI N., BEKHECHI C., BENDIMERAD N. 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of *Mentha rotundifolia* L. from Algeria. 26 (1) : 228-234.

SHIMIZU H., 2004. Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study ,*Stroke*,35(9):2072-2077.

SILVA, D., DENHAM, E., FALEIRO, L., MIGUEL, G., CAVALEIRO, C., et SALGUEIRO,L., 2005. Antimicrobial activity of the essential oils of *dittrichia viscosa* subsp. *Viscosa* on *helicobacter pylori*. *Int.Soc. Hortic. Sci.* 6:147-151.

SÍLVIA, M.A., SOFIA,L.A., GRAÇA,M.M., LUIS,G.P., JOSÉ,B., CRISTINA,A.F., 2011. Antioxidant,anti-5-lipoxygenase and antiacetylcholinesterase activities of essential oils and decoction 97 waters of some aromatic plants – proquest. *Records of Natural Products.* 6(1):35-48.

SINGLETON V, ROSSI JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture.* 1965;16(3):144-58.

STALIKAS, C.D., 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep.Sci.*, 30(18): 3268-95.

T

TRIMECH I., KRISZTINA WEISS E., SANDA V. 2014. evaluation de l'activité antioxydante et de l'acétylcholinestirases et identification des polyphénols de la mauvaise herbe envahissante *Dittrichia Viscosa*. 25 (5) : 12p.

V

VILMORINE-Andrieux , cie.1989. les fleurs de pleine terre.

Vitis Vinifer. wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, 100: 50 – 55.

W

WAMIDH, H. TALIB, MUSA, H. ABU ZARGA A, M. MAHASNEH , 2012. Antiproliferative, Antimicrobial and Apoptosis Inducing Effects of Compounds Isolated from *Inulaviscosa*, *Molecules*, 17, 3291-3303

WANG, J., LI, R., TAN, j., et Z.-T. JIANG, Z.-T., 2013. Effect of drying on essential oil yields and chemical composition of pineapple mint (*mentha rotundifolia* 'variegata') from China. *J. Essent. Oil Bear. Plants*. 16(5) : 630-635.

WOLINSKY, I., 1998. Nutrition in Exercise and Sport. 3th edition. New York: CRC press.
www.tela-botanica.org

Y

YAO, J.K , REDDY, R.D , MCELHINNY, L.G ., 1998. Effect of haloperidol on antioxidant defense system enzymes in schizophrenia. *J Psychitar Res*, 77:29-34.

YEPEZ, B. , ESPINOSA, M., LOPEZ, S. BOLANOS G., 2002. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction, *Fluid Phase Equilibria* 164-197, 879-884.

Z

ZHAO, Y.-M., ZHANG, M.-L., SHI, Q.-W., KIYOTA, H., 2006. Chemical constituents of plants

ZOGHLAMI , N., MLIKI, A., 2013. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Ind. Corps Prod.*, 49 : 883-889 .

Annexes

1. BENABDALLAH A., RAHMOUNE C., BOUMENDJEL M., AISSI O., MESSAOUD C. 2016. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Ecology* 6 (9) : 760-766.
2. BOUSSOUF L., BOUTENNOUNE H., KEBIECHE M., ADJEROUDA N., AL-QAOUUD K., MADANI K. 2017. Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *Biochimie* 113 : 77-83.
3. BRAHMI F., DAHMOUNE F., KADRI N., CHIBANE M., DAIRI S., REMINI H., OUKMANOU-BENSIDHOUM S., MOUNI L., MADANI K. 2016. Antioxidant capacity and phenolic content of two Algerian *Mentha* species *M. rotundifolia* (L.) Huds, *M. pulegium* L., extracted with different solvent systems. *Biophysique Biochimie* 10 : 9p.
4. Brahmi-Chendouh N., Piccolella S., Crescente G., Pacifico F., Boulekbache L., Hamri-Zeghichi S., Akkal S., Madani K., Pacifico S. 2019. A nutraceutical extract from *Inula viscosa* leaves: UHPLC-HR-MS/MS based polyphenol profile, and antioxidant and cytotoxic activities. *27* : 692-702.
5. CHAHMI N., JENNAN S., ANISSI J., FARAH A., SENDIDE K., EL HASSOUNI M. 2015. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Biotechnology*, 5(3) :228-233.
6. Derriche R., Messaoudi S., Lahouazi N., Amrouche S. 2015. Teneur en Polyphénols et Activité Antioxydante des Huiles Essentielles, Hydrolats et Extraits des Feuilles de l'*Inula viscosa* (L.) Aiton d'Algérie. *4* : 35-38.
7. FERDJIOUI S., BELHATTAB R., AL-ZOUBI R. 2019. Chemical Composition and Antioxidant Effect of *Mentha rotundifolia* Extracts. *11* (3) : 521-526.
8. Ferreira J., Santos S., Pereira H. 2020. In Vitro Screening for Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of *Quercus suber* Cork and Corkback Extracts. *Medicine* 2020 : 8p.
9. Mahmoudi H., Hosni K., Zaouali., Amri I., Zargouni H., Ben Hamida N., Kaddour R., Hamrouni L., Ben Nasri M., Ouerghi Z. 2016. Comprehensive phytochemical analysis, Antioxidant and antifungal activities of *Inula viscosa* aiton leaves. *Physiologie et Biochimie* 36 : 77-88.
10. Mohti H., Taviano M. F., Cacciola F., Dugo P., Mondello L., Marino A., Crisafi G., Benameur Q., Zaid A., Miceli N. 2019. *Inula viscosa* (L.) Aiton leaves and flower buds:

Effect of extraction solvent/technique on their antioxidant ability, antimicrobial properties and phenolic profile. 10 : 8p.

11. NOR H., ZULKIFLY A. 2017. Microwave-Assisted Extraction Of Phenolic Compound From Pineapple Skins: The Optimum Operating Condition And Comparison With Soxhlet Extraction. *Analytical Sciences* 21 (3) : 690-699.
12. RHIMI W., HLEL R., BEN SALEM I., BOULILA A., REJEB A., SAIDI M. 2019. *Dittrichia viscosa* L. Ethanolic Extract Based Ointment with Antiradical, Antioxidant, and Healing Wound Activities. 2019 : 10p.
13. SALIM H., WALEED H., RIMAWI., MJAHEB A. 2017. Analysis of Extracts From Palestinian *Inula Viscosa* for Their Phenolic, Flavonoid and Lipid Contents, Antioxidant and Antibacterial Activity. *Chemistry and Biochemistry* 5 (1) : 12-23.
14. SELADJI M., BELMEKKI N., BEKHECHI C., BENDIMERAD N. 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of *Mentha rotundifolia* L. from Algeria. 26 (1) : 228-234.
15. TRIMECH I., KRISZTINA WEISS E., SANDA V. 2014. evaluation de l'activité antioxydante et de l'acétylcholinestirases et identification des polyphénols de la mauvaise herbe envahissante *Dittrichia Viscosa*. 25 (5) : 12p.

ملخص

من أجل تحديد تأثير طريقة الاستخلاص ومذيبات الاستخلاص على نشاط مضاد الأكسدة في النبتتين طيون الدبق و النعناع مستدير الشكل. لقد قمنا بالاستخلاص من أجل الحصول على مستخلصات ميثانولي، أسيتونية، إيثانولية باستعمال طريقتين مختلفتين النوع البارد و الاستخلاص الساخن (Montage à ferlux). أظهرت نتائج المردود قيما (من 15% إلى 69%). أظهرت نتائج المركبات الفينولية و كذلك الأنشطة المضادة للأكسدة اختلافات وفقا لنوع المذيب و طريقة الاستخلاص.

الكلمات المفتاح: طيون الدبق، النعناع مستدير الشكل، استخلاص، نشاط مضادات الأكسدة، مركبات الفينول، مركبات الفلافونويد، مذيب.

Résumé

Afin de déterminer l'effet de la méthode d'extraction et le solvant d'extraction sur l'activité antioxydante des deux plantes *Inula viscosa* et *Mentha rotundifolia*. Nous avons réalisé l'extraction pour l'obtention des extraits méthanolique, acétonique, éthanolique par deux méthodes différentes macération à froid et extraction à chaud (montage à reflux). Les résultats de rendement montrent des valeurs de (15% à 69%) Les résultats des teneurs des composés phénoliques et flavonoïdes ainsi que l'activité antioxydante montrent des variations selon le solvant et la méthode d'extraction.

Mots clés : I. viscosa, M. rotundifolia, extraction, activité antioxydante, polyphénol, flavonoïde, solvant.

Abstract

To determine the effect of the extraction method and the extraction solvent on the antioxidant activity of the two plants *Inula viscosa* and *Mentha rotundifolia*. We performed the extraction to obtain the methanolic, acetone, ethanolic extracts by two different cold maceration and hot extraction methods (reflux mounting). The yield results show values of (15% to 69%) The results of the levels of phenolics and flavonoids as well as the antioxidant activity show variations depending on the solvent and the extraction method.

Key words : I. viscosa, M. rotundifolia, extraction, antioxidant activity, polyphenol, flavonoid, solvent.