



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 :
Chahrazed REMADNA

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

Etude Phytochimique et évaluation des activités biologiques des différents extraits des tiges *Juncus maritimus*

Jury :

Mme. SOULEF KRIKER	MAA	Université de Biskra	Président
M. Samir ZEROUAL	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Amel CHOUIA	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciement

Un remerciement tout particulier à mon encadreur, **Ms. ZEROUAL Samir**, qui a directement adopté mon projet mémoire ; et qui m'a toujours accordé patience, soutien et confiance, me guidant constamment vers de nouvelles connaissances et formations enrichissantes.

Je remercie Mme. KRIKER Soulef et Mme. CHOUIA Amel qui ont accepté de siéger dans le jury de ce mémoire, doivent aussi trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie très chaleureusement, **Ms. DGHIMA Amiroche** pour son aide précieux malgré les distances, sa compétence scientifique et ces conseils techniques. Merci pour ton soutien et ta gentillesse.

Je remercie également **Mme. TRABSA Hayat** et **Ms. AMIRI Toufik** et **Ms. CHERFAOUI Mouloud** pour leurs précieux conseils et leurs aides.

Je remercie vivement toute l'équipe du laboratoire de l'université Mohamed khider
Biskra

A mes collègues et amis, Djaouida, Khaoula, Loubna, Nadia, Selma, Yamina, Yassine merci infiniment pour avoir rendu mon mémoire agréable et passionnante, tous mes encouragements pour la suite

Mes remerciements également à tous mes enseignants, pour les informations et les aides au coures des années de mes études,

A mes parents, un merci ne serait répondre à votre soutien, sans vous, je n'aurais pas pu mener à bien ce travail.

Merci !

Dédicace

*A ma chère **Maman**, merci d'avoir toujours été derrière moi et de m'avoir soutenue toutes ces années.*

*A mon cher **Papa**, merci d'avoir été là et de m'avoir poussé à persévérer dans cette voie. Vous avez toujours cru en moi et sans vous je ne serai pas là aujourd'hui ! J'espère que vous êtes fiers de moi, si je suis arrivée jusque-là c'est grâce à vous. Merci, vous êtes des parents formidables.*

*A mon cher frère **Mohamed-El Fateh***

*A mes chers **grands parents** paternels et maternels, que **DIEU** garde leurs âmes dans son vaste paradis*

*A mes oncles et mes tantes et leurs enfants surtout a mon cher oncle **Salim** et sa femme **Nadia** et tous leurs enfants*

*A tous mes chers collègues et amis spécialement: **Khaoula, loubna, Djaouida, Selma, Yamina, Nadia, Ibtissem, kawther, Anfel, Meriem, Houda, Lamia, Amel, Yassine***

Chahrazed....

Sommaire

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Peremière partie: SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. PRESENTATION DE LA PLANTE ET LES METABOLITES SECONDAIRES

1.1. Présentation de la plante.....	3
1.1.1. La famille Juncaceae	3
1.1.2. Le genre <i>Juncus L.</i>	3
1.1.3. L'espèce <i>Juncus maritimus</i>	3
1.1.3.1. Conditions climatiques de l'espèce <i>Juncus maritimus</i>	4
1.1.3.2. Classification	4
1.1.3.3. Usage thérapeutique	4
1.2. Les métabolites secondaires.....	5
1.2.1. Les composés phénoliques	5
1.2.1.1. Définition des composés phénoliques	5
1.2.1.2. Classification des composés phénoliques.....	5
a. Les acides Phénoliques	5
b. Les flavonoïdes.....	6
c. Les tanins.....	7
1.2.2. Les alcaloïdes	7
1.2.3. Les terpènes.....	7

Chapitre 2. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES ETUDIES

2.1. Activité anti-oxydante	8
2.1.1. Stress oxydatif.....	8
2.1.2. Radicaux libres.....	8
2.1.3. Source des radicaux libres.....	8
2.1.4. Antioxydants	8
2.1.4.1. Définition des antioxydants.....	8
2.1.4.2. Classification des antioxydants	8
a. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes.....	8
b. Systèmes antioxydants non-enzymatiques	9
2.2. L'activité anti-inflammatoire	9
2.2.1. L'inflammation.....	9
2.2.2. Les acteurs de l'inflammation	10
2.2.3. Les phases de l'inflammation	10

2.2.4. Définition des anti-inflammatoires.....	10
2.2.5. Les types des anti-inflammatoires.....	10
2.2.5.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	10
2.2.5.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	10

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel.....	11
3.1.1 Matériel végétal.....	11
3.1.2. Matériel animal.....	11
3.2. Méthodes.....	11
3.2.1. Détermination des métabolites secondaire.....	11
3.2.1.1. Dosage des composés phénoliques.....	11
a. Principe.....	12
b. Réactifs et extraits utilisés.....	12
c. Mode opératoire.....	12
d. Expression des résultats.....	12
3.2.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	12
a. Principe.....	13
b. Réactifs et extraits utilisés.....	13
c. Mode opératoire.....	13
d. Expression des résultats.....	13
3.2.1.3. Dosage des tanins condensés.....	13
a. Principe.....	13
b. Préparation des solutions.....	13
c. Mode opératoire.....	14
d. Expression des résultats.....	14
3.2.2. L'Activité antioxydante.....	14
3.2.2.1. Test antiradicalaire (test DPPH).....	14
a. Principe.....	14
b. Préparation des solutions.....	14
c. Mode opératoire.....	14
d. Expression des résultats.....	15
3.2.2.2. La méthode de pouvoir réducteur.....	15
a. Principe.....	15
b. Préparation des solutions.....	15
c. Mode opératoire.....	15
d. Expression des résultats.....	16
3.2.2.3. La méthode de l'activité antioxydante totale.....	16

a. Principe.....	16
b. Préparation des solutions.....	16
c. Mode opératoire.....	16
d. Expression des résultats.....	16
3.2.2.4. Test antiradicalaire ABTS+.....	17
a. Principe.....	17
b. Préparation des solutions.....	17
c. Mode opératoire.....	17
d. Expression des résultats.....	17
3.2.3. L'activité anti-inflammatoire.....	18
3.2.3.1. Test de la dénaturation des protéines (BSA).....	18
a. Mode opératoire.....	18
b. Expression des résultats.....	18
3.2.3.2. L'activité anti- inflammatoire (<i>in vivo</i>).....	18
a. Mode opératoire.....	18
b. Expression des résultats.....	20
3.3. Etude statistique.....	20
Chapitre 4. RESULTATS ET DISCUSSION	
4.1. Détermination des métabolites secondaire.....	22
4.1.1. Teneurs en composés phénoliques.....	22
4.1.2. Teneur en flavonoïdes.....	24
4.1.3. Teneur en tanins condensés.....	26
4.2. Evaluation de l'activité antioxydant.....	27
4.2.1. Test de DPPH.....	27
4.2.2. Test pouvoir réducteur.....	31
4.2.3. Activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate (TAC).....	33
4.2.4. Test antiradicalaire (ABTS).....	35
4.3. Activité anti-inflammatoire.....	38
4.3.1. Test dénaturation des protéines (BSA).....	38
4.3.2. Activité anti-inflammatoire (<i>in vivo</i>).....	39
4.4. Analyse statistique.....	42
Conclusion.....	44
Références bibliographiques.....	45
Annexes	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Systématique de la plante <i>Juncus maritimus</i>	4
Tableau 2. Pouvoir réducteur des différents extraits et standard de <i>Juncus maritimus</i>	32
Tableau 3. Les pourcentages d'inhibitions de la dénaturation des protéines.....	38
Tableau 4. Coefficient de corrélation linéaire entre les teneurs en Composés phénoliques, Flavonoïdes, Tanins condensés et les activités antioxydants de <i>Juncus maritimus</i>	43

Liste des Figures

Figure 1. La plante <i>Juncus maritimus</i>	3
Figure 2. L'acide benzoïque et l'acide cinnamique et leurs dérivés.....	6
Figure 3. Groupes des souris <i>Wister Albinos</i> males.....	11
Figure 4. Induction de l'extrait et le standard par gavage.....	19
Figure 5. L'induction du l'oreille droite du souris par le xylène	20
Figure 6. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques	22
Figure 7. Teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits.....	23
Figure 8. Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes.....	24
Figure 9. Teneurs en Flavonoïdes des différents extraits	25
Figure 10. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	26
Figure 11. Teneurs en tanins condensés des différents extraits.....	26
Figure 12. Activité antioxydante des extraits exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH.....	28
Figure 13. Courbe d'étalonnage d'acide gallique de l'activité anti radicalaire (DPPH)	28
Figure 14. Variation d'IC ₅₀ des extraits actifs avec les standards utilisés.....	29
Figure 15. Les absorbances de pouvoir réducteur des différents extraits en fonction de la concentration	31
Figure 16. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de pouvoir réducteur	32
Figure 17. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test de la capacité antioxydante	34
Figure 18. La capacité antioxydante des différentes fractions et le standard	34
Figure 19. Les pourcentages d'inhibitions de radical libre ABTS+ des différents extraits en fonction de la concentration	36
Figure 20. IC ₅₀ de différentes fractions et le standard effectué par le test ABTS.....	37
Figure 21. Avant l'application du xylène sur l'oreille droite de la souris	40
Figure 22. Après l'application du xylène sur l'oreille droite de la souris	40
Figure 23. Pourcentage d'inhibition d'œdème des groupes traités avec le Dexaméthasone et l'extrait à différentes doses.....	41

Liste des abréviations

ABTS: 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AlCl₃: Chlorure d'aluminium.

BHA: Butylhydroxyanisole.

BHT: Butylhydroxytoluène.

BSA: Bovine serum albumin

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DMSO: Diméthylsulfoxyde

EAG: équivalent acide gallique.

EAA: équivalent acide ascorbique.

EC: équivalent catéchine.

EQ: équivalent quercétine.

ER: équivalent Rétinol

ES: Extrait sec

FRAP: ferric reducing antioxidant power

IC₅₀: Concentration d'inhibition 50%

MeOH: Méthanol

MS: Matière sèche.

TCA: Trichloroacétique

TAC: Total antioxidant Capacity

UV: ultraviolet

Introduction

Introduction

Il existe de nombreuses preuves que les espèces réactives oxygène / azote générées dans le corps humain peuvent causer des dommages oxydatifs associée à de nombreuses maladies dégénératives telles que l'athérosclérose, les maladies coronariennes, le vieillissement et le cancer (Finkel et Holbrook, 2000 ; Madhavi *et al.*, 1996)

Cependant, il est largement admis que certains antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole et le butylhydroxytoluène ne doivent pas être remplacés par des antioxydants naturels en raison de leurs risques potentiels pour la santé et de leur toxicité (Ito *et al.*, 1986 ; Safer et Al-Nughamish, 1999).

Par conséquent, il est très important de savoir des nouvelles sources de coffres-forts d'antioxydants non coûteux d'origine naturelle. De nombreuses plantes médicinales contiennent des grandes quantités des antioxydants tels que les polyphénols, qui peuvent jouer un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres, en éteignant les singulets et triple oxygène ou peroxydes en décomposition (Anderson *et al.*, 2001).

Beaucoup de ces composés phytochimiques possèdent des capacités antioxydantes importantes qui sont associée à des taux d'occurrence et de mortalité plus faibles de plusieurs maladies humaines (Anderson *et al.*, 2001)

Pour cette raison les plantes médicinales ont été utilisées, du temps antique, pour prévenir et traiter divers problèmes de santé. Les plantes sont toujours une source indépendante de médicaments dans la prestation de soins de santé contemporaine système (Asres *et al.*, 2003)

Juncus L. constituent un genre largement répandu et présent dans de nombreuses parties des deux hémisphères (Weimarck, 1946 ; Tyler, 1969).

Ces espèces poussent généralement dans les marais salés ou les sols mal drainés sous différentes conditions climatiques. Il existe une grande diversité dans le genre *Juncus*, aussi bien en termes de composition chimique que d'activités biologiques. Ces plantes ont souvent été utilisées en médecine traditionnelle et ont également été étudiées auparavant pour leur activité antitumorale, anti-oxydante, antivirale, anti-algale, antimicrobienne, cytotoxique et anti-inflammatoire, anti-eczématisque et hépatoprotecteur (El-Shamy *et al.*, 2015).

De plus, une panoplie des composés ont été caractérisés dans le genre *Juncus*, notamment des flavonoïdes, coumarines, terpènes, stilbènes, acides phénoliques, caroténoïdes

et d'une manière plus fréquente, des phénanthrènes (monomériques et dimériques). Ces derniers sont les plus étudiés dans le genre *Juncus* (El-Shamy *et al.*, 2015 ; Sahli, 2017).

L'objectif de ce travail est de réaliser :

Dans la première partie, une étude quantitative des composés phénoliques des différents extraits des tiges de la plante « *Juncus maritimus* » par estimation de la teneur en polyphénols totaux et flavonoïde, tanins condensés.

La deuxième partie de ce travail nous sommes intéressés d'une part, à l'évaluation de l'activité antioxydants (*in vitro*) des ces extraits en utilisant quatre méthodes différentes et d'autre part de l'activité anti-inflammatoire (*in vitro*) par la méthode de la dénaturation des protéines BSA et (*in vivo*) par testée l'activité anti-inflammatoire de fraction d'acétate d'éthyle sur les souris males *Wistar albinos*.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Présentation de la Plante et les métabolites secondaires

1.1. Présentation de la plante

1.1.1. La famille Juncaceae

Juncaceae est une très grande famille répartie dans le monde entier (El-Shamy *et al.*, 2015). Il occupe une position assez unique parmi les angiospermes. La famille Juncaceae est composée de huit genres sont *Juncus*, *Luzula*, *Oxychloe*, *Distichia*, *Patosia*, *Marsippospermum*, *Rostkovia*, *Prionium* (Balslev, 1996).

1.1.2. Le genre *Juncus* L

Juncus L. est le genre le plus important. Les espèces les plus célèbres de ce genre sont: *Juncus acutus* L., *Juncus bufonus* L., *Juncus effusus* L., *Juncus inflexus* L., *Juncus fontanessi* Gay à Lah. *Juncus littoralis* C.A.May., *Juncus punctoritus* L.f., *Juncus rigidus* C.A.May., *Juncus subulatus* Forssk, *Juncus roemerianus* L., *Juncus inflexus* L. et *Juncus alpinus* V (Tackholm, 1974).

1.1.3. L'espèce *Juncus maritimus*

Juncus maritimus une plante herbacée vivace, vigoureuse, glabre, atteignant 1 mètre de hauteur. Les rhizomes sont traçants. Les tiges sont raides, nues, pleines, Les feuilles sont toutes radicales, peu nombreuses, égalant presque les tiges, dressées, cylindriques, piquantes. Les fleurs sont de couleur verte pâle, en panicules, fournies, lâche-décomposées, un peu latérales, souvent dépassées par une bractée (Sahli, 2017)



Figure 1. La plante *Juncus maritimus* (photo originale)

1.1.3.1. Conditions climatiques de l'espèce *Juncus maritimus*

Les espèces du genre *Juncus* sont présentes dans les terres humides du monde entier, mais sont plus rares sous les tropiques que dans les régions tempérées (Brink et Achigan-Dako, 2012).

Juncus maritimus est bien distribué dans le monde. Il se rencontre en zone méditerranéenne et s'étend en Afrique et en Europe. Il se trouve aussi en Asie et en Amérique. Elle se trouve en abondance dans les zones côtières et dans les sebkhas (Sahli, 2017)

1.1.3.2. Classification

Nom scientifique : *Juncus maritimus*

Nom français : Jonc maritime

Nom vernaculaire : Smâr

Tableau 1. Systématique de la plante *Juncus maritimus* selon (Hagemeyer, 1996)

Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Juncales
Famille	Juncaceae
Genre	<i>Juncus</i>
Espèce	<i>Juncus maritimus</i> L

1.1.3.3. Usage thérapeutique

Cette plante est connue pour ses vertus médicinales surtout comme analgésique sous forme de cataplasme et pour les problèmes de la peau (Kherraze *et al.*, 2014).

Les graines de *Juncus* sont utilisées en oriental comme remède contre la diarrhée (Tackholm et Drar, 1950). Les rhizomes de *Juncus maritimus* sont recommandés pour l'insomnie (Miles *et al.*, 1977) et les fruits en décoction sont indiqués contre le diabète (Benkhniq *et al.*, 2014).

1.2. Les métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, 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 (Krief, 2003). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002).

1.2.1. Les composés phénoliques

1.2.1.1. Définition des composés phénoliques

Ils sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituant. Souvent, les composés phénoliques se présentent liés à des glucosides. Ils sont présents dans presque toutes les plantes et s'accumulent dans toutes les parties de l'organisme. Les composés phénoliques sont décrits comme potentiellement actifs, ils représentent une famille très diversifiée (Richter, 1993; Bruneton, 2009).

1.2.1.2. Classification des composés phénoliques

Une classification de ces substances a été proposée par (Harborne, 1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base. Les principales classes sont largement répandues : Les acides phénoliques, Les flavonoïdes, Les tanins et lignines, plus rares, les coumarines, les stilbènes.

a. Les acides Phénoliques

Les acides phénoliques sont l'une des autres classes phénoliques principales du règne végétal et se présentent sous forme d'esters, de glycosides ou d'amides, mais rarement sous forme libre. La variation en acides phénoliques est dans le nombre et l'emplacement des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique (Pereira *et al.*, 2009).

Les acides phénolique peuvent être divisés en deux types principaux: l'acide hydroxycinnamique et l'acide hydroxybenzoïque (Chanforan, 2010).

Acide phénols dérivés d'acide benzoïque (Brianceau, 2015).

- Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque.

-Ont une structure générale de base de type (C6-C1).

- Existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides

Acide phénols dérivés d'acide cinnamique (Brianceau, 2015).

- Dérivent de l'acide cinnamique.

- Ont une structure générale de base de type (C6-C3).

- Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques.

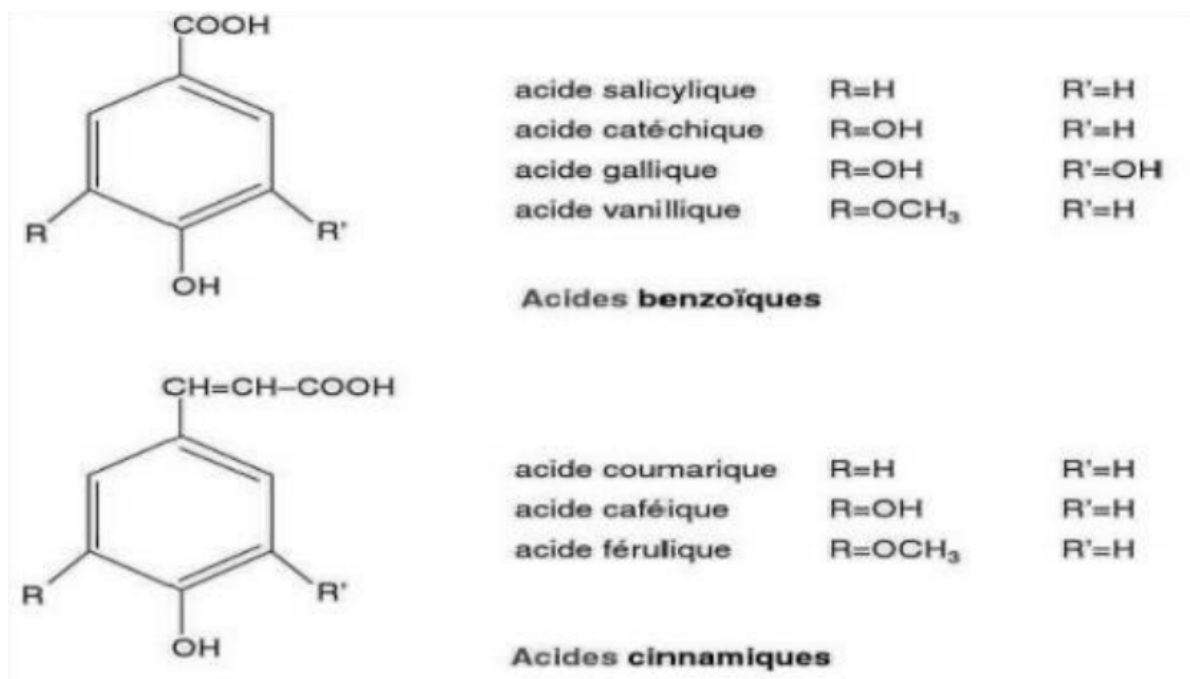


Figure 2. L'acide benzoïque et l'acide cinnamique et leurs dérivés (Navarre, 2010)

b. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes font partie des composés phénoliques les plus courants. Ils sont largement répandus dans les tissus végétaux et sont souvent responsables, aux côtés des caroténoïdes et des chlorophylles, de leurs couleurs bleu, violet, jaune, orange et rouge. La famille des flavonoïdes comprend les flavones, les flavonols, les iso-flavonols, les anthocyanines, les anthocyanidines, les proanthocyanidines et les catéchines (Rong, 2010 ; Ferreira et Pinho, 2012).

Tous les flavonoïdes sont dérivés des acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine, et ont des structures à trois cycles (Routray et Orsat, 2012).

La variation de la structure des flavonoïdes découle de l'ampleur et de la structure des réactions d'hydroxylation, de prénylation, d'alcalinisation et de glycosylation qui modifient la molécule basique (Stalikas, 2007).

c. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandu dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelques fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes. On distingue: les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Roux et Catier, 2007).

*** Les tanins condensés**

Sont des oligomères ou des polymères de flavones 3-ols, ils sont plus résistants à l'hydrolyse par rapport aux tanins hydrolysables et seuls les attaques chimiques fortes capables de les dégrader (Brunton, 1999).

*** Les tanins hydrolysables**

Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom le montre, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique; ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et d'eau chaude. Des tanins hydrolysables dont certains sont isolés des racines (Silva *et al.*, 2000) et des écorces de tronc de *Terminalia macroptera*. (Conrad *et al.*, 2001)

1.2.2. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit pour la première fois par le pharmacien allemand Meissner. Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Bruneton, 1999 ; Zenk et Juenger, 2007). Ils sont extraits en majorité (15%-30%) des plantes à fleurs (Kapoor, 1995). En effet, environ 10.000 alcaloïdes de structures différentes ont été isolés à partir de plusieurs plantes regroupés en ~300 familles (Raffauf, 1996).

1.2.3. Les terpènes

Ces substances organiques font partie des métabolites secondaires, les plus répandus dans la nature (Bouvier *et al.*, 2005). En effet, plus de 36.000 structures différentes ont été identifiées (Hill, 2002). Plusieurs sont isolés à partir des fleurs, des tiges, des racines des différentes parties des plantes (Schulz *et al.*, 2003).

Chapitre 2

**Les activités
Biologiques étudiées**

2.1. Activité anti-oxydante

2.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et les pro-oxydants (Meda *et al.*, 2013), que ce soit par un déficit dans les mécanismes de défense comprenant des composés et des enzymes antioxydantes (Albayrak *et al.*, 2013) ou une surproduction des radicaux libres (Duran- bedolla *et al.*, 2013).

2.1.2. Radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EAO) (Favier, 2003).

2.1.3. Source des radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (Favier, 2006).

2.1.4. Antioxydants

2.1.4.1. Définition des antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Shimizu, 2004).

2.1.4.2. Classification des antioxydants

a. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase (Mates *et al.*, 1999; Sharma *et al.*, 2012).

b. Systèmes antioxydants non-enzymatiques

*** Systèmes antioxydants endogènes**

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion, largement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir *in vitro*, avec les radicaux HO•, RO₂•, RO•, 1O₂, ONOO (Rezaire, 2012).

Les deux formes, oxydée et réduite, de l'acide lipoïque, autre composé appartenant aux thiols, présentent des propriétés antioxydantes *in vitro* en piégeant les HO•, RO₂•, l'HOCl et l'¹O₂ (Rezaire, 2012).

*** Systèmes antioxydants exogènes**

Les antioxydants chimiques exogènes, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

2.2. L'activité anti-inflammatoire

2.2.1. L'inflammation

La réaction inflammatoire est la réponse de l'organisme à une agression ayant pour origine des éléments physiques : chaleur, froid, rayonnements ionisants.....etc. ou des éléments solides exogènes ou endogènes : pathogènes microbiens, piqûre d'insecte, produits chimiques ou biologiques, composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines...). Quelle que soit la nature du facteur déclenchant, les manifestations de la réponse inflammatoire seront les mêmes mais avec des intensités et des durées variables. La réaction inflammatoire peut être aiguë, voire suraiguë ; se manifeste immédiatement après l'intrusion des micro-organismes et dure jusqu'à 48 h environ. La réaction inflammatoire peut aussi être chronique et ainsi durer des semaines, voire des années (Zerbato, 2010).

L'inflammation est dite :

- Primaire (ou aiguë) quand elle est de cause immédiate et localisée
- Secondaire (ou chronique) lorsqu'elle est plus étendue comme c'est le cas de l'inflammation rhumatismale (Moulin, 1998 ; Miossec, 2003).

2.2.2. Les acteurs de l'inflammation

Il en existe deux types :

- Les cellules de l'inflammation : qui peuvent être innées, c'est à dire qu'il existe un «pool» circulant de ces cellules qui permet de détecter un éventuel problème ou au contraire, acquises, c'est à dire recrutées au cours de l'inflammation pour des besoins spécifiques.

- Les médiateurs de l'inflammation qui orchestrent cette dernière en recrutant les cellules nécessaires à son déroulement (Lonjon, 2015).

2.2.3. Les phases de l'inflammation

La réponse inflammatoire peut être divisée en trois phases :

- Une phase d'initiation qui fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et qui met en jeu des effecteurs primaires.

- Une phase d'amplification avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires.

- Une phase de résolution et de réparation qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé (Zerbato, 2010).

2.2.4. Définition des anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires appartiennent à des classes chimiques très variées et agissent de façon purement symptomatique sur la réaction aspécifique des tissus à un agent agresseur et évitent la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Muster, 2005).

2.2.5. Les types des anti-inflammatoires

2.2.5.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase (COX). (Ortega *et al.*, 2014).

2.2.5.2 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes ce sont des dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immune (Kessel *et al.*, 2014).

Partie

Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1 Matériel végétal

La plante *Juncus maritimus* a été récoltée à Foughala qui se situe environ à 50 km de Biskra. Nous avons utilisé que la partie aérienne de la plante (la tige).

On a 6 extraits préparés déjà qui sont (Aqueux, Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle et n-Butanol, Brut).

3.1.2. Matériel animal

L'étude *in vivo* a été réalisée sur 16 souris *Wistar Albinos* males qui sont présentés dans la figure 3 dont le poids varie entre 32,1 à 50 g, ils ont été obtenus à partir de l'institut de Pasteur d'Alger, Algérie. Les animaux sont hébergés dans des cages en groupes de 4 avec accès libre à l'eau et l'aliment standard jusqu'à leur utilisation.

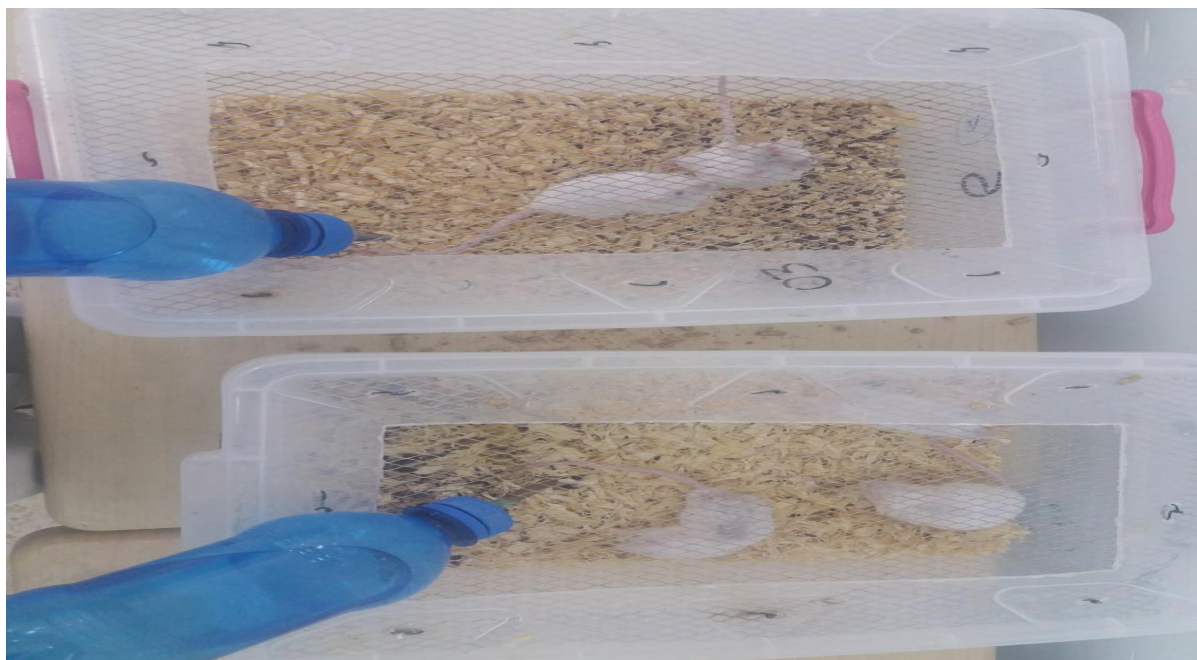


Figure 3. Groupes des souris *Wistar Albinos* males

3.2. Méthodes

3.2.1. Détermination des métabolites secondaire

3.2.1.1. Dosage des composés phénoliques

La teneur de phénols totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite par Mansouri *et al.* (2005).

a. Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968).

La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

b. Réactifs et extraits utilisés

- Un polyphénol témoin: en général l'utilisation de l'acide gallique comme un témoin
- Réactif de Folin-Ciocalteu: 90 ml d'eau distillée a été ajouté à 10 ml du réactif Folin Ciocalteu.
- Bicarbonate de sodium à 7,5 % : 15g de bicarbonate de sodium a été dissous dans 200 ml d'eau distillée.
- Tous les extraits : les extraits organiques ont été dissous dans le méthanol absolu.

c. Mode opératoire

Une gamme de 6 concentrations d'acide gallique allant de 10 à 150 µg /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 1 mg/ml de concentration.

0,3 ml de chaque extrait a été mélangé avec 1,5 ml de réactif de Folin – Ciocalteu et 1,2 ml de la solution bicarbonate de sodium (7,5 %). Après une incubation à l'obscurité pendant une heure, l'absorbance a été mesurée à 760 nm avec un spectrophotomètre.

Le blanc du test contient: 200 µl de méthanol, 1ml de Folin– Ciocalteu et 800 µl de Na₂CO₃; Pour chaque extrait, le test est réalisé en triplicata.

d. Expression des résultats

La concentration de la teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique.

Les résultats ont été exprimés en µg d'équivalent acide gallique / mg d'extrait sec.

3.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Bahorun (1997).

a. Principe

La méthode a été basée sur la formation d'un complexe jaune très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

b. Réactifs et extraits utilisés

- Chlorure d'aluminium: 2g de Chlorure d'aluminium (AlCl₃) dissous dans 100 ml de méthanol absolu.

- Solution mère du standard : 40 µg/ml de quercétine

- Tous les extraits de la plante étudié : les extrais organiques dissous dans du méthanol absolu.

c. Mode opératoire

Une gamme de 6 concentrations de quercétine allant de 1,5 à 40 µg /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 40 µg /ml de concentration

À 1 ml de chaque échantillon, a été ajouté 1 ml de la solution de trichlorure d'aluminium préparée à 2 % dans du méthanol absolu. L'absorbance est lue à 430 nm après dix minutes d'incubation.

d. Expression des résultats

La concentration en flavonoïde a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent en quercétine par mg d'extrait sec

3.2.1.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de la vanilline décrite par Hagerman (2002).

a. Principe

La vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde (Hagerman, 2002).

b. Préparation des solutions

- Standard : solution mère de catéchine à 62 µg /ml

- Vanilline à 1% dans du méthanol.
- acide sulfurique 50% dans du MeOH.

c. Mode opératoire

Une gamme de 6 concentrations de catéchine allant de 0 à 62 µg /ml a été préparée à partir de la solution mère 62 µg /ml .

250 µl de chaque extrait ou catéchine a été ajoutés à 625 µl de la solution à 1% de vanilline, puis à 625 µl d'acide sulfurique à 50%. Après une incubation de 15 min à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 500 nm.

d. Expression des résultats

Les résultats sont obtenus en µg équivalent catéchine par mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de la catéchine (absorbance en fonction de la concentration).

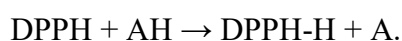
3.2.2. L'Activité antioxydante

3.2.2.1. Test antiradicalaire (test DPPH')

a. Principe

L'activité antiradicalaire est évaluée par la méthode de Braca (2002).

Le DPPH est un radical libre, de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H.



Où

AH est un composé capable de céder un H au radical DPPH

b. Préparation des solutions

- Solution de DPPH 4 mg dans 100 ml MeOH.
- Solution d'extrait et de standard (dans le MeOH) préparer une solution mère à 2mg/ml et effectuer des dilutions à partir de cette dernière.

c. Mode opératoire

Dans l'obscurité, 250 µL de diverses concentrations d'extrait ou de standard (BHT, BHA) ont été ajoutés à 750 µL de DPPH. Le mélange a été incubé à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm.

- Le blanc d'essai contient 250 µl d'extrait et 750 µl de MeOH,

- Le contrôle contient 250 µl de MeOH et 750 DPPH. Chaque concentration a été testée en triple pour tous les tests.

d. Expression des résultats

Les résultats sont représentés en % d'inhibition.

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Ac - At) / Ac] * 100$$

Ac = Abs contrôle

At = Abs test

Calcul de l'IC₅₀ : c'est la concentration inhibitrice à 50 % en d'autres termes c'est la concentration d'extrait ou de standard qui inhibe 50 % du radical libre elle est obtenue par logiciel SPSS.

3.2.2.2. La méthode de pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur a été déterminé par la méthode de FRAP décrite par Benzie et Strain (1996).

a. Principe

Cette méthode est développée pour mesurer le potentiel des extraits à réduire le fer ferrique (Fe⁺³) présent dans le complexe en fer ferreux (Fe⁺²). En effet, le Fe⁺³ participe à la formation du radical hydroxyle. L'augmentation de l'absorbance indique l'élévation du pouvoir réducteur des extraits testés (Benzie et Strain, 1996).

b. Préparation des solutions

- Tampon phosphate à 0,2M pH 6,6
- Ferrocyanure de potassium (K₃Fe) à 1%
- Acide trichloracétique (TCA) à 10%
- Chlorure ferrique (FeCl₃) à 0.1%
- Gamme de 6 concentrations pour les différents extraits et les standards

c. Mode opératoire

225 µl d'extrait ou de standard a été mélangés avec 225 µl de tampon phosphate (0,2 M; pH 6,6) et 225 µl de ferricyanure de potassium, sous agitation et puis le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 20 minutes dans un bain-marie à une température de 50 °C. 225 µl de TCA a été ajouté au mélange puis centrifugés pendant 10 min à 700 TPM / min.

375 µl de H₂O distillée ont été mélangés à 375 µl de surnageant, puis 75 µl de FeCl₃ a été ajouté.

L'absorbance a été mesurée à 700 nm par rapport au blanc dont l'extrait a été remplacé par du méthanol.

d. Expression des résultats

Pour chaque concentration, une Abs a été mesurée et les résultats sont représentés sous forme de graphique.

Les résultats sont obtenus en µg EAA/mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

3.2.2.3. La méthode de l'activité antioxydante totale

Le protocole utilisé pour étudier l'activité antioxydante totale a été effectuée par une méthode adaptée par Prieto *et al.* (1999).

a. Principe

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) en molybdène Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de Phosphate/ Mo (V) à pH acide (Sahu et Laloo, 2011).

b. Préparation des solutions

- Mélanger 3,3 ml d'acide sulfurique avec 96,7 ml H₂O distillé

-Ajouter 335,9 mg sodium monobasique et 494,3 mg molybdate d'ammonium tétrahydrate.

c. Mode opératoire

0,1 ml d'extrait ou standard a été ajouté à 1 ml de solution de réactif composée de (3,3 ml d'acide sulfurique dans 96,7 ml d'H₂O distillé et de 335,9 mg de sodium monobasique et de 494,3 mg de molybdate d'ammonium tétrahydraté). Suivi par une incubation de 90 min à 95 °C au bain-marie. Après un repos de 6 minutes à une température ambiante.

L'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait.

d. Expression des résultats

La courbe d'étalonnage est effectuée par les différentes concentrations de l'acide ascorbique.

L'activité antioxydante est exprimée en nombre d'équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait. (Prieto *et al.*,1999).

3.2.2.4. Test antiradicalaire ABTS+

Le test antiradicalaire ABTS+ a été déterminé par la méthode décrite par Ré *et al.* (1999).

a. Principe

Cette méthode ABTS est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cationique ABTS⁺ (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de coloration bleue verte en le transformant en ABTS-H⁺ incolore, par un donneur d'hydrogène (Antolovich *et al.*, 2002).

b. Préparation des solutions

- Solution d'ABTS
- Mélanger 36 mg d'ABTS dans 10 ml d'H₂O.
- Ajouter 6,62 mg de persulfate de potassium.
- Incuber 12 à 16 h à T ambiante et à l'obscurité pour générer les radicaux
- Mettre au réfrigérateur pour arrêter la réaction
- Absorbance du réactif doit être dans les alentours 0,7±0,02 (mesurer et diluer si nécessaire avec l'eau distillée).
- Solution d'extrait et de standard (dans le MeOH) préparer une solution mère à 2mg/ml et effectuer des dilutions à partir de cette dernière.
- La courbe d'étalonnage : préparer une gamme de concentration de Trolox.

c. Mode opératoire

A l'obscurité 50 µl solution d'extrait ou de standard a été mélangé avec 950 µl d'ABTS sous agitation, le mélange a été incubé pendant 7 min à l'obscurité. Les Abs ont été mesurés à 734 nm contre le blanc test qui contient 50 µl d'extrait et 950 µl de MeOH.

Le control contient 50 µl de MeOH et 950 µl d'ABTS. Pour chaque concentration le test est réalisé en triplicata pour tous les tests.

d. Expression des résultats

Les résultats sont représentés en % d'inhibition.

$$\% \text{ d'inhibition du radical cation ABTS}^+ = [(Ac - At) / Ac] * 100$$

Ac = Abs contrôle

At = Abs test

3.2.3. L'activité anti-inflammatoire

3.2.3.1. Test de la dénaturation des protéines (BSA)

Pour étudier l'effet de dénaturation des protéines (*in vitro*) de la plante testée, le test de la dénaturation des protéines albumine de sérum bovin selon le protocole de Rahman *et al.* (2015) qui a utilisé

a. Mode opératoire

La solution d'essai (0,5 ml) composé de 0,45 ml BSA et 0,05 ml d'extrait avec diverses concentrations.

La solution de contrôle de test (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'albumine de sérum bovin et 0,05 ml d'eau distillée.

Le contrôle du produit (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillée eau et 0,05 ml de solution à examiner.

La solution standard (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'albumine sérique et 0,05 ml de Diclofénac sodique à différentes concentrations.

Les échantillons ont été incubées à 37°C pendant 20 min, ensuite la température était augmenté jusqu'à 57°C pendant 3 min. Après refroidissement, 2,5ml de la solution phosphate buffer saline (pH 6,3) a été ajouté aux solutions. L'absorbance a été lu par le spectrophotomètre UV-visible à 255 nm.

b. Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit :
Pourcentage d'inhibition = $(100 - [(DO \text{ solution d'essai} - DO \text{ contrôle produit}) / DO \text{ solution contrôle test}] \times 100)$.

3.2.3.2. L'activité anti- inflammatoire (*in vivo*)

Pour étudier l'activité anti-inflammatoire (*in vivo*) de la plante testée, le test a été utilisé est l'œdème d'oreille induit par le xylène selon la méthode Shang *et al.* (2011)

a. Mode opératoire

Le traitement oral de souris est présenté dans la figure 4, l'étude est réalisée sur des souris mâle *Wister albinos* de 32,1–50 g sont réparties en 4 lots et chaque lot est composé de 4

souris dans des cages standards. Après une période d'adaptation, les souris sont pesées, marquées et soumises à jeûne, une nuit avant leur utilisation.

Groupe témoin : traitement avec DMSO (5%) (5 ml / kg).

Groupe standard : traitement avec dexaméthasone (1 mg / kg).

Groupe traité par l'extrait : traitement avec l'extrait (d'acétate d'éthyle) 150 mg / kg.

Groupe traité par l'extrait : traitement avec l'extrait (d'acétate d'éthyle) 300 mg / kg.

Après 1h du traitement oral des souris un œdème a été induit chez les souris en appliquant une goutte de xylène (30 μ l) à la surface intérieure et postérieure de l'oreille droite, 1h après l'application de l'irritant, les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale après une anesthésie par le chloroforme, des disques de 6mm ont été prélevés de l'oreille droit (avec l'œdème) et ont été pesées et comparées à celles récupérées de l'oreille gauche (sans œdème).



Figure 4. Induction de l'extrait et le standard par gavage (photo originale)



Figure 5. L'induction de l'oreille droite du souris par le xylène (photo originale)

b. Expression des résultats

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la détermination de pourcentage d'inhibition de l'œdème calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(\Delta t - \Delta d) / \Delta t] * 100$$

Δt = moyenne de différence entre oreille droite et gauche du lot témoin.

Δd = moyenne de différence entre oreille droite et gauche du lot traité.

Les résultats présentés sous forme d'un histogramme avec le contrôle.

3.3. Etude statistique

Les résultats ont été présentés par la moyenne suivie de l'écart-type ($n = 3$) pour chaque cas. L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel statistique SPSS sur les valeurs obtenues. Les tests de corrélations ont été effectués pour déterminer la relation entre la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes, tanins condensés des extraits de *Juncus maritimus* et leurs activités antioxydante.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Détermination des métabolites secondaire

4.1.1. Teneurs en composés phénoliques

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations, la courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations dans la figure 6.

Les teneurs en composés phénoliques des différents extraits a été calculées à partir de la courbe d'étalonnage $y=0,007x + 0,080$ ($r^2=0,995$)

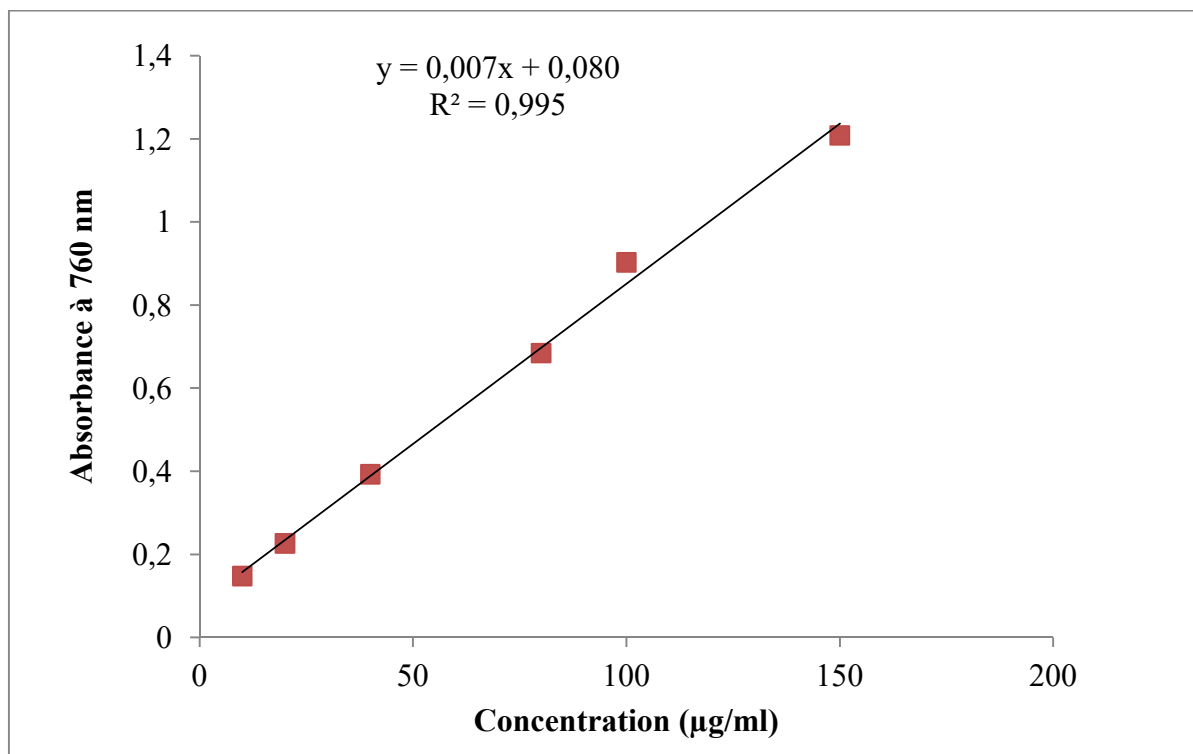


Figure 6. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques

La teneur des composés phénoliques des différents extraits sont représentées dans la Figure 7.

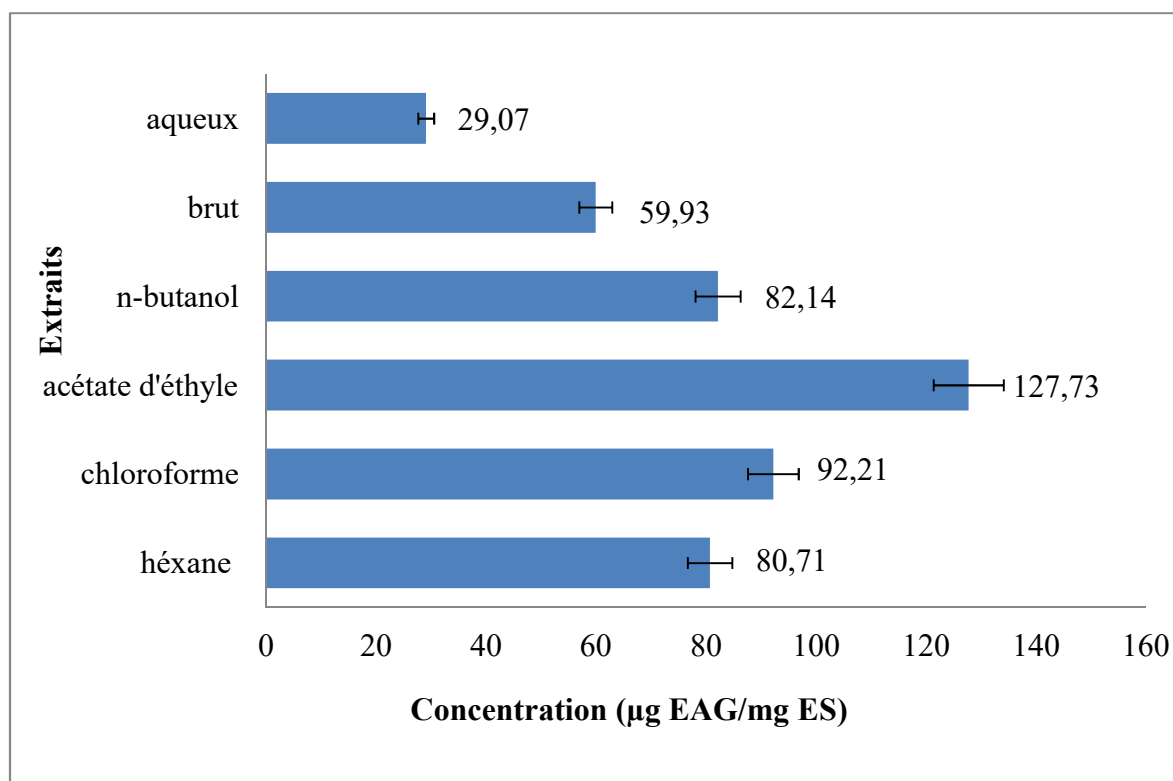


Figure 7. Teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits

La teneur en composés phénoliques des différents extraits varie de $(29,07 \pm 1,92$ à $127,73 \pm 0,20$ µg EAG/mg). L'extrait acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en composés phénoliques ($127,73 \pm 0,20$ µg EAG/mg) suivi par l'extrait de chloroforme et n-butanol ($92,21 \pm 2,52$ et $82,14 \pm 2,83$ µg EAG/mg), respectivement. L'extrait de l'hexane représente ($80,71 \pm 3,84$ µg EAG/mg), tandis que la plus faible concentration est trouvée dans les extrait brut et aqueux ($59,93 \pm 1,51$ et $29,07 \pm 1,92$ µg EAG/mg), respectivement.

Ces résultats sont significativement supérieurs aux valeurs rapportées par Sahli (2017) qui a trouvé que l'extrait du rhizome de la même espèce de la plante étudiée *Juncus maritimus* est ($5,63$ mg EAG/g ES) pour l'extrait méthanolique, ($16,53$ µg EAG/mg) pour l'extrait acétate d'éthyle.

Ho et ses collaborateurs (2012), ont étudié l'espèce *Juncus effusus L. var. decipiens Buchenon* qui appartient au même genre de la plante étudiée et a trouvé des résultats supérieur par rapport aux résultats rapporté par *Juncus maritimus* qui sont ($489,75 \pm 53,28$ µg CE/mg) pour l'extrait méthanolique, ($37,33 \pm 10,37$ µg CE/mg) pour l'extrait aqueux.

La teneur des composées phénoliques différents considérablement selon l'espèce végétale, la partie de la plante utilisées (tiges, racines, feuilles et fruit), la richesse en métabolite secondaire et du type de solvant utilisé pour l'extraction (Teugwa *et al.*, 2013).

4.1.2. Teneur en flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes dans les extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage en utilisant la quercétine comme standard obtenue à partir de l'équation linéaire $y=0,045x$ ($r^2=1$) dans la Figure 8

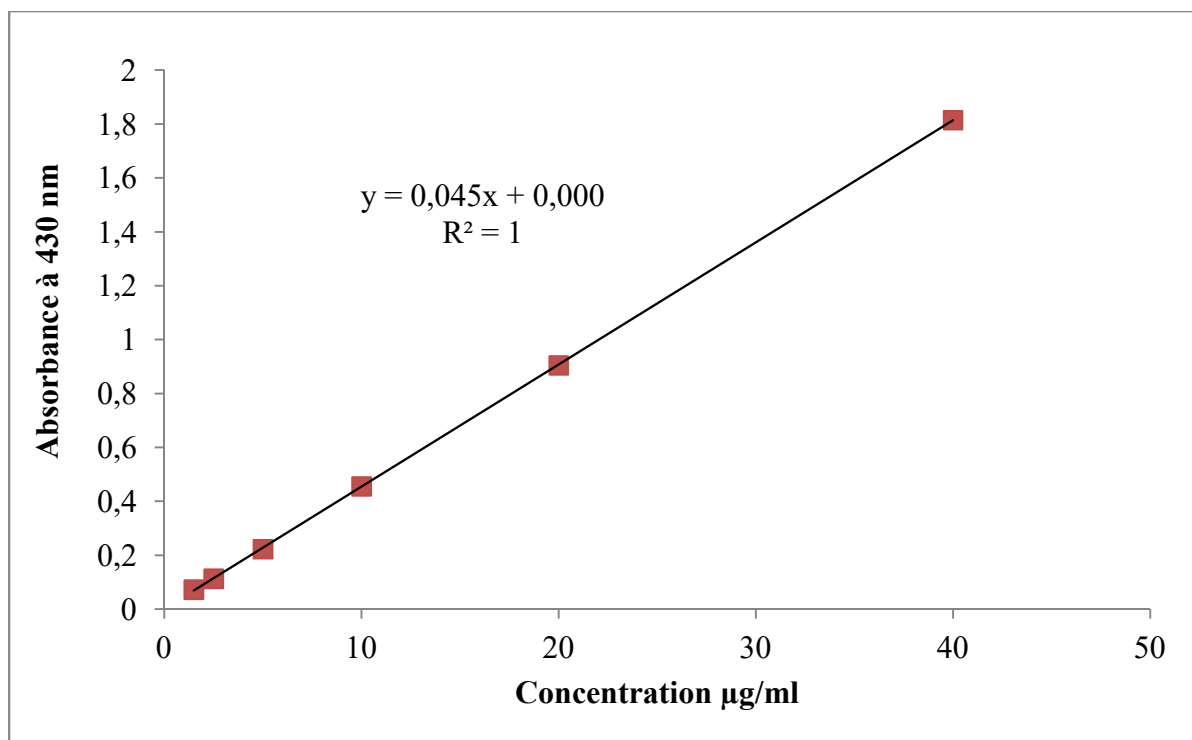


Figure 8. Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes

Les teneurs des différents extraits de la plante en flavonoïdes sont présentés dans la Figure 9.

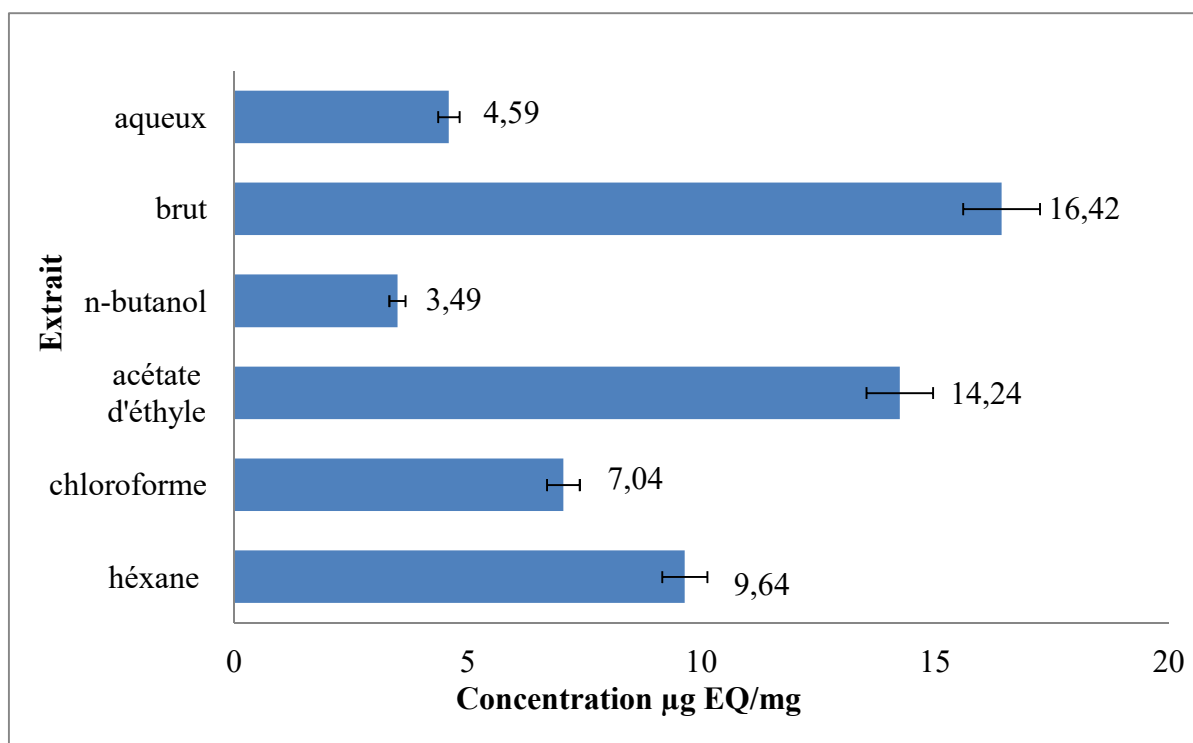


Figure 9. Teneurs en Flavonoïdes des différents extraits

La teneur en flavonoïdes varie de $(3,49 \pm 0,18$ à $16,42 \pm 0,42 \mu\text{g EQ/mg ES})$. Les résultats ont montré que l'extrait brut est le plus riche en flavonoïde avec une teneur de $(16,42 \pm 0,42 \mu\text{g EQ/mg ES})$, suivi de ces extraits acétate d'éthyle et l'hexane $(14,24 \pm 0,28$ et $9,64 \pm 0,22 \mu\text{g EQ/mg ES})$, respectivement. L'extrait chloroformique est moins riche en flavonoïde $(7,04 \pm 1,18 \mu\text{g EQ/mg ES})$. La plus basse concentration a été enregistré chez l'extrait aqueux $(4,59 \pm 0,26 \mu\text{g EQ/mg ES})$ et n-butanolique $(3,49 \pm 0,18 \mu\text{g EQ/mg ES})$.

Dans l'étude de Ho *et al.* (2012) sur *Juncus effusus L. var. decipiens Buchenon* du même genre de la plante étudié (*juncus*), a été trouvé que la teneur du l'extrait méthanolique est $(30,16 \pm 5,07 \mu\text{g RE/mg})$ nettement supérieure par rapport aux valeurs rapportés par aux résultats trouvés et l'extrait aqueux présente une valeur $(8,79 \pm 2,88 \mu\text{g RE/mg})$ inférieur aux extraits utilisés les plus riche en flavonoïde qui sont "brut et acétate d'éthyle" mais il est supérieur aux autres fractions.

D'autre étude a été faite par Adouni *et al.* (2018) sur le rhizome du *Juncus acutus*, l'extrait éthanolique a donné une teneur $(142,21 \pm 3,47 \text{ mg CE/g d'extrait})$, cette teneur est très supérieur aux résultats trouvés.

Leclerc (1994) a noté que les substances actives contenues dans les végétaux varient dans des proportions considérables suivant l'âge de la plante plus la plante est jeune plus le

taux des composés phénoliques qui y sont présents est élevé, La période de la récolte, la nature du sol et le climat.

4.1.3. Teneur en tanins condensés

Nous avons calculé la teneur en tanins condensés des différents extraits en utilisant la catéchine comme standard obtenue à partir de l'équation linéaire ($y = 0,020x + 0,030$; $R^2 = 0,996$) présenté dans la Figure 10.

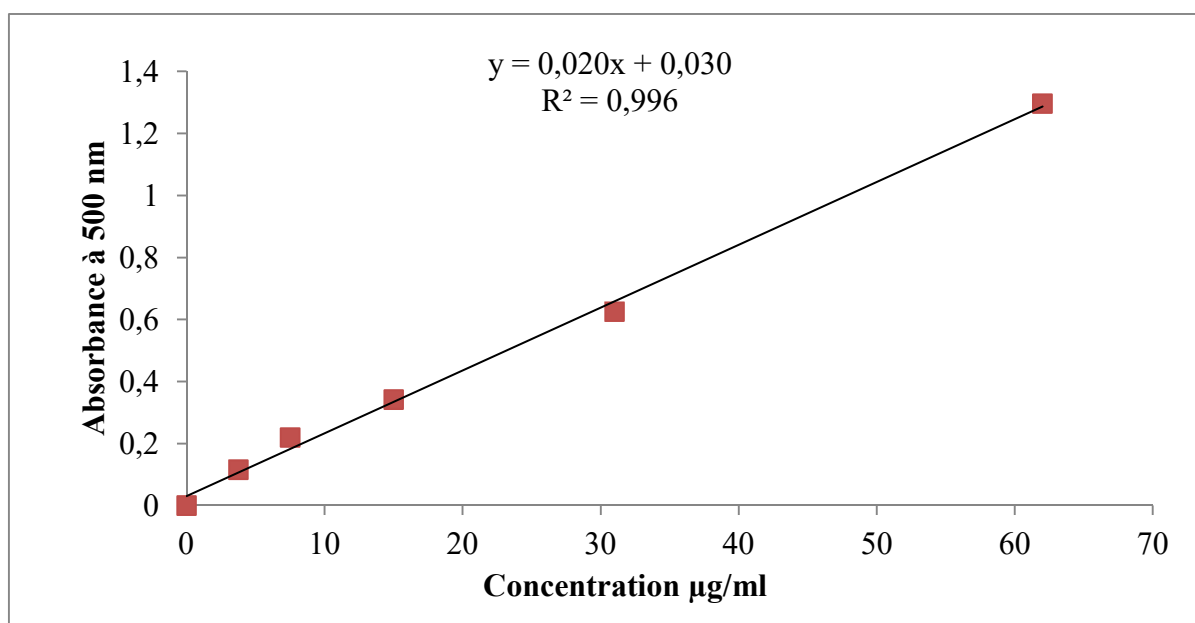


Figure 10. Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

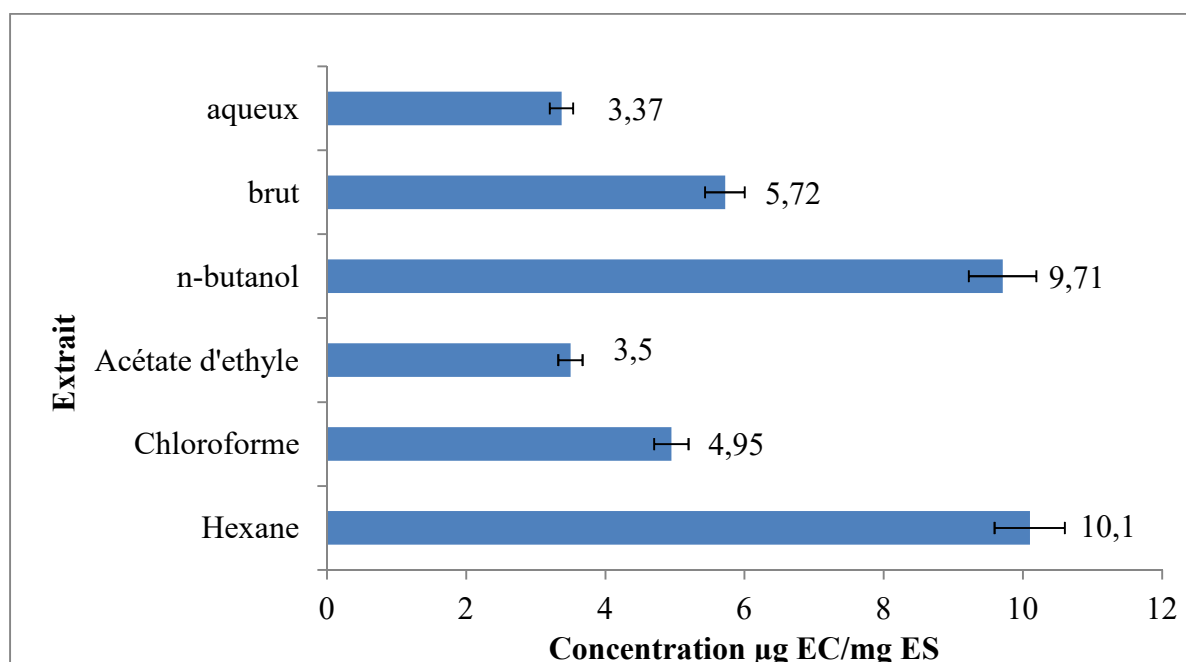


Figure 11. Teneurs en tanins condensés des différents extraits

Les résultats qui sont présentés dans la figure 11 montrent que la teneur des tanins condensés varie de $(3,37 \pm 0,67$ à $10,10 \pm 0,35 \mu\text{g EC/mg ES})$.

Les tanins condensés sont plus concentrés au niveau de l'extrait d'hexane avec une teneur de $(10,10 \pm 0,35 \mu\text{g EC/mg ES})$, suivi par l'extrait butanolique avec un taux de $(9,71 \pm 0,42 \mu\text{g EC/mg ES})$, l'extrait brut avec $(5,72 \pm 0,11 \mu\text{g EC/mg ES})$ et l'extrait chloroformique avec un taux $(4,95 \pm 1,56 \mu\text{g EC/mg ES})$, par ailleurs les extraits acétate d'éthyle et aqueux sont très pauvres en tanins condensés avec des teneurs $(3,50 \pm 0,14$ et $3,37 \pm 0,67 \mu\text{g EC/mg ES})$, respectivement.

Selon une étude réalisée par Adouni *et al.* (2018) le taux de l'extrait éthanolique du rhizome de *Juncus acutus* qui appartient à la même famille (Juncaceae) de la plante étudié possède une teneur $(91,20 \pm 5,98 \text{ mg EC/g ES})$. Ces résultats est nettement supérieur aux résultats obtenus.

D'une manière générale, les facteurs environnementaux et géographiques tel que: le climat, la température, la composition des sols... etc., ainsi que les techniques et les solvants extracteurs choisis, sachant que les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires peuvent influencer d'une façon significative à la qualité et la quantité des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005 ; Ozkan *et al.*, 2011 ; Semih et Buket, 2012).

4.2. Evaluation de l'activité antioxydant

4.2.1. Test de DPPH

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti - radicalaires des extraits végétaux (Prieto *et al.*, 1999).

Les résultats de la capacité des extraits de *Juncus maritimus L* à piéger le radical DPPH en fonction de la concentration et du solvant d'extraction sont présentés dans la Figure 12.

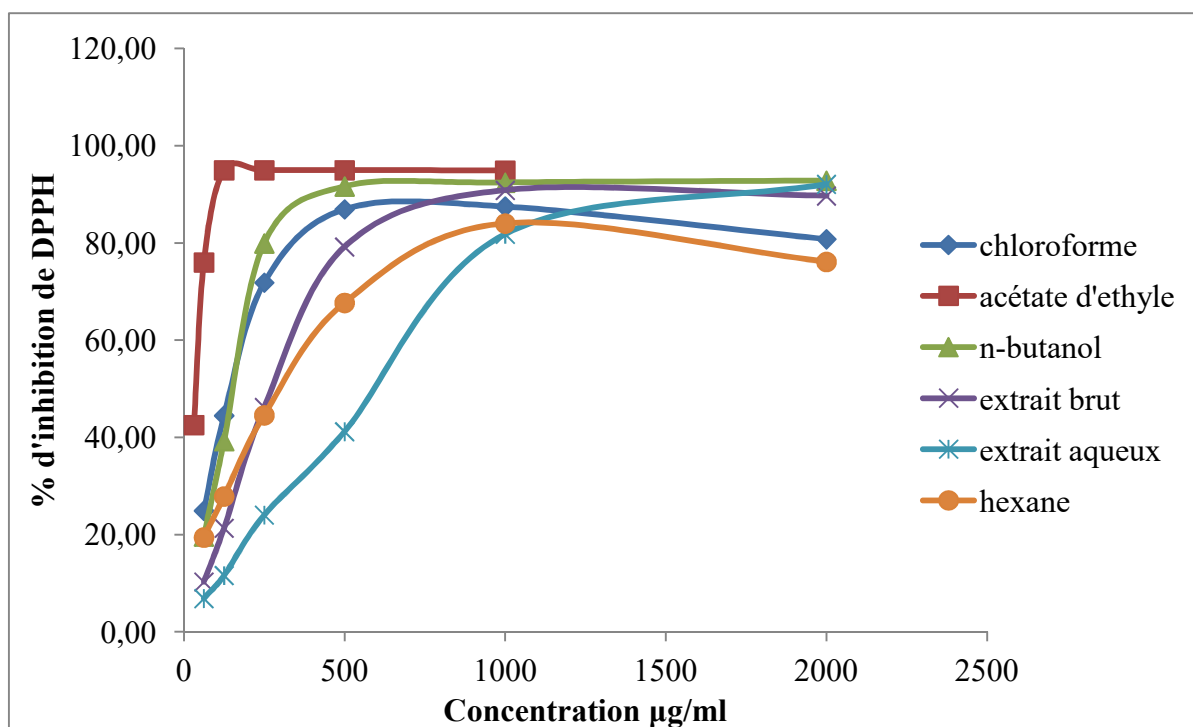


Figure 12. Activité antioxydante des extraits exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH

La Courbe d'étalonnage d'acide gallique de l'activité anti radicalaire de DPPH est présentée dans la figure 13.

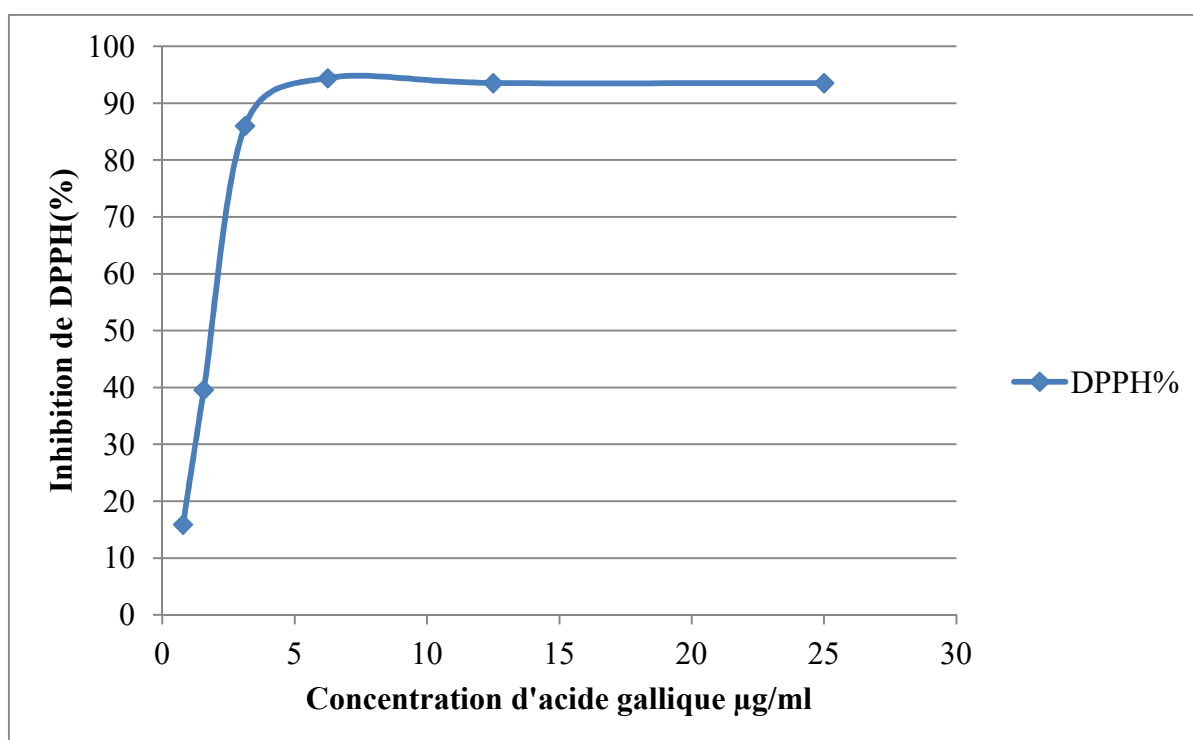


Figure 13. Courbe d'étalonnage d'acide gallique de l'activité anti radicalaire (DPPH)

Les courbes d'étalonnages de BHA et BHT de l'activité anti radicalaire de DPPH sont présentées dans les figures 1 et 2 (voire l'annexe 2).

BHA et BHT ont été utilisés comme témoins, les valeurs d'activité de piégeage des radicaux libres de DPPH sont (94,14% et 89,3%), respectivement.

Le standard acide gallique est plus actif que les extraits sauf pour l'extrait de l'acétate d'éthyle qui possède un pourcentage d'inhibition (93,55%).

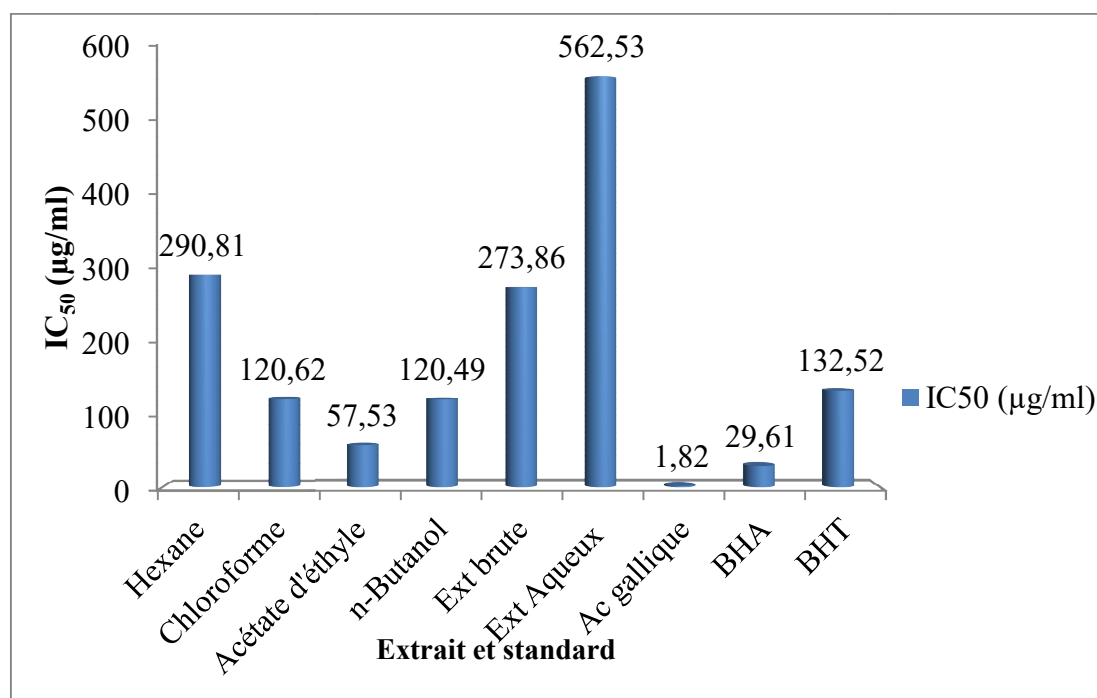
Les pourcentages d'inhibition de DPPH des extraits varient entre (94,99 % à 76,15%)

L'acétate d'éthyle montre la plus haute activité de piégeage des radicaux libres de DPPH (94,99 %) suivi par n-butanol (92,86 %), l'extrait aqueux (92,11%), l'extrait brut (89,71%), chloroforme (80,82%), enfin l'hexane possède la valeur la plus basse (76,15%).

*Détermination d'IC₅₀

IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

L'activité antiradicalaire des extraits et standards sont exprimées en IC₅₀ déterminée graphiquement dans la Figure 14



. **Figure 14.** Variation d'IC₅₀ des extraits actifs avec les standards utilisés

La fraction d'acétate d'éthyle possède l'IC₅₀ la plus petite ($57,35 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$), et pour cela elle détient le pouvoir anti-radicalaire le plus puissant, suivi par la fraction chloroformique et n-butanolique qui sont presque similaires avec une IC₅₀ ($120,62 \pm 0,02$ et $120,49 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$), respectivement, puis l'extrait brut et l'hexane avec une IC₅₀ ($273,86 \pm 0,06$ et $290,81 \pm 0,92 \mu\text{g/ml}$), l'extrait aqueux possède le pouvoir anti-radicalaire le plus faible avec une IC₅₀ ($562,53 \pm 0,6 \mu\text{g/ml}$).

Les standards BHA et l'acide galliques sont plus actifs que les extraits avec IC₅₀ ($29,61 \pm 1,82$ et $1,82 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$), respectivement.

Le standard BHT possède IC₅₀ ($132,52 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$) est moins efficace par rapport aux autres standards et les extraits acétate d'éthyle et n-butanol.

Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Rodrigues *et al.* (2017) qui ont trouvé l'IC₅₀ de la même espèce de la plante étudiée avec la fraction dichloroforme et l'extrait brut ($679 \pm 1,09 \mu\text{g/ml}$ et $793 \pm 2,03 \mu\text{g/ml}$) respectivement et pour les feuilles, (573 ± 9 et $>1000 \mu\text{g/ml}$) pour les racines, c'est-à-dire possèdent des faibles activités anti-radicalaires par rapport aux résultats trouvés.

D'après Sahli (2017) l'extrait méthanolique de rhizomes de *Juncus maritimus* a montré une activité antiradicalaire modérée (IC₅₀ = $45,23 \mu\text{g/ml}$) est plus puissante par rapport aux résultats trouvés.

D'après, Hatano *et al.* (1989), les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules antiradicalaires et antioxydantes.

(Duh *et al.*, 1999 ; N'guessan *et al.*, 2007) ont montré l'existence d'une corrélation entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire.

De nombreuses études ont prouvé qu'il existe une corrélation exponentielle linéaire entre la teneur en flavonoïdes et leurs activités antioxydantes ou l'effet scavenger (Borneo *et al.*, 2008).

Selon Chen et Ho (1995), les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante donc liée à leur forte teneur en phénols totaux

Des études prouvent aussi que les flavonoïdes sont des inhibiteurs efficaces des enzymes responsables de la production des radicaux libres (Cos *et al.*, 1998).

4.2.2. Test pouvoir réducteur

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur des différentes fractions augmente en fonction de la concentration dans la figure 15.

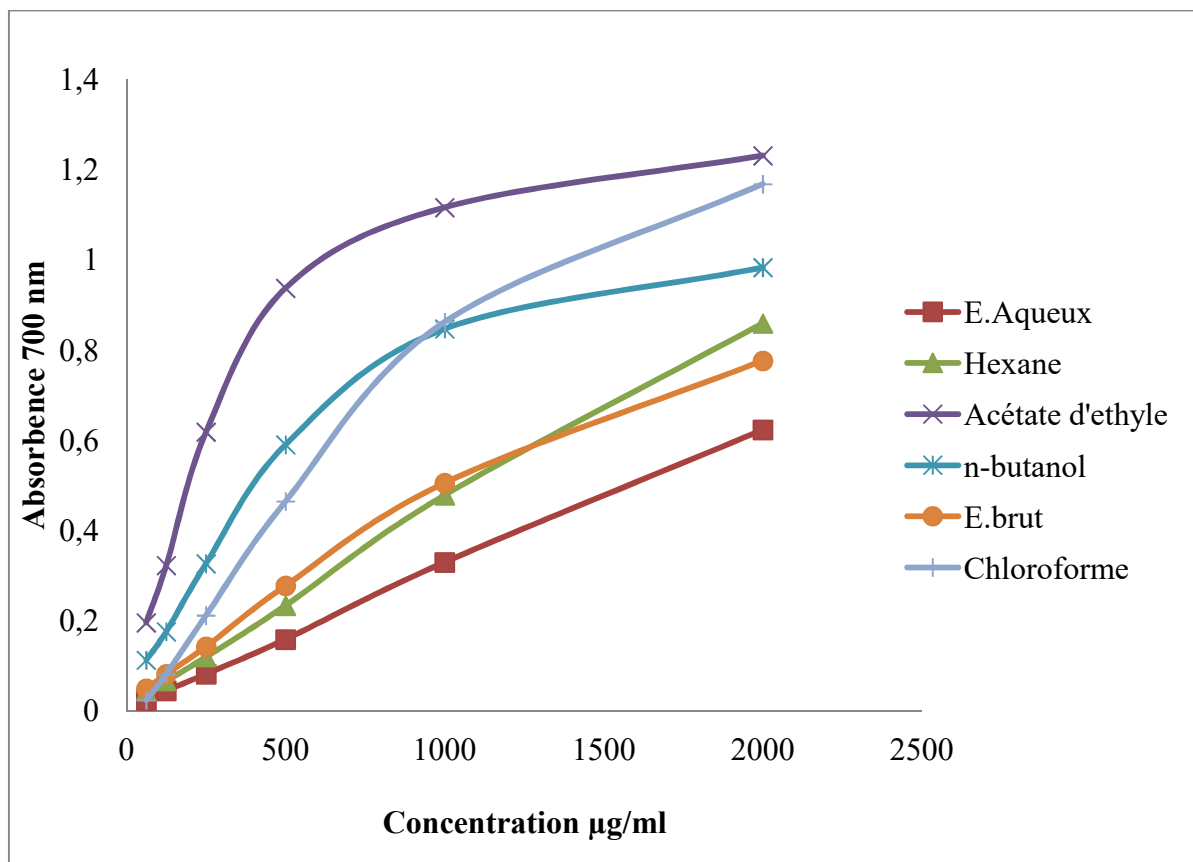


Figure 15. Les absorbances de pouvoir réducteur des différents extraits en fonction de la concentration

La courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, l'acide ascorbique à différentes concentrations (10-150µg/ml). La courbe d'étalonnage est présentée dans la figure 16.

Pour mieux comparer entre les fractions et le standards utilisé, l'absorbance de chaque extrait et standard a été pris à la concentration 125 µg EAA /mg ES.

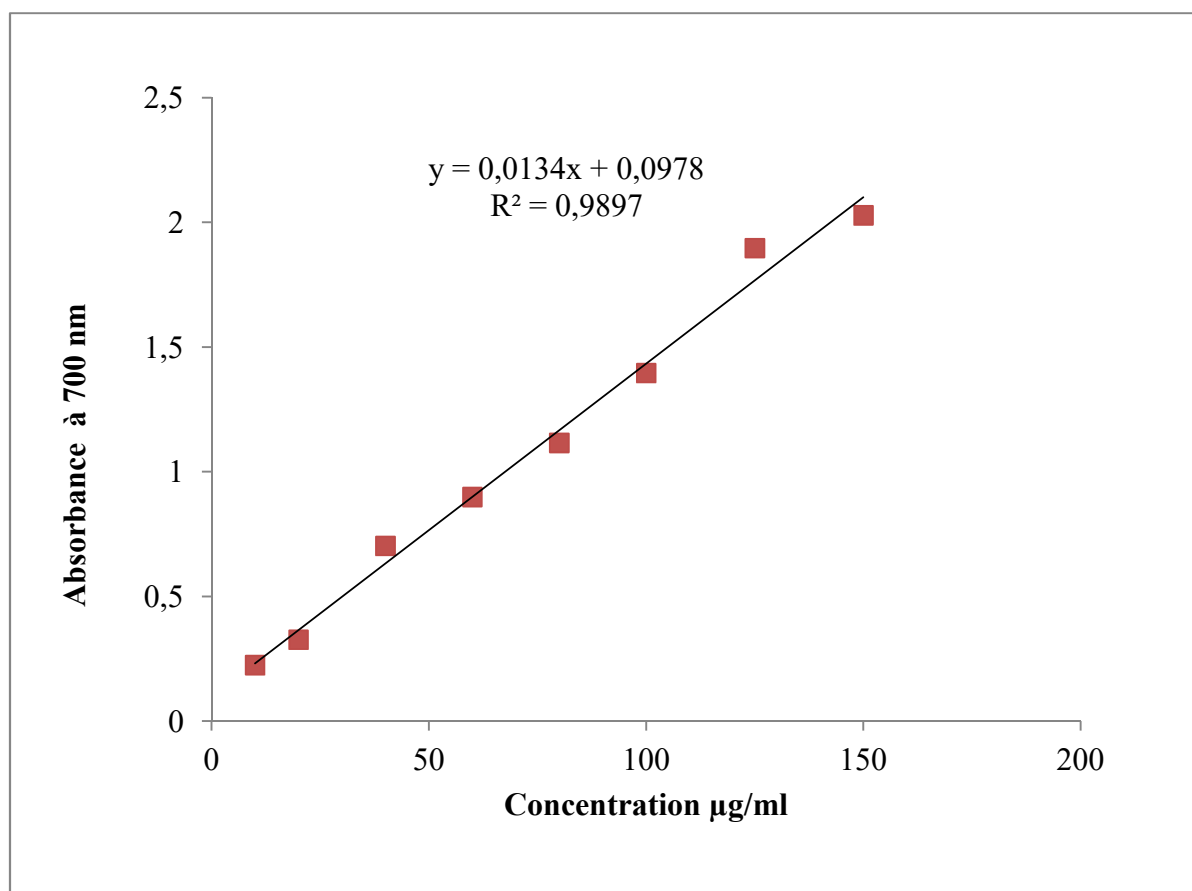


Figure 16. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de pouvoir réducteur

Tableau 2. Pouvoir réducteur des différents extraits et standard de *Juncus maritimus*

Extrait	µg EAA/mg ES
Hexane	506,99 ± 0,24
Chloroforme	638,92 ± 0,04
Acétate d'éthyle	675,62 ± 0,73
n-Butanol	528,47 ± 0,005
Extrait brut	404,89 ± 0,02
Extrait aqueux	311,22 ± 0,04
Acide ascorbique	4250 ± 0,248

Les résultats du pouvoir réducteur (Tab 2) montrent que le pouvoir réducteur des extraits varie entre ($311,22 \pm 0,046$ à $675,62 \pm 0,73$ $\mu\text{g EAA /mg ES}$).

Le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par l'extrait acétate d'éthyle ($675,62 \pm 0,73$ $\mu\text{g EAA/mg ES}$) suivi par la fraction de chloroforme avec une teneur de ($638,92 \pm 0,04$ $\mu\text{g EAA / mg ES}$), la fraction n-butanolique et l'hexane qui possèdent un pouvoir réducteur ($528,47 \pm 0,005$ et $506,99 \pm 0,24$ $\mu\text{g EAA/mg ES}$), respectivement et la fraction brute avec ($404,89 \pm 0,02$ $\mu\text{g EAA /mg ES}$). Le pouvoir réducteur le plus faible est trouvé chez la fraction aqueuse ($311,22 \pm 0,04$ $\mu\text{g EAA /mg ES}$).

Le pouvoir réducteur de standard reste faible par rapport aux des différentes fractions utilisés qui donnent un pouvoir réducteur ($4250 \pm 0,24$ $\mu\text{g EAA /mg ES}$).

D'après les résultats de Rodrigues *et al.* (2017) l' IC_{50} de la fraction dichlorométhane pour la même espèce de la plante étudié est ($125 \pm 0,02$ mg/ml) et ($649 \pm 0,45$ mg/ml) pour l'extrait brut. Ces résultats sont supérieurs aux résultats obtenus.

D'après Rodrigues et ses collaborateurs (2017) les racines de *Juncus inflexus* a donné la teneur (941 ± 24 mg/ml) pour l'extrait méthanolique et (255 ± 6 mg/ml) pour l'extrait Dichlorométhane et aussi sont supérieurs aux résultats trouvés.

Le pouvoir réducteur de l'espèce *Juncus maritimus* 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 (Siddhuraju et Becker, 2007).

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong *et al.*, 2004 ; Kumaran et Karunakaran, 2007).

4.2.3. Activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate (TAC)

La Capacité antioxydant totale a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage, réalisée avec une substance de référence, l'acide Ascorbiques à différentes concentrations

Les résultats sont exprimés en μg équivalent acide Ascorbiques par mg d'extrait ($\mu\text{g EAA/mg d'extrait}$). La courbe d'acide ascorbique est présentée dans la figure 17.

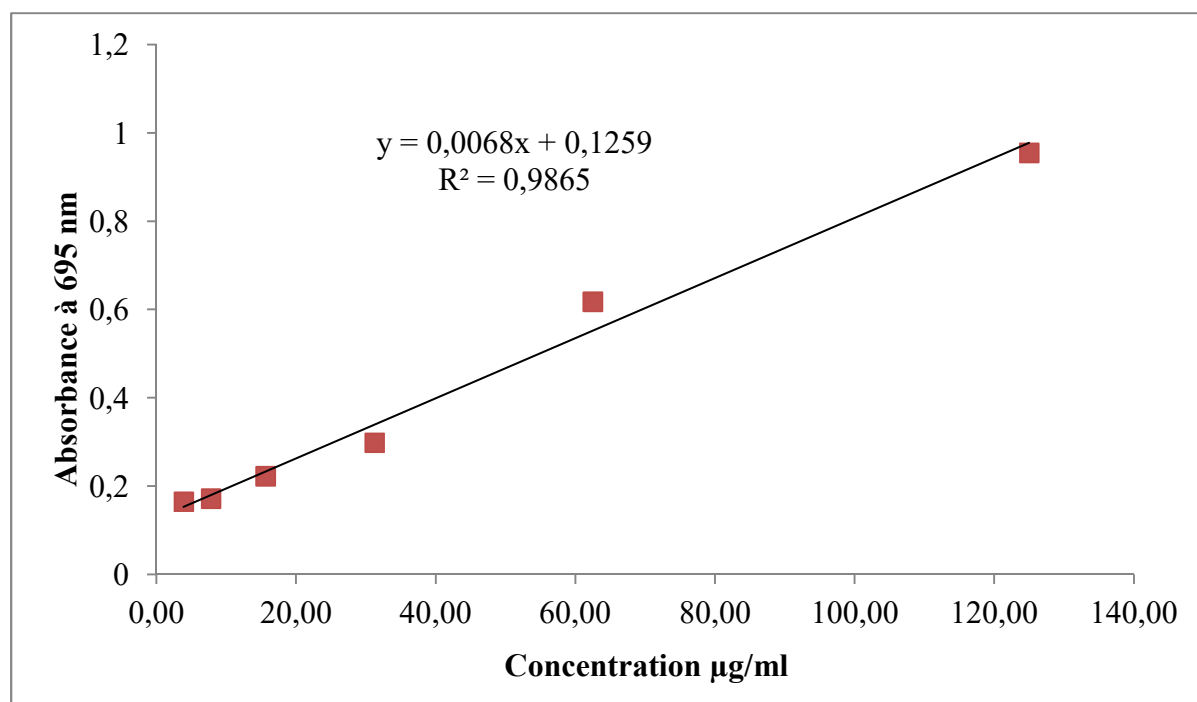


Figure 17. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test de la capacité antioxydante

La capacité antioxydante a été rapportée en microgramme d'équivalent acide Ascorbique par milligramme de l'extrait.

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 18.

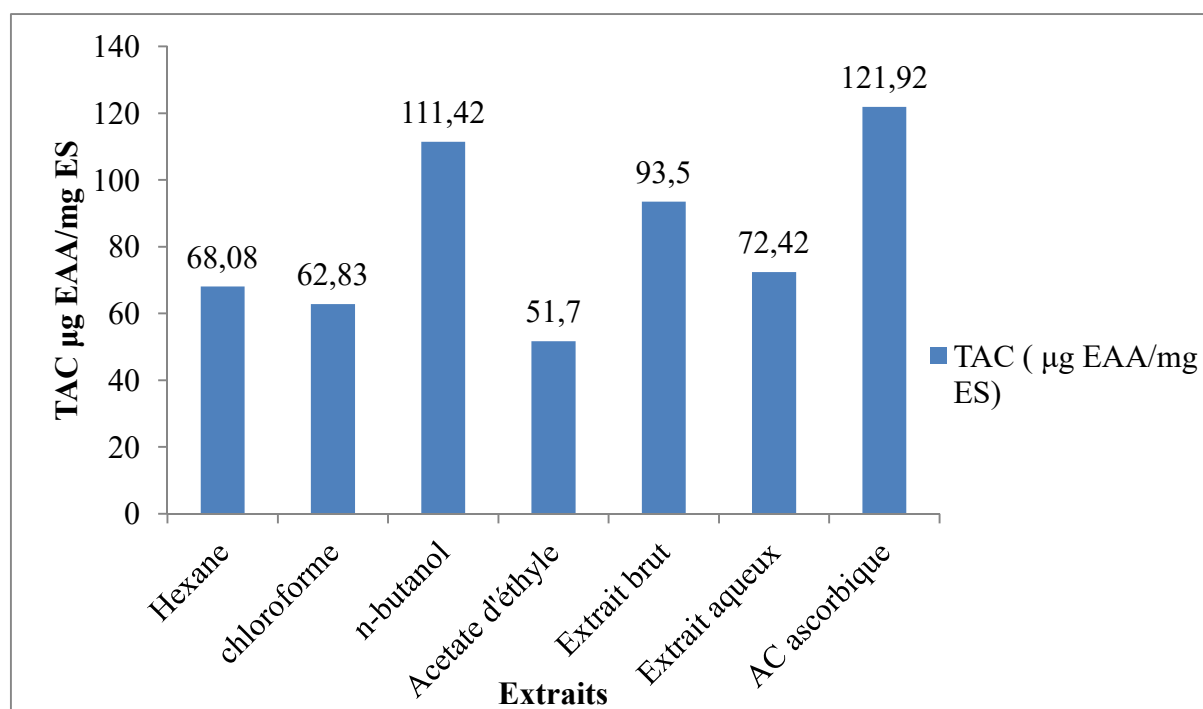


Figure 18. La capacité antioxydante des différentes fractions et le standard

L'activité antioxydante totale des extraits varie de (51,70 à 111,42 $\mu\text{g EAA/mg ES}$). L'extrait n-butanol et brut ont la capacité antioxydante la plus élevée avec des valeurs ($111,42 \pm 1$ et $93,50 \pm 0,88 \mu\text{g EAA/mg ES}$) respectivement, suivi par les extraits aqueux et hexane ($72,42 \pm 0,17$ et $68,08 \pm 1,61 \mu\text{g EAA/mg ES}$), la capacité antioxydante la plus faible est trouvée chez l'extrait chloroformique ($62,83 \pm 0,95 \mu\text{g EAA/mg ES}$) et l'acétate d'éthyle ($51,70 \pm 4,02 \mu\text{g EAA/mg ES}$).

La TAC des différentes fractions utilisées reste faible par rapport au standard utilisé qui est l'acide ascorbique qui a donné ($121,91 \pm 2,88 \mu\text{g EAA/mg ES}$).

Abdel-Razik *et al.* (2009) ont trouvé que les résultats de la capacité antioxydante totale de *Juncus subulatus* ($1,0 \pm 0,01 \text{ mmol/L}$) appartient à la même famille de notre espèce étudiée (juncaceae).

Benzie et ses collaborateurs (1996) ont considéré l'antioxydant comme toute molécule capable de réduire les espèces oxydantes qui peuvent endommager les structures biologiques. Ces auteurs ont donc interprété l'activité antioxydante comme la capacité réductrice (Trabsa, 2015).

En effet, les études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur capacité à piéger les radicaux libres ont montrés que l'activité antiradicalaire est dépendante du nombre ; de la position et de la nature du substituant sur les cycles B et C (groupement hydroxylé ; métaxylé ; glycosylé) et du degré de polymérisation de ces composés. Cette activité croît avec le degré de polymérisation pour les tanins (Scherer et Godoy, 2009 ; Masunda *et al.*, 2014).

4.2.4. Test antiradicalaire (ABTS)

Les résultats de pourcentage Inhibition de radical libre ABTS⁺ par les différents extraits sont représentés dans la figure 19.

Le résultat de standard Trolox montre que le pourcentage d'inhibition de radical libre ABTS par Trolox augmente en fonction de la concentration (voir l'annexe).

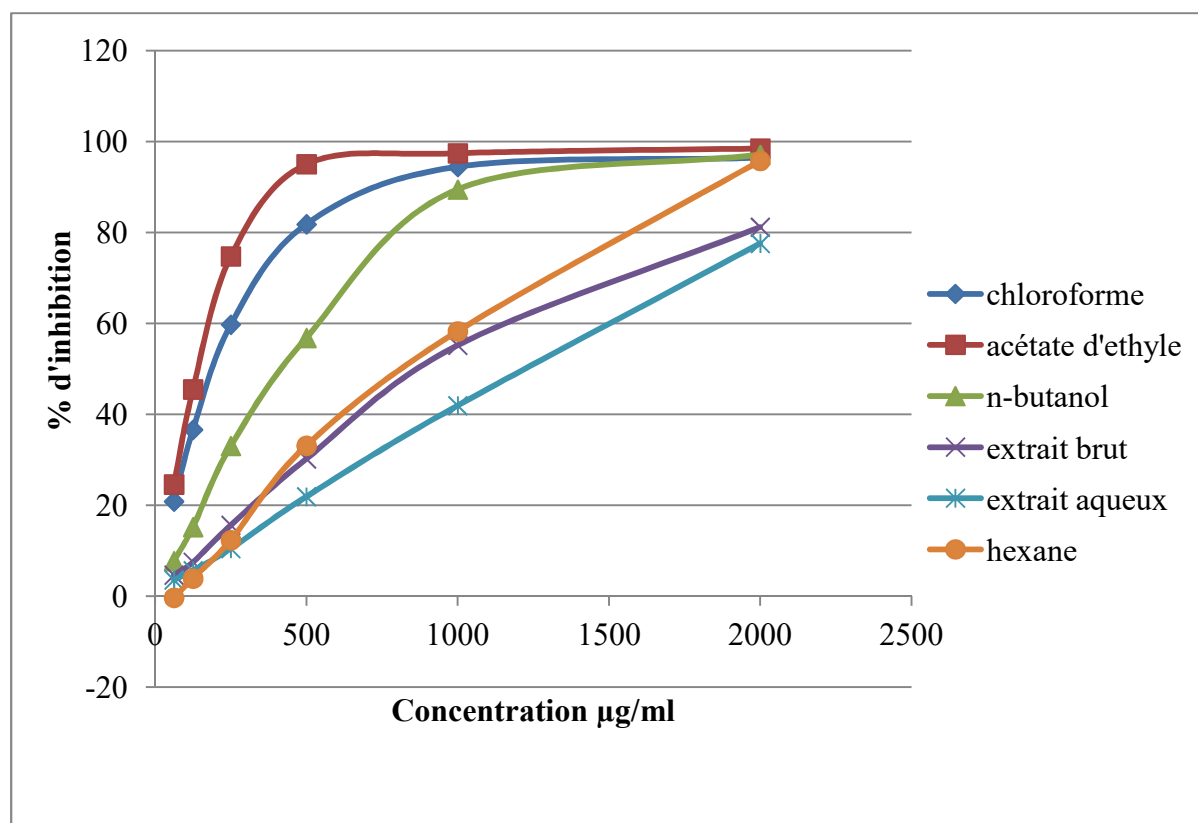


Figure 19. Les pourcentages d'inhibitions de radical libre ABTS+ des différents extraits en fonction de la concentration

Les Pourcentages d'inhibition des radicaux libres d'ABTS+ par les différents extrais varient entre (97,1-77,66%)

L'extrait acétate d'éthyle possède la capacité antioxydante la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition (98,5%) suivi par l'extrait chloroformique et n-butanolique (97,1 et 96,4%), respectivement, puis les extraits hexane (95,78%) et brut (81,2%). Le pouvoir antiradicalaire le plus faible est de l'extrait aqueux (77,62%).

Il reste le standard Trolox possède le pourcentage d'inhibition le plus élevé qui atteint jusqu'à (100%) des radicaux libres.

* Détermination d'IC₅₀

Pour une meilleure comparaison entre les fractions utilisées ainsi que le standard utilisé, les IC₅₀ ont été calculé, et qui sont présentées dans la figure 20.

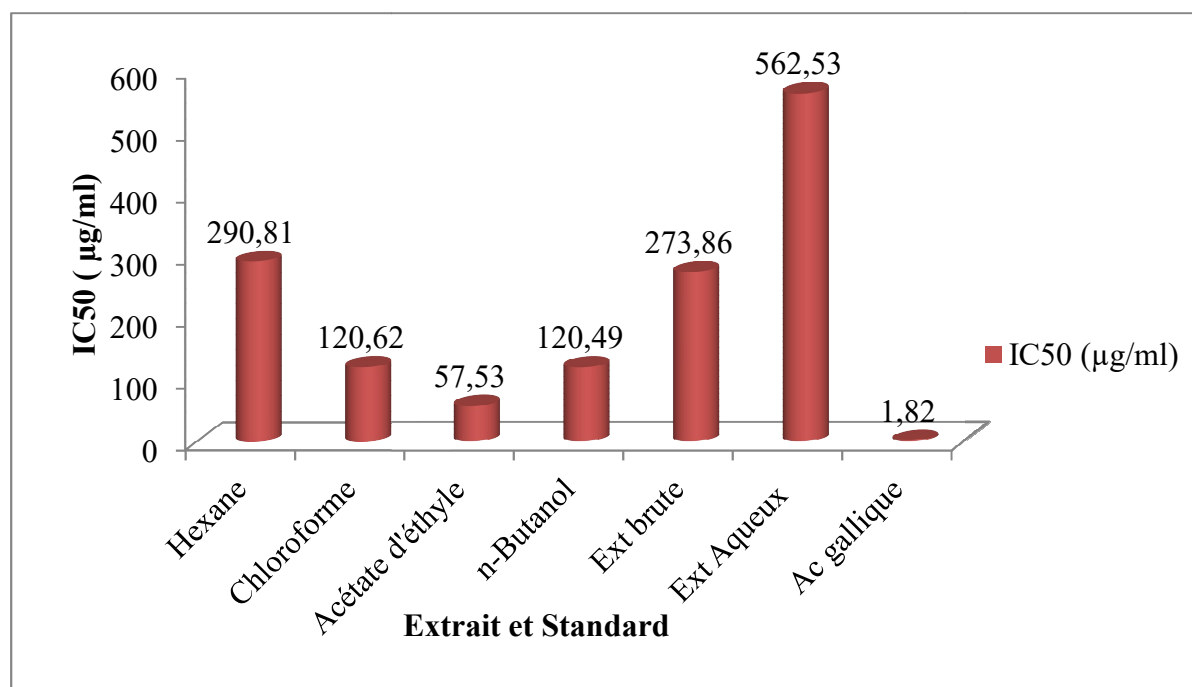


Figure 20. IC₅₀ de différentes fractions et le standard effectué par le test ABTS

L'extrait acétate d'éthyle qui a révélé une IC₅₀ la plus faible (140, 53µg/ml). Ceci pourrait justifier que ce dernier qui est significativement le plus active suivi par l'extrait de chloroforme avec une IC₅₀ (190,57 µg /ml), ensuite l'extrait n-butanol avec (413,45 µg/ml), puis l'extrait hexane (819,58 µg/ml), La capacité anti-oxydante ABTS la plus faible est noté chez les extraits brut et aqueux avec (881,46 et 1201,88 µg /ml), respectivement.

Il reste le standard Trolox le plus fort par rapport aux autres extraits avec une IC₅₀ (60,4 µg/ml).

D'après Rodrigues *et al.* (2017) IC₅₀ de l'extrait méthanoïque des racines de *Juncus maritimus* est (903 ± 46 µg/ml) et l'extrait dichorométhanique des feuilles de cette plante est (610 ± 16 µg/ml), le résultat de l'extrait methanolique est proche aux résultats obtenus.

La différence dans l'activité des extraits de la même espèce peut être due à la différence de teneur en composés phénolique, au profil chimique de ces substances bioactives, au solvant d'extraction ainsi qu'aux facteurs environnementaux (Ferradji, 2011)

4.3. Activité anti-inflammatoire

4.3.1. Test dénaturation des protéines (BSA)

Les résultats obtenus (tab.3) montrent l'augmentation le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) est proportionnelle avec l'augmentation de pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA).

Les absorbances dénaturation de protéine BSA sont présentés dans (l'annexe 1)

Tableau 3. Les pourcentages d'inhibitions de la dénaturation des protéines

Concentration mg/ml	Pourcentages d'inhibitions de la dénaturation des protéines	
	Diclofenac	Acétate d'éthyle
5	82,03	80,23
2,5	70,35	62,87
1,25	46,40	36,62

Un médicament anti inflammatoire a été utilisé comme standard (Diclofenac) a donné un pourcentage d'inhibition de la dénaturation (46,40 %) dans la concentration 1,25 mg/ml de différence de 10,78% par rapport au extrait acétate d'éthyle qui a donné un pourcentage d'inhibition (36,62%).

A la concentration 2,5 mg/ml le pourcentage d'inhibition de la dénaturation (70,35%) pour le diclofenac et (62,87%) pour l'extrait acétate d'éthyle

Les pourcentages d'inhibitions les plus élevés sont obtenus dans une concentration 5 mg/ml, (82,03%) pour diclofenac et (80,23%) pour l'extrait.

Certains ouvrages ont rapporté que la dénaturation de protéines est l'une des causes de la polyarthrite rhumatoïde. Production d'auto-antigènes dans certaines maladies rhumatismales peut être due à la dénaturation *in vivo* des protéines. Le mécanisme de dénaturation implique probablement une altération des liaisons électrostatique, hydrogène,

hydrophobe et disulfure qui donne la structure tridimensionnelle des protéines (Rahman *et al.*, 2015).

Cette activité pourrait être due à l'interaction de certains composants avec deux sites de liaisons riches en tyrosine, thréonine et lysine (Williams *et al.*, 2008).

Duganath et ses collaborateurs, (2010) ont rapportés que les composants des plantes médicinales utilisés en médecine traditionnelle, exercent leurs effets pharmaceutiques grâce à leur capacité de se lier aux protéines plasmatiques. En effet, selon l'étude effectuée par (Dufour *et al.*, 2007) sur l'interaction des flavonoïdes avec l'albumine, cette dernière possède une forte affinité pour la quercétine, ce qui pourrait expliquer l'activité protectrice des polyphénols contre la dénaturation thermique de l'albumine.

Le résultat, on peut affirmer que l'extrait d'acétate d'éthyle de *Juncus maritimus* ont été capable de contrôler la production d'auto-antigène et ainsi, il inhibe la dénaturation des protéines et son effet a été comparé au diclofénac sodique, un médicament standard.

4.3.2. Activité anti-inflammatoire (*in vivo*)

L'étude de cette activité anti-inflammatoire est mesurée par la méthode Shang *et al.*(2011)

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation du poids causée par le xylène a été estimée en sous traçant le poids de l'oreille gauche non traitée à celle d'oreille droite traitées, en fonction de concentration,

Après l'application de xylène sur l'oreille droite il ya un gonflement et une rougeur par rapport à l'oreille gauche qui est saine comme représentent les figures 21 et 22



Figure 21. Avant l'application du xylène sur l'oreille droite de la souris
(photo originale)



Figure 22. Après l'application du xylène sur l'oreille droite de la souris
(photo originale)

Les résultats de pourcentage d'inhibition de l'œdème sont présentés sous forme d'histogramme dans la figure 23

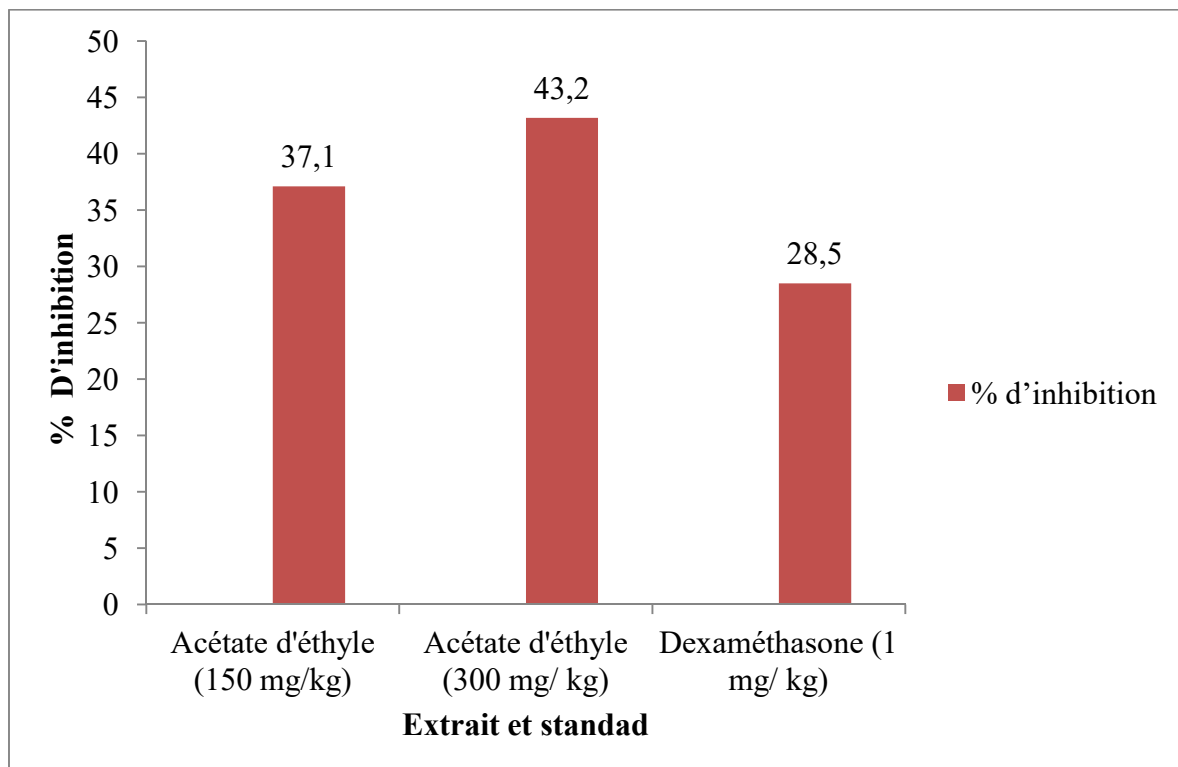


Figure 23. Pourcentage d'inhibition d'œdème des groupes traités avec le Dexaméthasone et l'extrait à différentes doses

Les pourcentages d'inhibitions de l'œdème de l'oreille droite augmentent en fonction de la concentration

Pour le groupe standard, l'administration du Dexaméthasone à une dose de 1 mg/kg présente une inhibition de l'œdème de l'oreille atteint (28,5%) qui est inférieur à celui de l'extrait.

A la dose de 150 mg/kg l'effet inhibiteur de l'extrait acétate d'éthyle de *Juncus maritimus* administré par voie orale se manifeste a la première heure qui suit l'injection de le xylène avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de (37,1%) à la dose 150 mg /kg et (43,2%) à la dose 150 mg /kg, qui est légèrement élevé par rapport au pourcentage obtenu dans la première dose .

Le médicament donne un effet inférieur par rapport au extrait utilisé à cause de la faible dose utilisé qu'est 1mg/kg c'est pour ca ce médicament n'a pas donné un pourcentage d'inhibition élevé.

L'application de xylène induit un œdème neurogène aigu, partiellement associé à la substance P. cette substance est largement répandue dans les systèmes nerveux central et périphérique et sa libération des neurones sensoriels situés à la périphérie provoque une vasodilatation et des extravasations plasmatiques entraînant un gonflement de l'oreille. Suggérant le rôle du xylène dans l'inflammation neurogène (Richardson et Vasko, 2002).

De plus, l'œdème de l'oreille associé au xylène implique des médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, la kinine et la fibrinolyse (Carlson *et al.*, 1985).

Aussi, d'autres études ont montrés que l'application de xylène favorise une augmentation de l'activité de la phospholipase A2 (PLA2) (Bagad *et al.*, 2013), ce dernier est impliqué dans la synthèse des prostaglandines et leucotriènes, ce qui constitue la première étape dans la réaction inflammatoire (Zanini *et al.*, 1992).

Une enquête biochimique sur les mécanismes d'action des flavonoïdes a montré qu'ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires, ces composés inhibent une grande variété des systèmes enzymatiques. La capacité de certains flavonoïdes est inhibé les voies du métabolisme de l'arachidonate liées à la cyclooxygénation et à la 5-lipoxygénase peut contribuer aux propriétés anti-inflammatoires (Williams *et al.*, 1995).

D'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (Kim *et al.*, 2004).

4.4. Analyse statistique

Afin d'évaluer la contribution des classes phénoliques à l'efficacité antioxydant des différents extraits, le coefficient de corrélation entre les activités antioxydants et les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins condensés de *Juncus maritimus* sont présenté dans le (tableau 4).

Pour savoir la teneur des polyphénols, flavonoïde, tanins condensés est associée ou non à les activités antioxydantes étudiées, en comparant r avec 0.

Ces variables peuvent être

Associées positivement ($r > 0$): plus la teneur des composés phénolique augmente, plus l'activité antioxydante augmente;

Associées négativement ($r < 0$): plus la teneur des composés phénolique augmente, plus l'activité antioxydante diminue;

Non associées ($r = 0$): la teneur des composés phénolique n'a aucune influence sur l'activité antioxydante

Tableau 4. Coefficient de corrélation linéaire entre les teneurs en Composés phénoliques, Flavonoïdes, Tanins condensés et les activités antioxydants de *Juncus martimus*.

		CP	FLA	TAN	DPPH	FRAP	ABTS	TAC
CP	Pearson Corr	1	0,34	0,041	0,131	0,959	0,907	0,392
FLA	Pearson Corr		1	-0,252	0,104	0,168	-0,091	-0,275
TAN	Pearson Corr			1	0,561	0,02	0,018	0,542
DPPH	Pearson Corr				1	-0,08	-0,4	-0,113
FRAP	Pearson Corr					1	-0,964	-0,409
ABTS	Pearson Corr						1	0,235
TAC	Pearson Corr							1

CP : Composés phénoliques ; FLA : Flavonoïdes ; TAN : Tanins condensés ; PR : Pouvoir réducteur ; DPPH : Activité scavenger du radical DPPH ; ABTS : Activité scavenger du radical ABTS ; TAC : Capacité antioxydante totale

Les résultats obtenus montrent une corrélation positive entre les IC50 (méthode de DPPH) et FRAP des extraits et la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins condensés avec un coefficient de corrélation (0,131 et 0,104 et 0,561) pour DPPH, respectivement et concernant le FRAP, un coefficient de corrélation (0,959 et 0,168 et 0,02) respectivement

L'analyse statistique montre la présence d'une corrélation positive entre l'activité antioxydante par la méthode ABTS et TAC des extraits étudiés et la teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés avec un coefficient de corrélation (r), concernant l'ABTS (0,907 et 0,018) respectivement, la méthode de TAC possède un coefficient de corrélation (0,392 et 0,542) respectivement.

Des résultats qui ont signalés une corrélation négative entre les flavonoïdes et la capacité, déterminée par le piégeage radical des ABTS et FRAP avec un coefficient de corrélation (-0,091) pour ABTS, (-0,275) pour le FRAP.

Conclusion

Conclusion

Notre travail est pour étudier l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de la partie aérienne (tige) de *Juncus maritimus*.

L'analyse quantitative est réalisée par le dosage des composés phénoliques, flavonoïdes et des tanins condensés. A révélé la présence de teneur considérable en composés phénoliques solubles totaux surtout dans les extraits plus polaires, par contre les taux tanins condensés et des flavonoïdes étaient relativement moins élevés.

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH, pouvoir réducteur, l'activité antioxydante totale et l'activité antiradicalaire ABTS, les 4 testes montrent que tous les extraits possèdent une activité antioxydante. L'extrait d'acétate d'éthyle, possède la meilleure activité antioxydante.

Par ailleurs, nous avons évalué l'effet anti-inflammatoire de l'extrait acétate d'éthyle de *Juncus maritimus* (*in vitro*) par le test de la dénaturation de la protéine (BSA) et (*in vivo*) par l'étude de l'inhibition du développement de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris *Wistar albinos* males qui permet de conclure que l'extrait acétate d'éthyle possède une activité anti-inflammatoire importante.

Les résultats obtenus restent préliminaires et nécessitent d'autres travaux qui doivent se concentrer sur l'étude d'autres activités biologiques à savoir : antifongique, antibactérien et anti-tumorale, antidiabétique.

- Purifier leurs constituants et étudier leurs structures en utilisant des techniques plus performantes (RMN).

- Exploiter ces résultats au niveau de l'industrie agro-alimentaire pour l'utilisation de ces composés bioactifs comme additifs alimentaires naturels (conservateurs, antioxydants).

- L'étude des caractéristiques physico-chimiques et biochimiques comme Les caractéristiques morphologiques et organoleptiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abdel-Razik A. F., Elshamy A. I., Nassar M. I., El-Kousy S. M., Hamdy H. 2009. Chemical constituents and hepatoprotective activity of *Juncus subulatus* Rev. Latinoamer. Quim 37 (1): 70-84.
- Adouni K., Mekhelfi T., Zaoui M., Daouadji D., Achour L. 2018. Decoction, Infusion and Ethanolic Extract of *Juncus acutus* Rhizome: Phytochemical Content and Antioxidant Properties. Der Pharmacia Lettre 10 (3): 54-61.
- Anderson K. J., Teuber S. S., Gobeille A., Cremin P., Waterhouse A.L., Steinberg F.M. 2001. Walnut polyphenolics inhibit *in vitro* human plasma and LDL oxidation, biochemical and molecular action of nutrients. Journal of Nutrition 131: 2837-2842.
- Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. Analyst 127: 183-198
- Albayrak S., Aksoy A., Albayrak S., Sagdic O. 2013. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. Iranian Journal of Science & Technology A1: 1-9.
- Asres K., Taddese S., Gebremariam T. 2003. *In vitro* antimicrobial activities of some selected topically applied medicinal plants of Ethiopia. Ethio Pharm J 21: 34-45.

B

- Bagad A. S., Joseph J. A., Bhaskaran N., Aarwa A. 2013. Comparative Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Curcuminoids, Turmerones, and Aqueous Extract of *Curcuma longa*. Pharmacological Sciences 1-7.
- Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food Agric, Res. N° special: 83-95.
- Balslev H. 1996. Juncaceae. Flora Neotropica, vol. 68, jstor.167 p.

- Benkhnigue O., Ben Akka., Salhi S., Fadli M., Douira A., Zidane L. 2014. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al HaouzRhamna (Maroc). *J. Anim. Plant Sci* 23 (1): 3539-3568.
- Benzie, I.F. et Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70–76.
- Borneo R., Leon C. A., Aguirre A., Ribotta P., Canterro J. J. 2008. Antioxydant capacity of medicinal plant from province of Cordoba (Argentina) and there *in vitro* testing antimicrobial and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* extracts. *Journal of Medicinal Food* 11: 133–143.
- Bouvier F., Rahier A., Camara B. 2005. Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprnoïds. *Progress in lipid research* 44: 357-429.
- Braca A., Sortino C., Morelli.J., Mendez.J. 2002. Antioxydant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *Ethnopharmacol* 43: 79-379.
- Brianceau S. 2015. Vers une amélioration quantitative et qualitative de l'extraction des composés phénoliques du marc de raisin rouge à l'aide d'électrotechnologies. Thèse de doctorat, université de technologie Compiègne, France, 170 p.
- Brink M. et Achigan-Dako E. G. 2012. Plantes à fibres, Ressources végétales de l'Afrique Tropicale, Fondation PROTA/CTA 3 : 19- 659
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, pp: 286-347.
- Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 915 p.

C

- Carlson R. P., O'Neill-Davis L., Chang J., Lewis A. J. 1985. Modulation of mouse ear edema by cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. *AGENTS AND ACTIONS*17 (2):197–204.
- 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, Université d'Avignon, France, 85 p

- Chen C. W. and Ho C. T. 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black tea. *J Lipids* 2: 35- 46.
- Conrad J., Vogler B., Reeb S., Klaiber I., Papajewski S., Roos G., Vasquez E., Setzer M.C., Kraus W. 2001. Isoterchebulin and 4, 6-O- Isoterchebulloyl-D- glucose, novel hydrolyzable tannin from *Terminalia macroptera*. *J. Nat. Prod* 64: 294-299.
- Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J. P., Cimanga K., Van Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J., Berghe D. 1998. Vanden. Structure–Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *J. Nat. Prod* 61: 71–76.

D

- Dufour C., Loonis M., Dangles O. 2007. Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin. *Free Radic Biol Med* 43(2): 241-252.
- Duganath N., Rubesh Kumar S., Kumanan R., Jayaveera K. N. 2010. Evaluation of AntiDenaturation Property And Anti-Oxidant Activity Of Traditionally Used Medicinal Plants. *J Pharm Bio Sci* 1(2):1-7.
- Duh P. D., Tu Y.Y., Yen G. C. 1999. Antioxydant activity of water extract of harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensm.wiss. Technol* 32: 269-277.
- Duran-Bedolla J., Rodriguez M. H., Navor V. S., Arancibia S. R., Cerbon M., Rodriguez M. C. 2013. Oxidative stress: production in several processes and organelles during *Plasmodium* sp development. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science* 2(2): 93-100.

E

- EI-Shamy A. I., Abdel-Razek A. F., Nassar M.I. 2015. Phytochemical review of *JUNCUS* L. genus (Fam. Juncaceae). *Arab J Chem* 8:614–623.

F

- Favier A. 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique 108-115.
- Favier A. 2006. Stress Oxydant et pathologies humaines. *Annals of Pharmacotherapy* SAGE Journal 64: 390- 396.
- Ferreira O., Pinho S. P. 2012. Solubility of Flavonoids in Pure Solvents. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 51(18): 6586- 6590.
- Ferradji A. 2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Thèse de Magister, Université Ferhat Abbas, 56p.
- Finkel T. and Holbrook N. J. 2000. Oxidants,oxidative stress and the Biology of ageing. *Nature* 408: 239-247.

H

- Hagerman A. E. 2002. *Tannin Handbook*. 2eme édition. Miami University. Oxford, USA, 116 p.
- Hagemeyer J. 1996. Salt in plant Ecophysiology classification of plants halophytes. New York: John Wiley and Sons, pp.176-181.
- Harborne J. B. 1980. *Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology*, New series, Vol. 8, Springer Verlag, Berlin, pp 329- 402.
- Hatano T., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Fujita Y., Yasuhara T., Yoshida T., Okuda T. 1989. Effect of interaction of tannins with co-existing substances VI. Effect of tannins and related polyphenols on superoxyde anion radical and on DPPH radical. *Chem. Pharm. Bull* 37: 2016-2021.
- Hill R. A. 2002. *Dictionary of natural products on CD-ROM*, Ed. version 10:2.Chapman & Hall,CRC,New York 154-205.
- Ho Y. L., Huang S. S., Deng J. S., Lin Y. H., Chang Y.S., Huang G. J. 2012. *In vitro* antioxidant properties and total phenolic contents of wetland medicinal plants in Taiwan. *Bot Stud* 53: 55-66.

I

- Ito N., Hirose M., Fukushima S., Tsuda T., Shirai T., Tatematsu M. 1986. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology* 24: 1071-1082.

J

- Jeong S. M., Kim S. Y., Kim D.R., Jo S. C., Nam K. C., Ahn D. U., Lee S. C. 2004. Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 3389–3393.

K

- Kapoor L. D. 1995. *Opium Poppy: Botany, Chemistry&Pharmacology*, Food Product Press, New York ,326 p.
- Kessel L., Tendal B., Jorgensen K. J., Erngaard D., Flesner P. andresen J. L., Hjortdal J. 2014. Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal antiinflammatory eye drops. *Ophthalmology* 121(10): 1915- 1924.
- Kherraze M. I. H., Lakhdari K., kherfi Y., Benzaoui T., Berroussi S., Bouhanna M., Sebaa A. 2014. *Atlas Floristique De la vallée de l'Oued Righ par écosystème*. 2^{ème}. édition. CRSTRA, p.116.
- Kim H. P., Lim H., Kwon Y. S. 2017. Therapeutic potential of medicinal plants and their constituents on lung inflammatory disorders. *Biomolecules and Therapeutics* 25 (2) : 91–104
- Krief S. 2003. *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*. Thèse de doctorat. Museum national d'histoire naturelle, France, 343p.
- Kumaran A. and Karunakaran R. J. 2007. *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 40, 344–352.

L

- Lagnika L. 2005. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, p.249.
- Leclerc H. 1994. Précis de phytothérapie. Edition. Masson, Paris. 363 p.
- Lonjon J. B. 2015. L'intérêt de la résolution de l'inflammation dans le traitement des maladies parodontales .thèse Doctorat en cherguis dentaire.Université Nice-Sophia antipolis, France, 44p.
- Lutge U., Kluge M., Bauer G. 2002. Botanique. 3éne édition, Traité fondamental. Tech et Doc Lavoisier, Paris, 211p.

M

- Macheix J. J., Fleuriet A., Allemand C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux :Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechnique et universitaires romandes, Italie. p 2-3-12-13-14.
- Madhavi D. L., Deshpande S.S., and Salunkhe D. K. 1996. Food antioxidants: Technological, toxicological, health perspective. New York: Marcel Dekker.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kealas P. 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Journal of Food Chemistry 89: 411- 420.
- Masunda T. A., Mbala M. B., Kayembe S. J., Longoma B. F., Ngbolua K. N., Tshibangu D. S. T., Mpiana P. T. 2014. Activité anti- hyperglycémique et antiradicalaire des extraits des fruits de *Raphia gentiliana* De Wild. (Arecaceae). Int J Biol Chem Sci 8(6): 2441-2451.
- Mates J. M., Pérez-Gomez C., De Castro I. N. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical Biochemistry 32(8): 595-603.
- McCall M. R. et Frei B. 1999. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans?" Free Radical Biology and Medicine 26 (7-8): 1034-1053.
- Meda N. T. R., Bangou M. J., Bakasso S., Millogo-Rasolodimby J., Nacoulma O.G. 2013. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid fractions of *Cleome gynandra*

and *Maerua angolensis* of Burkina Faso. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3(2): 36-42.

- Miles D.H., Bhattacharyya J., Mody N.V., Atwood J.L., Hedin P.A. 1977. The structure of juncusol. A novel cytotoxic dihydrophenanthrene from the estuarine marsh plant *Juncus roemerianus* J. Am. Chem. Soc 99: 618-620.
- Miossec P. 2003. Physiopathologie de l'inflammation. *La revue du praticien* 53: 1-7.
- Moulin M. 1998. Médicaments anti inflammatoires, in : *Abrégé de pharmacologie* . Masson, Paris, 332-336.
- Muster D. 2005. Médicaments de l'inflammation. Edition Elsevier. p 21-29.

N

- Navarre C. 2010. *Oenologie*. 7ème Edition, TEC et DOC, Paris, p 17.
- N'guessan J. D., Zirihi G. N., Kra A. K. M., Kouakou K., Djaman A. J., Guede-Guina F. 2007. Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. *Ijonas* 4: 425-429.

O

- Ortega N., Doña I., Moreno E., Audicana M. T., Barasona M. J., Berges-Gimeno M. P., Blanca-Lopez N., Lobera T., Padial A., Rosado A., Torres M. J. 2014. Practical Guidelines for Diagnosing Hypersensitivity Reactions to Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology* 24(5): 308-323.
- Ozkan A., Yumrutas O., Saygideger S. D., Kulak M. 2011. Evaluation of antioxidant activities and phenolic contents of some edible and medicinal plants from turkey's flora. *Adv.Env.r.Biol* 5(2): 231- 236.

P

- Pereira D. M., Valentão P., Pereira J. A., Andrade P. B. 2009. Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules* 14: 2202–2211.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex:

specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.

R

- Raffauf R. E. 1996. *Plant alkaloids*. Food Product Press, New York. 185 p.
- Rahman H., Eswaraiah M. C., Dutta A. M. 2015. In-vitro anti-inflammatory and antiarthritic activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science* 15 (1): 115-121.
- Rahmani H. 2017. Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce *Agave americana* L. dans l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Algérie, 136p.
- Rezaire A. 2012. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane, France, 193p.
- Ré R., Pellegrini N., Proteggebnte A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Scienc Inc* 26: 1231-1237.
- Ribéreau-Gayon P. 1968. *Les composés phénoliques des végétaux*. Ed, Dunod, Paris, p 254.
- Richardson J. D., Vasko M. R., Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. 2002. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 302 (3):839–845.
- Richter G. 1993. *Métabolisme des végétaux : Physiologie et biochimie*. Edition Presses Polytechniques et Universitaires Romandes: 318-338.
- Rong T. 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2: 1231-1246.
- Routray W., Orsat V. 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids: Review. *Food Bioprocess Technology* 5:409- 424.
- Roux, D., Catier O. 2007. *Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie*. Wolters Kluwer France, p.74.

S

- Safer A. M., and Al-Nughamish, A. J. 1999. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive butylatedhydroxytoluene (BTH) in rats: An electron microscopical study. *Histology and Histopathology* 4: 391- 406
- Sahli R. 2017. Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé – Lille, France, 195p.
- Sahu A. N et Laloo D. 2011. Antioxydant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An *in vitro* study. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 3(1): 277– 283.
- Scherer R. and Godoy H. T. 2009. Human Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112: 654-658.
- Schulz H., Schrader B., Quilitzsch R., Pfeffer S., Kruger H. 2003. Rapid classification of basil chemotypes by various vibrational spectroscopy methods. *J. Agric Food Chem* 51: 2475- 2481.
- Semih O. and Buket Y. 2012. Phenolic compounds analysis of root stalk and leaves of nettle. *The Scientific World Journal*. ID 564367.12p.
- Shang X., wang J., li M., Miao X., Pam H, Yang Y., Wang Y. 2011. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of phlomis umbrosa turcz extract 82(4): 16-21.
- Sharma P., Jha A. B., Dubey R. S., Pessaraki M. 2012. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*: 1-26.
- Shimizu H., Kiyohara Y., Kato I., Kitazono T., Tanizaki Y., Kubo M., Ueno H., Ibayashi S., Fujishima M., Iida M. 2004. Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population the Hisayama study. *Stroke* 35: 2072- 2077.
- Siddhuraju P and Becker K. 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry* 101(1): 10-19.

- Silva O., Gomes E.T., Wolfender J.L., Marston A., Hostettmann K. 2000. Application of high Performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectroscopy and Electrospray Mass Spectrometry to the Characterisation of Ellagitannins from Terminalia macroptera roots. *Pharmaceutical Research*, vol. 17, N° 11.
- Stalikas C. D. 2007. Extraction, Separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci* 30:3268–3295.

T

- Tackholm V. and Drar M. 1950. *Flora of Egypt*, Vol.11. Fouad I University Press, Cairo. 453p.
- Tackholm V. 1974. *Students' Flora of Egypt*. 2nd edition, Cairo University, Beirut, p.888.
- Teugwa M., Sonfack D., Fokom R., Penlap B., Amvam Z. 2013. Antifungal and antioxidant activity of crude extracts of three medicinal plants from Cameroon pharmacopeia. *Journal of Medicinal Plants Research* 7(21): 1537-1542.
- Trabsa H. 2015. *Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : Sedum sediforme et Lycium arabicum*. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie, 100 p.
- Tyler G. 1969. *Studies in the ecology of Bactric sea-shore meadows*. *Flora and vegetation*, vol 25, Opera Botinical Lundensi.101p.

W

- Weimarck H. 1946. *Studies in Juncaceae with special reference to species in Ethiopia*, vol 41, *Svensk Botaniska Tidskrift*, 40p.
- Williams C. N., Honet J. R. S., Harbone J. B., Greenham J., Eeagles J. 1995. A biologically active lipophilic flavonols from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* 38: 267–70.
- Williams L.A., O'Connar A., Latore L., Denis O., Ringer S., Whittaker J. A., Conrad J., Vogler B., Rosner H., Kraus W. 2008. The *in vitro* antidenaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the

detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Med J* 57: 327- 331.

Z

- Zanini J. J. C., Medeiros Y. S., Cruz A. B., Yunes R. R. A., Calixto J. B. 1992. Action of compounds from *Mandevilla velutina* on croton oil-induced ear oedema in mice. A comparative study with steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Phytotherapy Research* 6 (1): 1-5.
- Zenk M. H. and Juenger M. 2007. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review* 68: 2757 -2772.
- Zerbato M. 2010. Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C Réactive au cabinet de pédiatrie. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, France, 73 p.

Annexes

Annexe 1**Tableau 1.** Les absorbances de test de la dénaturation des protéines

Extrait Concentration	Extrait+Eau	Diclofénac+ Eau	Diclofénac + BSA	Diclofénac + BSA	BSA+Eau
5 mg/ ml	0,152	0,218	0,159	0,219	0,334
2,5 mg/ ml	0,193	0,317	0,165	0,268	
1,25 mg/ ml	0,197	0,412	0,205	0,384	

Annexe 2

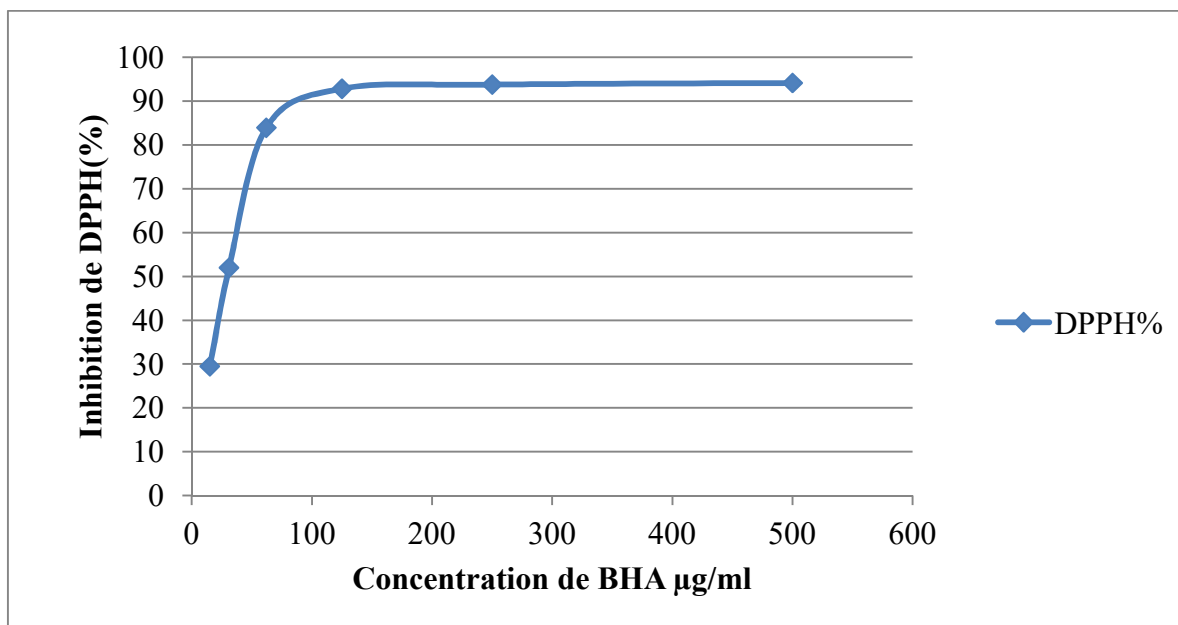


Figure 1. Courbe d'étalonnage de l'activité anti radicalaire (DPPH) de BHA

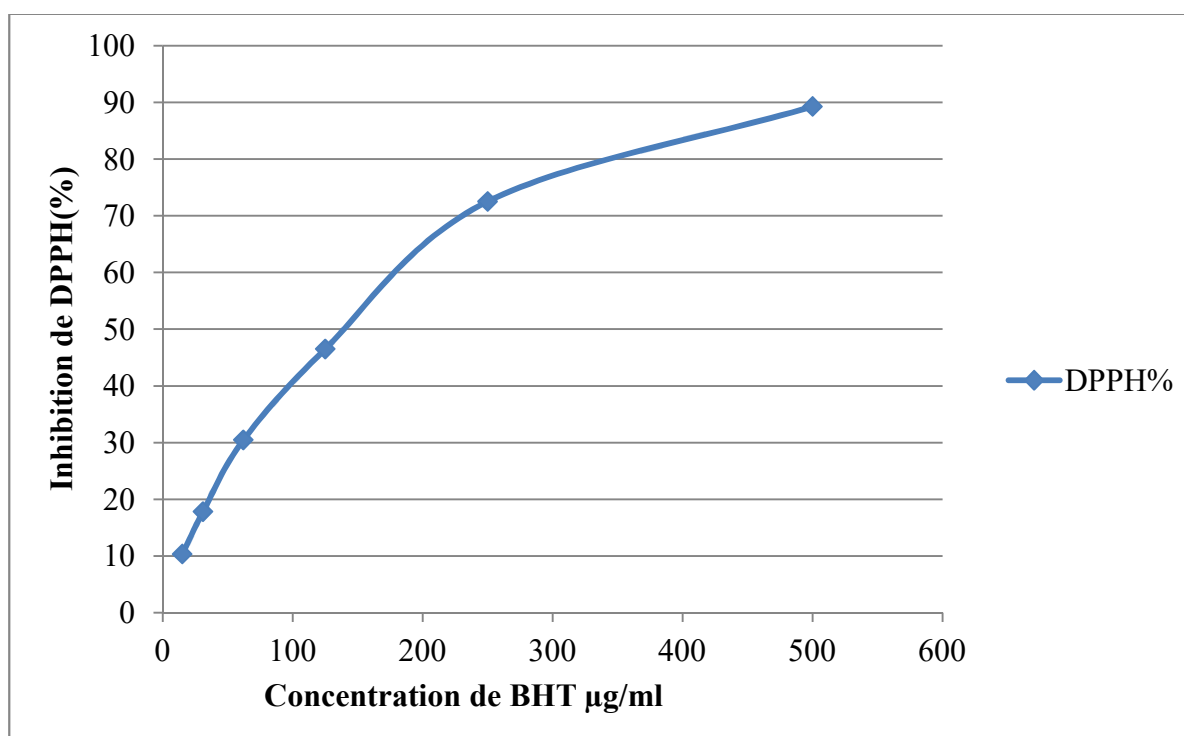


Figure 2. Courbe d'étalonnage de l'activité anti radicalaire (DPPH) de BHT

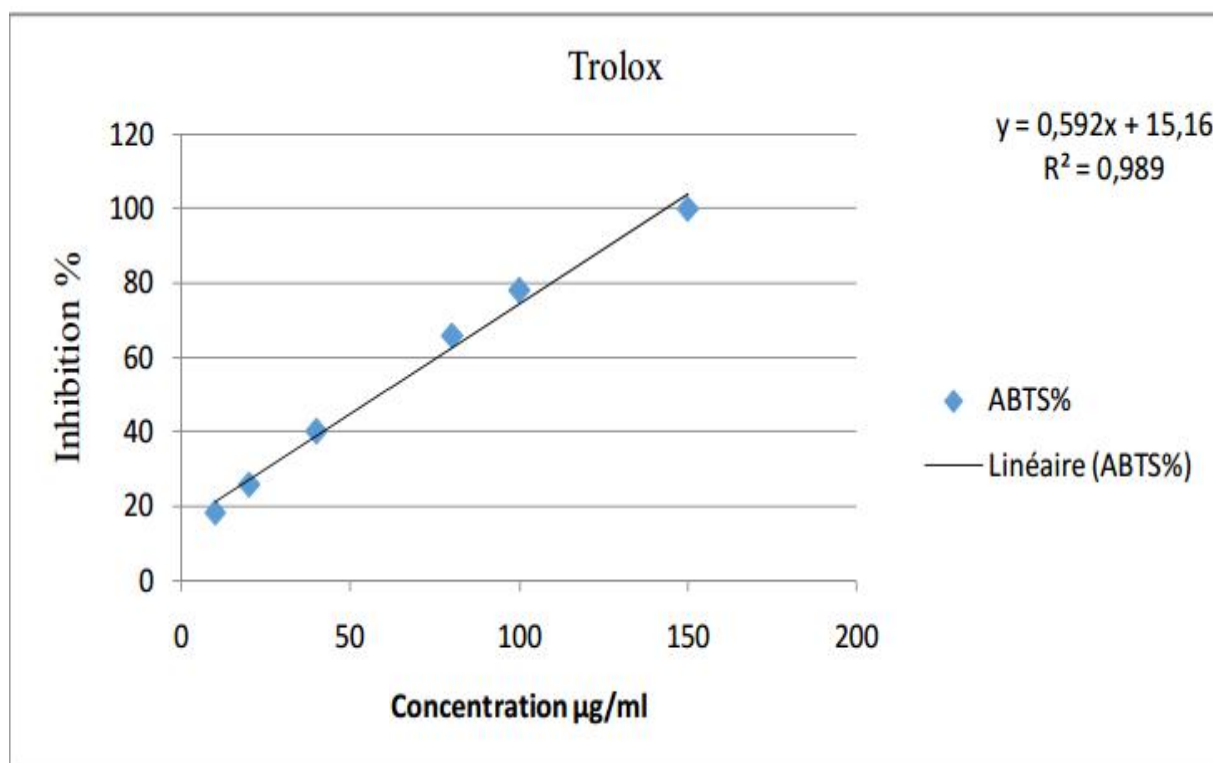


Figure3. Le pourcentage de l'inhibition de l'ABTS par le standard Trolox

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مضادات الأوكسدة والنشاط المضاد للالتهابات *in vivo* و *in vitro* من مختلف مستخلصات سيقان نبتة *Juncus*

maritimus المستعملة في الطب الشعبي.

في الجزء الأول، تم تحديد البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف بواسطة طرق استعمال المتفاعلات Ciocalteu-Folin ، ثلاثي كلوريد الألومنيوم وفانيليا. يعطي البوليفينول (من $1,92 \pm 29,07$ الى $0,20 \pm 127,73$ ميكرو غرام مكافئ حمض غالليك / ملغ مستخلص) والفلافونويد (من $0,18 \pm 3,49$ الى $16,42 \pm 0,42$ ميكرو غرام مكافئ الكرسيتين/ ملغ مستخلص) و العفص المكثف (من $0,67 \pm 3,37$ الى $0,35 \pm 10,10$ ميكرو غرام مكافئ الكاتيشين / ملغ مستخلص) في الجزء الثاني أقيمت دراسة من جهة على نشاط مضادات الاكسدة بأربع طرق (DPPH, FARP, ABTS et TAC) حيث مستخلص اسيتت الإيثيل اعطى نسبة أعلى نشاط في الطرق الثلاثة إلا في TAC. و من جهة أخرى تقييم النشاط المضاد للالتهاب *in vitro* باستعمال تجربة تلف بروتينات BSA الذي اعطى نسبة مئوية عالية لتثبيط تلف هذا البروتين لمستخلص اسيتات الاثيل. هذه التجربة اكدت *in vivo* بحقن اذن اليمنى للفئران بزولين و أدى الى زيادة وزن، مستخلص اسيتات الاثيل اعطى نسبة مرتفعة نسبيا للتثبيط انتفاخ اذن الفئران. في الأخير مستخلص اسيتات الاثيل لنبتة *Juncus maritimus* يملك نشاط مضاد للأوكسدة و الالتهاب ممتاز مقارنة بباقي المستخلصات.

الكلمات المفتاحية : *Juncus maritimus* بوليفينول، فلافونويد، العفص المكثف، مضاد الاكسدة، مضاد الالتهاب.

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo* de différents extraits des tiges de *Juncus maritimus* utilisées en médecine traditionnelle.

Dans la première partie, le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés a été effectué par les méthodes de Folin-Ciocalteu, de trichlorure d'aluminium et de la vanilline respectivement. Les polyphénols donnent ($127,73 \pm 0,20$ µg EAG/mg ES), flavonoïdes ($16,42 \pm 0,42$ µg EQ/mg ES) et les tanins condensés $10,10 \pm 0,35$ µg EC/mg ES).

Dans la deuxième partie, Une étude a été faite d'un part sur l'activité anti oxydante par 4 tests (DPPH, FARP, ABTS et TAC), dont l'extrait Acétate d'éthyle a donné l'activité la plus élevée dans les trois tests sauf dans le test TAC. Et dans une autre part sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par l'utilisation du test de la dénaturation des protéines BSA, qui a donnée un pourcentage d'inhibition de la dénaturation de cette protéine élevée de l'extrait acétate d'éthyle. Cette activité a été confirmée *in vivo* où l'injection de xylène sur l'oreille droite des souris conduit à l'augmentation du poids de l'oreille, l'extrait acétate d'éthyle a donné un pourcentage d'inhibition du gonflement un peu élevé.

En conclusion, l'extrait d'acétate d'éthyle de *Juncus maritimus* possède une excellente activité antioxydante et anti-inflammatoire par rapport aux autres extraits.

Mot clés: *Juncus maritimus*, polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés, antioxydant, anti-inflammatoire.

Abstract

The objective of this study is the evaluation of the antioxidant activity and the anti-inflammatory activity *in vitro* and *in vivo* of different extracts of the stems of *Juncus maritimus* used in traditional medicine.

In the first part, the determination of polyphenols, flavonoids and condensed tannins was carried out by the methods of Folin-Ciocalteu, aluminum trichloride and vanillin, respectively. Polyphenols give ($127,73 \pm 0,20$ µg EAG / mg ES), flavonoids ($16,42 \pm 0,42$ µg EQ / mg ES) and condensed tannins $10,10 \pm 0,35$ µg EC / mg ES).

In the second part, a study was made on the one hand on the antioxidant activity by 4 tests (DPPH, FARP, ABTS and TAC), whose extract Ethyl acetate gave the highest activity in the three tests except in the TAC test. And in another part on the evaluation of the anti-inflammatory activity *in vitro* by the denaturation test of BSA proteins, which gave a high inhibition percentage of this protein of Ethyl acetate extract. This activity was confirmed *in vivo* where injection of xylene into the right ear of mice leads to increased ear weight, ethyl acetate extract gave a bit high percentage inhibition of swelling.

In conclusion, the ethyl acetate extract of *Juncus maritimus* has excellent antioxidant and anti-inflammatory activity compared to other extracts.

Key words: *Juncus maritimus*, polyphenols, flavonoid, condensed tannins, antioxydant, anti- inflammatory