

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L 'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de master en chimie

Options : chimie de produits naturels

Thème

**Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des
Flavonoïdes De l'espèce *Thymelaea hirsuta* (L)**

Présenté par :

Bouchelaghem Maroua

et

Bouchelaghem Rania

Devant le jury :

M^{me} TOUAFEK Wasila

MCA.Université Saad Dahleb

Présidente

M^r ZAHI Mohamed Reda

MCB.Université Saad Dahleb

Examineur

M^{me} KENNOUCHE Samira

MCB.Université Saad Dahleb

Rapporteuse

Année universitaire : 2019-2020



Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir et de nous avoir donné la volonté et le courage pour accomplir ce travail.

Il nous est particulièrement agréable d'exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous ceux qui, par leur enseignement, leur soutien et leurs conseils, nous ont aidés à la réalisation de ce modeste travail.

*Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice **M^{me} KENNOUCHE SAMIRA**. Recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance et les conseils que vous nous avez accordés. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.*

*On remercie aussi le président du jury (**M^{me} TOUAFEK WASSILA**) Pour avoir accepté présider ce jury. Et l'examineur (**Mr ZAHY Mohamed Reda**) Vous nous faites un grand honneur en acceptant d'évaluer et de juger ce travail.*

*Nous remercions également **M^{me} TOUAFEK WASSILA**, responsable de la Spécialité chimie des produits naturels, qui a bien voulu apporter ses orientations durant les années d'étude universitaire.*

Nous remercions aussi tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant notre cursus

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

Un grand merci à nos amies et camarades pour les moments agréables.





Dédicace

**A mes très chers parents HAMOUD et FOUZYA **

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Vous résumez si bien le mot parents qu'il serait superflu d'y ajouter quelque chose. Que dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

**A mes chers frères Nabil et Brahim et mes sœurs Rafiaa et Manel et Nadjat **

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler.

** A tous mes ami(e)s et mes collègues **

Qui font partie de ces personnes rares par leur gentillesse, leur tendresse et leurs grands crus. Quelles trouvent ici, le témoignage de tout mon amour et toute ma reconnaissance pour leur inlassable soutien. Je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.

BOUCHELAGHEM.R





Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail :

** A mes très chers parents MOHAMED et FATIHA **

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

** A ma chère sœur SIHEM et son mari DJAMEL **

** A mes chers frères BILEL et ABDERRAOUF **

En témoigne de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie plein de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

** A tout mes collègues et ami(e)s **

BOUCHELAGHEM.M



Résumé

Thymelaea hirsuta (L.) est une plante méditerranéenne largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques attribuées essentiellement aux polyphénols. Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de polyphénols totaux, et de flavonoïdes de *Thymelaea hirsuta*, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction à savoir la macération, l'infusion, et la décoction et deux solvants (eau, méthanol). Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la macération soit une moyenne de 25,15 % versus 20 % pour la décoction, et 13,1 % pour l'infusion; toutefois l'eau et le méthanol restent les meilleurs solvants d'extraction. La macération semble être meilleure pour l'extraction des polyphénols totaux (318,16 mg équivalent acide gallique /g d'extrait).

A la fin, cette étude montre une certaine supériorité de la méthode d'extraction par macération, en termes de rendement d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes. Néanmoins, ce résultat, obtenu pour la plante *Thymelaea hirsuta*.

Abstract

Thymelaea hirsuta (L.) Is a Mediterranean plant widely used in traditional medicine for its biological properties attributed mainly to polyphenols. In order to evaluate the best technique for extracting total polyphenols, and flavonoids from *Thymelaea hirsuta*, we used three extraction methods namely maceration, infusion, and decoction and two solvents (water, methanol). The best extraction yields are recorded by maceration, ie an average of 25,15% versus 20% for the decoction, and 13,1% for the infusion; however water and methanol remain the best extraction solvents. Maceration appears to be better for the extraction of total polyphenols (318,16 mg gallic acid equivalent / g extract).

In the end, this study shows a certain superiority of the extraction method by maceration, in terms of extraction yield of phenolic compounds and flavonoids. Nevertheless, this result, obtained for the plant *Thymelaea hirsuta*.

ملخص

Thymelaea hirsuta(L.) هو نبات متوسطي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لخصائصه البيولوجية

المنسوبة أساساً إلى مادة البوليفينول. من أجل تقييم أفضل تقنية لاستخراج البوليفينول الكلي ، والفلافونويد من

Thymelaea hirsuta ، استخدمنا ثلاث طرق لاستخراج وهي النقع، والتسريب ، والإغراق ، واثنين من المذيبات (الماء ، الميثانول). يتم تسجيل أفضل عوائد الاستخلاص بالنقع، أي بمعدل 25,15 ٪ مقابل 20 ٪ للمغلي و 13,1 ٪

للتسريب، لكن اماء والميثانول يظان أفضل مذيبات الاستخلاص.

يبدو أن النقع هو أفضل لاستخراج البوليفينول الكلي (318,16 ملغ مكافئ حمض الغاليك / غرام مستخلص).

في النهاية ، أظهرت هذه الدراسة تفوقاً معيناً لطريقة الاستخلاص بالنقع ، من حيث إنتاجية استخلاص المركبات الفينولية والفلافونويد. ومع ذلك ، تم الحصول على هذه النتيجة للنبات *Thymelaea hirsuta*.

» SOMMAIRE «

Resumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abreviation	
Introduction	1
Chapitre I : Revue Bibliographique	
I. 1. Les plantes médicinales	3
I.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales	3
I.3. La famille de Thymelaeaceae	3
I.3.1. Généralités	3
I.3.2. Distribution géographique de la famille Thymelaeaceae.....	4
I.3.3. Description botanique des Thymelaeaceae.....	4
I.3.4. Propriétés chimiques	5
I.3.5. Propriétés thérapeutiques	5
I.3.6. Utilisations traditionnelles des Thymelaeaceae.....	6
I.3.6.1. Utilisations non-médicinales.....	6
I.3.6.2. Utilisations médicinales	7
I.3.7. Toxicité	9
I.4. Le genre <i>Tymelaea</i> (les passerines).....	10
I.4.1. Morphologie	10
I.4.2. La Composition chimique de genre <i>Tymelaea</i>	10
I.4.3. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Thymelaea</i>	10
I.4.3.1. Utilisation en médecine traditionnelle.....	10
I.4.3.2. Quelques activités biologiques reconnues des espèces du genre <i>Thymelaea</i>	11

I.4.4. les métabolites secondaires isolés de genre <i>Thymelaea</i>	11
I.4.4.1. Les flavonoïdes.....	11
I.4.4.2. Les coumarines	12
I.4.4.3. Les lignanes	12
I.4.4.4. Les acides phénoliques.....	13
I.4.4.5. Les stérols	13
I.5. L'espèce <i>Thymelaea hirsuta</i>	13
I.5.1. Description botanique	14
I.5.2. La classification systématique de <i>Thymelaea hirsuta</i>	14
I.5.3. Nomenclature	15
I.5.4. Composition chimique de <i>Thymelaea Hirsuta</i>	15
I.5.5. Distribution géographique de l'espèce <i>Thymelaea hirsuta</i>	16
I.5.6. Utilisation traditionnelle.....	16
I.5.7. Quelques activités biologiques reconnues de l'espèce.....	17
I.5.8. Les métabolites secondaires isolés de l'espèce <i>Thymelaea hirsuta</i>	18
I.5.8.1. Flavonoïdes.....	18
I.5.8.2. Composés terpénoïdes.....	19
I.5.8.3. Les stérols.....	20
I.5.8.4. Acide phénolique	22
I.5.8.5. Coumarines	24
I.5.8.6. lignans	25

Chapitre II : Les composés phénolique et les méthodes d'extractions

II. Partie 1 : les Composés phénoliques	26
II. 1. 1. Généralité	26
II. 1. 2. Distribution.....	27
II. 1. 3. Biosynthèse	27

II.1. 3.1. Voie de l'acide shikimique	27
II. 1.3.2. Voie de l'acétate / malonate.....	28
II.1.4. Classification	29
II.1 4.1. Les acides phénoliques	30
II.1.4.1.1. Acides hydroxybenzoïques.....	30
II.1.4.1.2.Acides hydroxycinnamiques.....	30
II.1.4.2. Les flavonoïdes	31
II.1.4.2.1. Classification des flavonoïdes	32
→ Les flavones	32
→ Les flavonols	32
→ Les flavanones	32
→ Les flavanes.....	33
→ Iso flavonoïdes	33
II.1.4.3. Les Tanins.....	34
II.1.4.3.1. Les tanins hydrolysables.....	34
II.1.4.3.2.Les tanins condensés.....	35
II.1.4.4. Coumarines	36
II.1.4.5. Les anthocyanes.....	36
II.1.4.6. Lignanes	37
II.1.4.7. Les stilbènes	38
II.1.4.8. Quinones	38
II.1.5. Les propriétés physico-chimiques	38
II.1.5.1. Les propriétés réductrices	38
II.1.5.2. Les propriétés complexantes.....	38
II.1.6. Activités biologiques de certains composés phénoliques.....	39
II.1.7. Activités antioxydant des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	40
II.1.8. Rôles des polyphénols dans les plantes	40

II. Partie 2 : Les méthodes d'extraction des composés phénoliques et leur effets sur le rendement	41
II.2.1. Les différentes méthodes d'extraction.....	41
II.2.1.1. Macération.....	41
II.2.1.2. Infusion	41
II.2.1.3. Décoction.....	42
II.2.2. L'effet des méthodes d'extraction sur le rendement des polyphénols et des flavonoïdes	42

Chapitre III : Partie expérimentales

III. Partie 1 : Matériels et Méthodes	48
III.1.1. Matière végétale	48
III.1.1.1. Situation géographique	48
III.1.2. Préparation de l'échantillon végétale.....	48
→ Le séchage	48
→ Le broyage	49
→ La conservation	49
III.1.3. Screening phytochimique	49
III.1.3.1. Préparation des extraits.....	50
III.1.3.1.1. L'extrait végétal hydro-alcoolique (A).....	50
III.1.3.1.2. L'extrait étherique.....	50
III.1.3.1.3. L'extrait chloroformique.....	50
III.1.3.2. Le screening phytochimique.....	50
III.1.3.2.1. Le screening phytochimique des flavonoïdes.....	50
→ Teste de bate-smith (teste de flavan-3,4-diols).....	50
→ Teste de Wilstater (teste de flavonols et flavonones).....	50
III.1.3.2.2. Le screening phytochimique des Tannins.....	51
III.1.3.2.3. Le screening phytochimique des Coumarines.....	51
III.1.3.2.4. Le screening phytochimique des Anthraquinones.....	51

III.1.3.2.5. Le screening phytochimique des Saponosides	51
III.1.4. Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes	51
III.1.4.1.Extraction par macération dans l'eau (extraction solide/liquide)	52
III.1.4.2. Extraction par Infusion	52
III.1.4.3. Extraction par Décoction.....	52
III.1.4.4. Evaporation	52
III.1.4.5. Détermination du rendement d'extraction.....	54
III.1.5. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	54
III.1.5.1. Les principaux éléments du CCM.....	54
III.1.6. Dosage des polyphénols totaux des extraits	54
III.1.6.1. Dosage des composés phénoliques totaux (TCP).....	54
➤ Principe.....	54
➤ Protocole.....	55
III. Partie 2 : Résultats et discussions.....	58
III.2.1. Screening phytochimique.....	58
III.2.2. Etude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	60
III.2.2.1.Détermination du rendement	61
III.2.2.2.Chromatographie sur couche mince	62
III.2.2.3.Dosage des composés phénoliques	64
Conclusion.....	66
Les Références bibliographique	67
Annexes	82

» *Liste des figures*«

Figure I.1: Distribution géographique de Thymelaeaceae dans le monde	4
Figure I.2 : Quelques espèces des Thymelaeaceae.....	5
Figure I. 3 : <i>Thymelaea hirsuta</i>	14
Figure I.4: Distribution géographique de l'espèce <i>Thymelaea Hirsuta</i> dans le monde.....	16
Figure I.5 : Structures des Flavonoïdes isolés de l'espèce <i>T. hirsuta</i>	19
Figure I.6 : Structures des terpénoïdes isolés de l'espèce <i>T. hirsuta</i>	20
Figure I.7 : Structures de coumarines isolées de l'espèce <i>T. hirsuta</i>	24
Figure I.8 : Structures des lignans isolés de l'espèce <i>T. hirsuta</i>	25
Figure II.9 : Structure du noyau phénol.....	27
Figure II.10 : Biosynthèse des composés phénoliques par la voie shikimate.....	28
Figure II.11 : Biosynthèse des composés phénoliques par la voie d'acétate.....	29
Figure II.12 : Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques.....	31
Figure II.13 : Structure de base de flavonoïde.....	32
Figure II.14 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).....	35
Figure II.15: Structure chimique des tanins condensés.....	35
Figure II.16: La structure générale des coumarines.....	36
Figure II.17 : Structure des anthocyanosides.....	37
Figure II.18 : Structure de base des lignanes.....	37
Figure II.19: Structure de base des stilbènes.....	38
Figure II.20 : Rendements d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par décoction.....	42
Figure II.21: Rendements d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par macération.....	43
Figure III.22 : Secteur représentatif de rendement d'extraction de la fleur d'artichaut extrait par décoction et par macération.....	43

Figure II.23 : Histogramme représentatifs des teneurs en polyphénols totaux de la fleur d'artichaut extrait par décoction et par macération.....	44
Figure II.24 : Histogramme représentatif des teneurs en flavonoides de la fleur d'artichaut extrait par décoction et par macération.....	45
Figure II.25 : Secteur représentatif de rendement d'extraction des extraits obtenue à partir des feuilles de <i>Azadirachta indica</i> et <i>Psidium guajava</i> à différents modes d'extraction.....	46
Figure II.26 : Histogramme représentatif des teneures en flavonoïdes de <i>Azadirachta indica</i> et <i>Psidium guajava</i>	47
Figure III.27 : Localisation de la commune Ferdjioua dans la wilaya de Mila.....	48
Figure III.28 : séchage des parties aériennes de <i>Thymelaea hirsuta</i>	49
Figure III.29 : broyat des parties aériennes de <i>Thymelaea hirsuta</i>	49
Figure III.30 : les extraits de trois méthodes d'extraction.....	53
Figure III.31 : Organigramme d'extraction.....	53
Figure III.32 : Structure de l'acide gallique.....	55
Figure III. 33: Schéma illustratif de la méthode de dosage des polyphénols.....	56
Figure III.34: courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	57
Figure III.35 : Secteur représe le rendement d'extraction de <i>Thymelaea hirsuta</i> par différents méthodes d'extraction.....	62
Figure III.36 : Résultat de la CCM.....	63
Figure III.37 : Histogamme représentatif de teneurs en polyphénols totaux du macérat de l'infusé et du décocté de <i>Thymelaea hirsuta</i>	65

»Liste des tableaux«

Tableau I.1 : Quelques utilisations non-médicinales répertoriées des Thymelaeaceae.....	6
Tableau I.2 : Quelques utilisations médicinales répertoriées des Thymelaeaceae.....	7
Tableau I. 3 : Quelques utilisations traditionnelles de genre <i>Thymelaea</i>	10
Tableau I.4 : Quelques effets et activités biologiques reconnues des espèces du genre <i>Thymelaea</i>	11
Tableau I.5: Les flavonoïdes isolés du genre <i>Thymelaea</i>	11
Tableau I 6: Les coumarines isolées du genre <i>Thymelaea</i>	12
Tableau I.7: les Lignanes isolés du genre <i>Thymelaea</i>	12
Tableau I.8 : Les acides phénoliques isolés du genre <i>Thymelaea</i>	13
Tableau I.9: Les stérols isolés du genre <i>Thymelaea</i>	13
Tableau I.10: Classification de Cronquist.....	14
Tableau I. 11: Composition chimique de <i>Thymelaea hirsuta</i>	15
Tableau I.12 : Quelques utilisations traditionnelles du <i>Thymelaea hirsuta</i>	17
Tableau I.13 : Quelques effets et activités biologiques reconnues du <i>T. hirsuta</i>	17
Tableau I.14 : Structures des stérols isolés de l'espèce <i>T. hirsuta</i>	20
Tableau I.15 : Les acides phénoliques isolés de l'espèce <i>Thymelaea hirsuta</i>	22
Tableau II.16 : Les principales classes des composés phénoliques.....	29
Tableau II.17 : Principales classes des flavonoïdes.....	33
Tableau II.18: Activités biologiques de certains composés phénoliques.....	39
Tableau II.19 : Teneur en polyphénols totaux dans différentes parties de la fleur d'artichaut extraits par décoction et par macération (mg éq AG/g PS).....	43
Tableau II.20 : Teneur en flavonoïdes dans différentes parties de la fleur d'artichaut extraits par décoction et par macération (mg éq Qu/g PS)	44
Tableau II. 21 : Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des feuilles de <i>Azadirachta indica</i> et <i>Psidium guajava</i> à différents modes d'extraction.....	45
Tableau II.22 : Mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes.....	46
Tableau II.23: Teneur en flavonoïdes dans différentes parties des feuilles de <i>Azadirachta indica</i> et <i>Psidium guajava</i> extraits par décoction et par macération (mg EQ/mL).....	46

Tableau III.24: Systèmes solvants utilisés pour la CCM.....	54
Tableau III. 25: Les différents tests de criblage phytochimique.....	58
Tableau III.26 : Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des parties aériennes de <i>Thymelaea hirsuta</i> à différents modes d'extraction.....	61
Tableau III. 27 : Résultat de la CCM.....	63
Tableau III.28 : Résultats du dosage des polyphénols.....	64

»Abréviations et symboles«

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé.

Da : Dalton (unité de masse moléculaire).

T- hirsuta : Thymelaea hirsuta.

T- microphylla : Thymelaea microphylla.

T- tartonraira : Thymelaea tartonraira.

T- lythroides : Thymelaea lythroides.

T-passerina : Thymelaea passerina.

UV : Ultraviolet.

Phe : phénylalanine.

Tyr : Tyrosine.

CoA : Coenzyme A.

C : Carbone.

% : pourcentage.

h : Heur.

mg : Milligramme.

ml : Millilitre.

mg EQ/MI : Milligramme d'équivalente par millilitre.

g : gramme.

min : Minutes.

Fecl₃: Chlorure de fer.

H₂O : Eau

Hcl : Acide chlorhydrique

KOH : Hydroxyde de potassium

°C : Degré Celsius

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

v/v : Volume/ Volume.

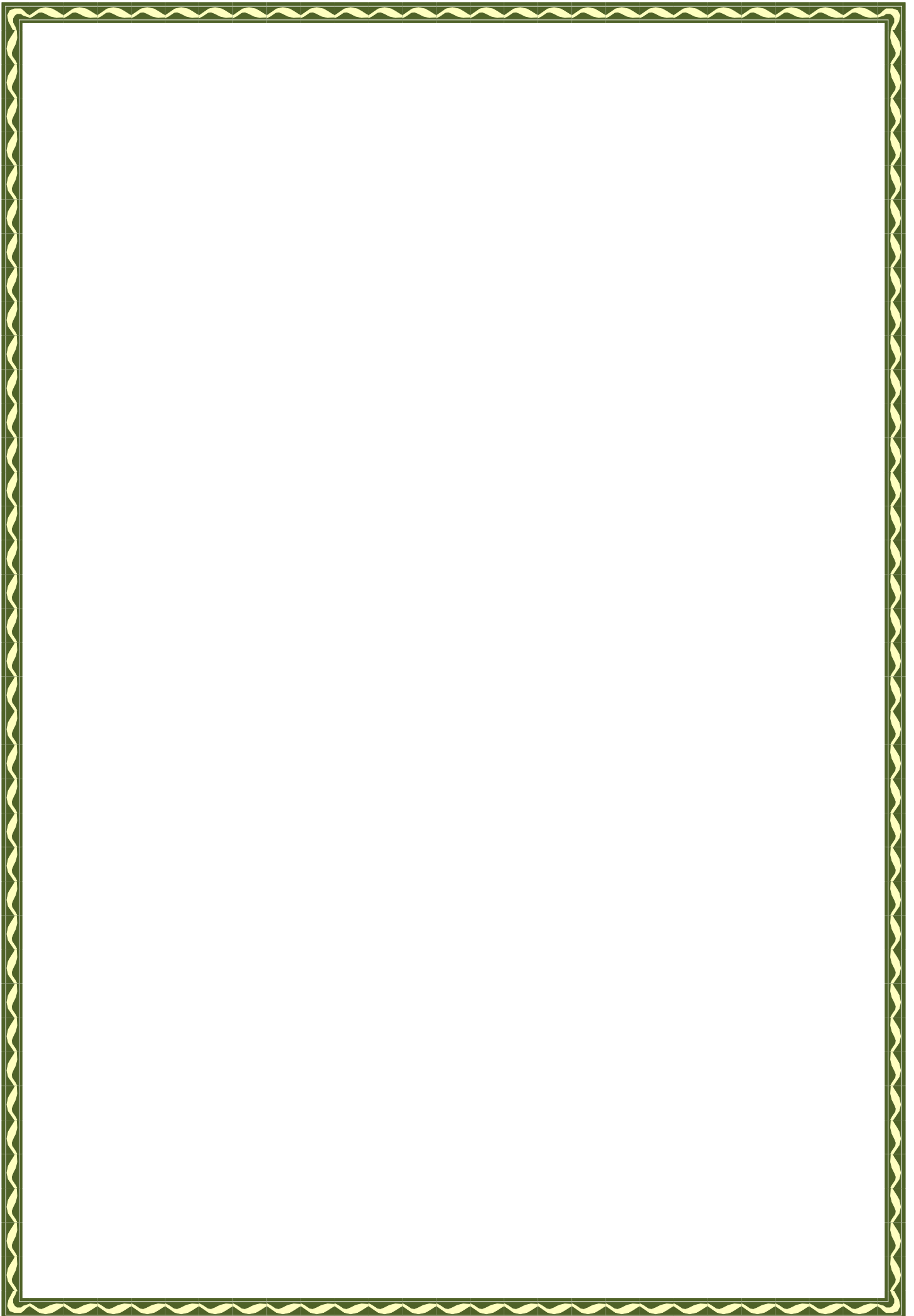
R_f : Rapport frontal.

nm : nanomètre.

mgEAG/g MS : milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche.

µg/ml : microgramme par millilitre.

µl : microlitre.



A travers des siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales dans l'objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé de l'homme.

L'usage des plantes est une composante naturelle de la culture humaine, Les propriétés médicinales de certaines plantes sont connues depuis l'antiquité. En effet, les plantes ont toujours joué un rôle important dans le quotidien de l'homme aussi bien au niveau de son alimentation que pour leur usage en thérapie. Car ce dernier a fini par réaliser, peu à peu, qu'il pouvait se soigner par les plantes et ce grâce à l'observation et à l'expérience à travers les temps. C'est ainsi, qu'est née la discipline dénommée « la Phytothérapie », qui est le traitement des maladies par les plantes. A rappeler que l'O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé) considère la phytothérapie comme médecine alternative [1]

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce a ses molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et d'activités biologique .Les plantes aromatiques sont caractérisées par leur richesse en principe actifs et en substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes qui sont dotées des propriétés implorantes et différentes.

Le bassin méditerranéen présente une très grande diversité en espèces végétales et un grand intérêt pour toute étude scientifique qu'elle soit biologique ou écologique, vue sa grande richesse et à l'hétérogénéité des facteurs historiques, paléogéographiques, géologiques et écologiques.

En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle.

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées mais dotées de réelles propriétés pharmacologique [2]. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques [3]. *Thymelaea hirsuta* est une plante faisant partie de ces dernières, est utilisée traditionnellement dans les régions paysannes dans le traitement des infections cutanées et dans de nombreuses régions du monde comme antiglycémiant [4], purgatif dans le traitement des rhumes des brebis en médecine vétérinaire, l'hypertension et comme antiseptique [5].

La mise en œuvre des valeurs thérapeutiques de ces plantes médicinales se base sur la qualité et l'efficacité de la méthode d'extraction de principes actifs de ces métabolites qui est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification.

Parmi les divers procédés d'extraction utilisés fréquemment on compte : la macération, l'infusion et la décoction. La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée profondément à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction donc le choix de la bonne méthode s'évalue par celle qui permet la récolte des principales substances actives qui reste une épreuve obligatoire pour l'obtention des meilleurs résultats.

Notre travail se propose d'approfondir les connaissances sur une famille botanique méconnue: les Thymelaeaceae , l'espèce choisie pour cette étude est *Thymelaea hirsuta* (L.) et aussi d'effectuer une étude comparative de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes.

Ce manuscrit est réparti en trois chapitres :

Le premier chapitre a été essentiellement consacré aux données bibliographiques qui se focalisent sur les études antérieures incluant la présentation botanique de la famille des Thymelaeaceae et l'espèce *Thymelaea hirsuta*, ses principaux métabolites secondaire, ses usages traditionnels et ses activités biologiques.

Le deuxième chapitre est consacré aux composés phénoliques (Distribution, biosynthèse, classification, les propriétés physico-chimique, Activités biologiques et antioxydant.....) et les méthodes d'extractions comme (Macération, Infusion et Décoction).

Le troisième chapitre est divisé en deux parties:

Dans la première partie nous avons envisagé la partie expérimentale dont laquelle nous avons détaillé les méthodes utilisées.

Dans la deuxième partie nous avons rapporté les résultats obtenus et leurs discussions.

Finalement ce travail a été complété par une conclusion et les références biographiques.

I.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée française, comme des « drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

En d'autre terme nous pouvant dire qu'une plante médicinale est une plante qui contient une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales, mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique consciencieuse [6]. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains [7].

I.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [8].

La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés [9].

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs [10].

I.3. La famille de Thymelaeaceae

I.3.1. Généralités

Les Thymelaeaceae sont une petite famille de dicotylédones composée de quelque 1200 espèces réparties en 67 genres. Les membres de cette famille sont répandus dans les zones tropicales et tempérées de la planète, particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids [11].

I.3.2. Distribution géographique de la famille Thymelaeaceae

La famille des Thymelaeaceae sont répartis dans les zones tropicales et tempérées de la planète, particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids [11].



Figure I.1: Distribution géographique de Thymelaeaceae dans le monde [12].

I.3.3. Description botanique des Thymelaeaceae

Les Thymelaeaceae sont principalement des arbustes et leurs caractères morphologiques principaux sont les suivants [12] :

- feuilles : alternes (rarement opposées).
- fleurs : – régulières, gén. Bisexuées, pièces florales normalement par 4 ou 5.
 - regroupées en racèmes, en capitules ou en fascicules.
 - en forme de coupe, le réceptacle creux formant un tube profond dont le bord porte généralement les pièces florales.
 - sépales pétaloïdes, apparaissant comme une continuité du tube, étamines insérées dans le tube et corolle insignifiante ou absente.
 - ovaire supère à style simple, fixé à la base du réceptacle, possédant 1 ou 2 (rarement 3 à 8) carpelles soudés, avec autant de loges renfermant chacune 1 ovule pendant axile ou pariétal .
- fruit :

- akène, baie, drupe ou parfois capsule,
- graine possédant peu ou pas d’albumen, embryon droit.
- Les Principaux genres :

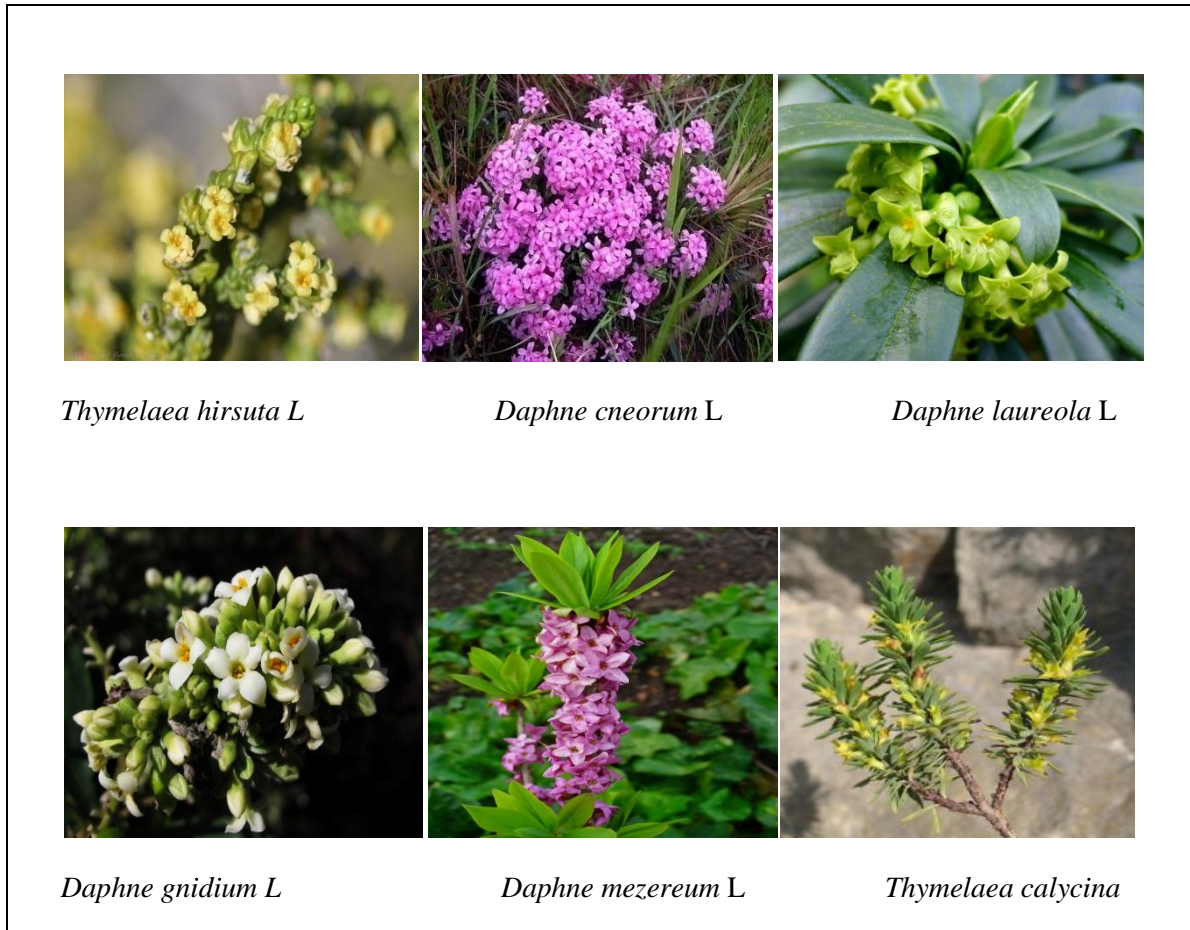


Figure I.2 : Quelques espèces des Thymelaeaceae.

(https://www.florealpes.com/fiche_thymelaeahirsuta.php?PHPSESSID=007e613d5439c0b2945d31d8492e8918)

I.3.4. Propriétés chimiques

Plusieurs espèces de la famille des Thymelaeaceae contiennent, en diverses proportions, deux principes chimiques : la mézéréine, une substance résineuse d’un jaune brunâtre, de constitution encore inconnue, très vénéneuse, irritante, âcre, amère, drastique, vésicante et sternutatoire ; et la daphnine, un glucoside non vénéneux, à saveur amère, astringente [13].

I.3.5. Propriétés thérapeutiques

L’antiquité utilisait déjà certaines propriétés médicinales des Thymelaeaceae. Des enquêtes ethnobotaniques ont montré que *T. lythroides* est très utilisée dans la médecine traditionnelle marocaine pour combattre différents maux : mal de la vessie et des reins, douleurs gastriques

et intestinales, rhumatismes, migraines, conjonctivites, otites, certaines mycoses dermiques, traumatismes. Il est traditionnellement utilisé en Tunisie comme antiseptique, anti-inflammatoire et pour le traitement de l'hypertension [14].

I.3.6. Utilisations traditionnelles des Thymelaeaceae

I.3.6.1. Utilisations non-médicinales

Les Thymelaeaceae ont une importance économique non négligeable surtout dans les régions où elles se poussent. Quelques utilisations non-médicinales des *Thymelaeaceae* sont représentées dans le tableau I.1

Tableau I.1 : Quelques utilisations non-médicinales répertoriées des Thymelaeaceae [11]

Plante	Partie	Utilisation	Région
<i>Aquilaria agallocha Roxb.</i>	Bois	encens, bois odorant (« bois d'aigle », « bois d'aloès »), sculptures ornementales	Inde, Chine
	Ecorce H.E.	fabrication de papier parfumerie	Inde, Chine
<i>A. malaccensis Lamk.</i>	Ecorce	fabrication de corde	Inde
	bois	encens, fumigations	Inde
<i>Dais glaucescens Decne.</i>	écorce	fabrication de ficelle	Afrique, Madagascar
<i>Daphne species</i>	écorce	poisons de pêche, fabrication de papier et de corde	Afrique, Inde, pourtour méditerranéen
<i>D. mezereum L.</i>	fruit	substitut au poivre rouge	Europe
<i>Daphnopsis brasiliensis Mart. et Zucc.</i>	écorce	fabrication de papier	Brésil
<i>Dicranolepis persei Cummins.</i>	fruit	comestible	Ghana
<i>Dirca pallustris L.</i>	écorce	utilisée par les Indiens pour la fabrication de sandales, de cordes à arc et de paniers	Etats-Unis d'Amérique
<i>Edgeworthia species</i>	écorce	fabrication de papier	Japon
<i>E. gardneri Meissn.</i>	écorce	Fabrication de papier	Népal
<i>Gnidia species</i>	écorce	fabrication de papier et de corde	Madagascar Ethiopie
<i>G. kraussiana</i>	racine, tige,		

<i>Meissn.</i>	feuilles extrait	poisons de flèche, de pêche et à usage criminel	Afrique
<i>Gonystylus species</i>	bois	fabrication de planches	Japon, Malaisie, îles du Pacifique
<i>Lagetta linearia Lam.</i>	écorce	décoration	jamaica
<i>Lasiosiphon species</i>	feuilles ou racines	extraits comme poisons de flèche, de pêche et à usage criminel	Afrique, Inde
<i>Passerina species P. fischeri Engl., P. longiflora Engl. et Gilg</i>	écorce fruit	fabrication de papier comestible	Afrique Guinée
<i>Thymelaea spp.</i>	écorce	fabrication de fibre, de papier et de teinture jaune	Afrique, Egypte
<i>Wikstroemia spp.</i>	écorce	fabrication de fibre et de papier	hawaii
<i>W. viridiflora Meissn.</i>	écorce	fabrication de filets de pêche	Polynésie

I.3.6.2. Utilisations médicinales

Les médecines traditionnelles d'un grand nombre de cultures utilisent des Thymelaeaceae pour la préparation de traitements d'une gamme très étendue de troubles. Les emplois comme émétique, purgatif, vésicant et pour le traitement de maladies de la peau, sont des exemples de l'utilisation des effets toxiques de ces remèdes traditionnels. Dans ces applications, les doses sont cependant faibles, afin de favoriser l'effet bénéfique par rapport aux effets secondaires. Les bases de l'utilisation de ces plantes dans le traitement d'autres maux, tels que morsures de serpents, piqûres de scorpions, malaria et affections ophtalmiques, ne sont pas claires [11]. Quelques utilisations médicinales répertoriées des Thymelaeaceae sont représentées dans le tableau I.2.

Tableau I.2 : Quelques utilisations médicinales répertoriées des Thymelaeaceae.
[11][15][16][17].

Plante	Partie	Utilisation	Région
<i>Aquilaria agallocha</i> Roxb.	bois	aphrodisiaque, stimulant, etc.	Inde, Chine
<i>Arthrosolen chrsyanthus</i> Solms-Laub.	Racine	décoctions contre la malaria et les rhumatismes	Tanzanie
	feuille	bain contre la malaria	Tanzanie
<i>A. gymnostachys</i> C.A. Mey.	feuille	fumée contre les maux de tête	Afrique
<i>A. polycephalus</i> C.A. Mey.	racine	asthme décoction contre le « lamsiekte » (botulisme du bétail)	Afrique Afrique australe
<i>Craterosiphon scandens</i> Enlg.	racine	abortif	Nigéria
<i>Daphne gnidium</i> L	écorce	hépatite	Tunisie
<i>Dicranolepis lacinata</i> Gilg.	non précis	aphrodisiaque	Afrique
<i>D. persei</i> Cummins.	non précisé	troubles hépatiques	Afrique
	fleur	extrait laxatif	Ghana
	fruit	purgatif	Ghana
	racine	décoction purgative	Côte d'Ivoire
	graine	extrait purgatif et stimulant le travail de l'accouchement	Ghana
<i>Gnidia buchananii</i> Gilg	racine	décoction contre la bronchite et les douleurs abdominales	Afrique
<i>G. glabra</i> H.H.W. Pearson	racine	poudre mél. à du lait de chameau comme laxatif, ou à un bouillon de viande comme émétique	Somalie
<i>G. glauca</i> Steud.	racine	décoction contre l'indigestion	Afrique
<i>G. goetzeana</i> Gilg	racine	mâchée contre la toux	Afrique
<i>G. involucrata</i> Steud.	racine	laxative et vermifuge réduction de l'orifice vaginal	Ethiopie
<i>G. kraussiana</i> Meissn.	racine	décoction contre les douleurs abdominales et autre indications	Afrique

<i>G. latifolia</i> Gilg	écorce de racine	décoction purgative	Afrique
<i>G. microcephala</i> Meissn	racine	mâchée comme aphrodisiaque réduction de l'orifice vaginal	Afrique
<i>G. somalensis</i> Gilg	racine	mâchée contre la tuberculose	Somalie
<i>Gnidia kraussiana</i> Meissn	non précis	ont été brevetés pour le traitement de la lèpre	France
<i>Daphne giraldii</i> Nitsche	non précis	préparation à effet analgésique longue durée pour le traitement des hémorroïdes	Chine
<i>Daphne</i> <i>Gnidia</i> <i>Wikstroemia</i> <i>Pimelea</i>	non précis	mettant en évidence leurs propriétés anticancéreuses. Les propriétés abortives et anticancéreuses de ces produits ont été attribuées principalement à la présence d'esters de daphnane.	Chine

I.3.7. Toxicité

La littérature médicale mentionne de nombreux empoisonnements dus à l'absorption de fruits de la famille Thymelaeaceae ou à l'emploi inconsidéré de leur écorce ou de leurs feuilles ; Il est même dangereux de tenir à la bouche un rameau fleuri, qui peut causer de graves inflammations de la bouche et de la cavité buccale. Des empoisonnements peuvent même suivre de simples applications externes, par suite de la résorption cutanée [13]. La famille contient des plantes très vénéneuses. Quelques espèces renferment des esters de diterpènes : La Daphnane et la tigliane qui sont responsables des propriétés irritantes de ces plantes. La toxicité des Thymelaeaceae est d'une importance économique considérable en dehors des dégâts qu'elle peut occasionner à l'industrie du bétail. En effet, de nombreux genres sont utilisés comme poisons de pêche en Europe, en Afrique, en Asie et dans les îles du Pacifique 45 Sud. Certains genres sont aussi d'efficaces poisons de chasse employés en Afrique et en Asie. Relevons également que des cas d'empoisonnements humains criminels ont été rapportés, particulièrement en Afrique [11].

I.4. Le genre *Thymelaea* (les passerines)

Les passerines sont très voisines des Daphnés, contiennent comme eux des principes toxiques [13]. Ce genre renferme plusieurs espèces intéressantes, mais celles qui figurent parmi les plus communes en Algérie sont : *T. hirsuta* L, *T. microphylla* C.et D. et *T. passerina* (L.)(Langue de Moineau) [18].

I.4.1. Morphologie

Ce sont des herbes ou des arbrisseaux bas à feuilles et fleurs très petites, les premières larges de quelques millimètres, les secondes peu apparentes, jaunâtres ou verdâtres, sans corolle, à 4 sépales et 8 étamines très courtes [13].

I.4.2. La Composition chimique de genre *Tymelaea*

Le genre *Thymelaea* contient des hétérosides flavoniques, des flavones, terpènes, stigmasterol, daphnoretine, et kaemphérol, campestérol et tanins qui donnent des propriétés antihyperglycemiantes qui pourraient avoir une utilisation dans le traitement du diabète [19].

I.4.3. Propriétés pharmacologiques du genre *Thymelaea***I.4.3.1. Utilisation en médecine traditionnelle**

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Thymelaea* montre qu'elles ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer dans le tableau suivant quelques exemples d'espèces de très grande importance pharmacologique. Quelques utilisations traditionnelles de genre *Tymelaea* sont représentées dans le tableau I.3.

Tableau I. 3 : Quelques utilisations traditionnelles de genre *Tymelaea*.

L'espèces	L'utilisation	Pays	Référence
<i>T. lythroides</i>	très utilisée pour combattre différents maux : mal de la vessie et des reins, douleurs gastriques et intestinales, rhumatismes, migraines, conjonctivites, otites, certaines mycoses dermiques, traumatismes	Maroc	[20]
<i>T. lythroides</i>	comme antiseptique, anti-inflammatoire et pour le traitement de l'hypertension	Tunisie	[21]

I.4.3.2. Quelques activités biologiques reconnues des espèces du genre *Thymelaea*

L'activité et l'effet biologique de quelques espèces du genre *Thymelaea* sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau I.4 : Quelques effets et activités biologiques reconnues des espèces du genre *Thymelaea*.

Espèces	Effet et Activité biologique	références
<i>T. microphylla</i>	Activités antioxydants	[22]
<i>T. lythroides</i>	Activité antifongique	[23]
<i>Daphne gnidium</i>	Activité antiseptiques, insecticides, dépuratives, cicatrisantes, sudorifiques et abortives	[24]

I.4.4. les métabolites secondaires isolées de genre *Thymelaea*

Les métabolites secondaires des plantes appartenant au genre *Thymelaea*, sont très nombreux, La plupart des substances naturels appartiennent au grand groupe des composés polyphénoliques et plus précisément aux flavonoïdes et acides phénoliques. On retrouve également quelques composés de la famille des stérols, des lignanes et des coumarines.

I.4.4.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc [25]. La coloration due à la présence de flavonoïdes. Ils existent le plus souvent sous forme d'hétérosides dont la génine du 2-phényl chromane ou flavane [26]. Les différents flavonoïdes qui sont isolés de plusieurs espèces du genre *Thymelaea* sont rassemblés dans le tableau suivant:

Tableau I.5: Les flavonoïdes isolés du genre *Thymelaea*.

Composés	Espèces	Références
Yuankanine (1)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Ditiliroside (2)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Stenopalustroside A (3)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Tiliroside (4)	<i>T. lythroides</i>	[27]
Genkwanine (5)	<i>T. tartonraira</i>	[28]
Orientine (6)	<i>T. tartonraira</i>	[28]
Isoorientine (7)	<i>T. tartonraira</i>	[28]
Vitexine (8)	<i>T. tartonraira</i>	[28]
vicénine-2 (9)	<i>T. tartonraira</i>	[28]
Kaempférol (10)	<i>T. tartonraira</i>	[28]
5-O-β-D-primeverosyl	<i>T. tartonraira</i>	[28]

genkwain (11)		
Neochamaejasmin B (12)	<i>T. microphylla</i>	[29]
Neochamaejasmin A (13)	<i>T. microphylla</i>	[29]
Daphnodorine B (14)	<i>T. microphylla</i>	[29]
Genkwanol A (15)	<i>T. microphylla</i>	[29]
Stelleranol (16)	<i>T. microphylla</i>	[29]

Les Structures des flavonoïdes isolés du genre *Thymelaea* dans l'Annexe I pp84.

I.4.4.2. Les coumarines

La coumarine est une substance naturelle organique aromatique connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyrane-2-one qui peut être considérée en première approximation, comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-z-cinnamique. Son odeur de foin fraîchement coupé a attiré l'attention des parfumeurs sur elle dès le XIX^e siècle [26]. Quelques structures de coumarines isolées du genre *Thymelaea* sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau I.6: Les coumarines isolées du genre *Thymelaea*.

Composés	Espèces	Références
Giraldoid A (17)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Coumarine (18)	<i>T. microphylla</i>	[30]
Daphnorétine (19)	<i>T. microphylla</i>	[31]
	<i>T. tartonraira</i>	[28]
6-O-methylesculetine (20)	<i>T. microphylla</i>	[32]
7-Hydroxycoumarine (21)	<i>T. microphylla</i>	[32]
Aesculétine (22)	<i>T. microphylla</i>	[32]
7,8-Dihydroxycoumarine (23)	<i>T. microphylla</i>	[32]
Daphnoside (24)	<i>T. microphylla</i>	[32]
daphnetin 8-O-β-D-glucoside (25)	<i>T. microphylla</i>	[32]
Rutarensine (26)	<i>T. lythroïdes</i>	[27]

Les structures des coumarines isolées du genre *Thymelaea* dans l'annexe I pp86.

I.4.4.3. Les lignanes

Les lignanes sont des composés polyphénoliques qui ont des activités anti-oxydantes et anticancéreuses ainsi que de faibles activités estrogéniques et anti-oestrogéniques [33][34].

Le lin est la céréale la plus riche en lignanes [35]. Quelques structures de lignanes isolés d'espèces du genre *Thymelaea* sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau I.7: les Lignanes isolés du genre *Thymelaea*.

Composés	Espèces	Références
Phyllyrine (28)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Syringaresinol-4-O-β-D-	<i>T. microphylla</i>	[22]

glucopyranoside (29)		
lariciresinol-4'' -O-β- D - glucopyranoside (30)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Matairesinol (31)	<i>T. microphylla</i>	[32]
Pinoresinol (32)	<i>T. microphylla</i>	[32]

Les Structures des Lignanes isolés du genre *Thymelaea* dans l'annexe I pp88.

I.4.4.4. Les acides phénoliques

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique [26]. Quelques acides phénoliques isolés du genre *Thymelaea* sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau I.8 : Les acides phénoliques isolés du genre *Thymelaea*.

Composés	Espèces	Références
Acide 3,4-dihydroxybenzoïque (32)	<i>T. microphylla</i>	[22]
Acide oleanolique (33)	<i>T. microphylla</i>	[33]

Les Structures des acides phénoliques isolés du genre *Thymelaea* dans l'annexe I pp88.

I.4.4.5. Les stérols

Les stérols sont un groupe de lipides composés d'une structure chimique particulière appelée noyau stérol. Les stérols sont présents chez les animaux et les végétaux. Ils sont des constituants essentiels des membranes des cellules [26]. Quelques stérols isolés du genre *Thymelaea* sont reportés dans le tableau suivant.

Tableau I.9: Les stérols isolés du genre *Thymelaea*.

Composés	Espèces	Références
β-Sitosterol-3-O-glucoside (34)	<i>T. microphylla</i>	[33]
β-sitosterol (35)	<i>T. microphylla</i>	[33]
Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3β,22E) (36)	<i>T. passerina</i>	[33]

Les structures des stérols isolés du genre *Thymelaea* dans l'annexe I pp88.

I.5. L'espèce *Thymelaea hirsuta*

Thymelaea hirsuta (*La passerine cotonneuse*) est une espèce méditerranéenne, commune dans toute l'Algérie septentrionale, notamment sur le littoral. Elle est utilisée en médecine populaire comme purgatif et comme résolutif. En outre, elle est considérée comme abortive. Cette plante est signalée comme très toxique [34].

I.5.1. Description botanique

Thymelaea hirsuta (L.) Endl. (= *Passerina hirsuta* L.) est une Thymelaeaceae vivace arbustive susceptible d'atteindre 2-3 mètres de hauteur, est une sous-arbrisseau glycophyte, dioïque à souche ligneuse squamiforme d'un brun clair grisâtre, et une racine principale pivotante, avec un port dressé, compact, évasé, très ramifié, rameaux souples, tomenteux et blanchâtres sont retombants à feuilles persistantes, vert acide à vert franc, très petites (2 à 5 mm) densément imbriquées, coriaces ovoïdes aigues, glabres en dessous, pubescentes laineuses en dessus ainsi que les tiges. Fleurs minuscules subsessiles (4 à 5mm) au nombre de 2-5, au sommet des rameaux à calice rapidement caduc, jaunâtre, polygame. La plante porte sur des pieds différents soit des fleurs unisexuées soit des fleurs hermaphrodites. Les fruits sont des baies glabres enchâssés dans le calice, akène à graine dure. Consommées par les animaux (dispersion zoochore). La floraison va d'octobre à avril, c'est une plante entomogame [35].

•**Croissance** : lente.

•**Sol** : sablonneux ou rocailleux, aride et sec.

•**Emplacement** : plein soleil.

•**Zone** : parfaitement adaptée aux vents, au sel et à la sécheresse [24].



Figure I.3: *Thymelaea hirsuta* [36].

I.5.2. La classification systématique de *Thymelaea hirsuta*

Tableau I.10: Classification de Cronquist [37].

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Malvales

Famille	Thymelaeaceae
Genre	<i>Thymelaea</i>
Espèce	<i>Thymelaea hirsuta</i> L.

I.5.3. Nomenclature

- Nom latin : *Thymelaea hirsuta*.
- Nom vernaculaire : *Passerine hérissée, Thymélé hirsuta*.
- Nom anglais : *Hairy Thymelaea*.
- Nom arabe : Mitnan, Matnan el akhdar, Matnan el bahloul [24].

I.5.4. Composition chimique de *Thymelaea hirsuta*

Le tableau ci-dessous présente la composition chimique de *Thymelaea hirsuta*.

Tableau I. 11: Composition chimique de *Thymelaea hirsuta*.

Organes étudiés	Molécules extraites	Références
Feuilles	thyméol ((C ₃ H ₂ O) _n) stigmasterol, β-sitosterol, alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆ Daphnortine, β-sitistirol- β-D- Glucoside Alcanes en C ₂₇ à 31, alcanols en C ₂₂ , 24, 26 et 28, Sitostérol et campe stérol daphnorine, daphnorétine, daphnine, daphnéline, daphnéline-glucoside, ombelliférone, scopolétine et Esculétine (coumarines) 2-vicénine (C-flavone) tiliroside (3- <i>p</i> - coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol) tanins lupéol, β-sitostérol, phytol, β- Amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol	[34] [38] [31] [39] [32] [40] [41] [42] [28]
Feuilles et Brindilles	lupéol, β-sitostérol, phytol, β- Amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol Et 5,12-dihydroxy-6,7-époxy- résiniféronol Protéine et gnidicine,	[43]

	gniditrine, genkwadaphnine, 12- Oheptadécenoyl- 5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol- 9,13,14-orthobenzoate (diterpènes daphnane)	[44]
Racines	Daphnorétine (éther de dicoumaryl)	[45]

I.5.5. Distribution géographique de l'espèce *Thymelaea hirsuta*

Thymelaea hirsuta pousse dans le littoral méditerranéen plains, la péninsule du Sinaï et d'autres déserts saharo-arabes. Régional: Du Maroc à l'Égypte. Global: La Méditerranée: de l'Espagne à la Grèce et la Turquie; côté sud du Maroc à l'Egypte. Proche-Orient: Liban et Palestine [46].



Figure I. 4: Distribution géographique de l'espèce *Thymelaea Hirsuta* dans le monde [46].

I.5.6. Utilisation traditionnelle

Thymelaea hirsuta, plante utilisée en médecine traditionnelle arabe pour traiter : les ascaris, les oxyures, feuilles séchées broyées ont été utilisés pour traiter les infections de la peau et de l'écorce de contribuer à la guérison des plaies, la suppression des dents pourries où bouillir les feuilles dans l'eau et le rinçage de la bouche sont ensuite lui crachait avec des dents pourries, prévenir les avortements chez les chameaux, les chercheurs disent qu'ils ont été en mesure de séparer le matériau de *Thymelaea hirsuta* et le stigmastérol est un stéroïde utilisé pour la fabrication de la progestérone, une hormone utilisée dans le traitement des

fausses couches à répétition chez la femme [39]. Quelques utilisations traditionnelles du *Thymelaea hirsuta* sont représentées dans le tableau I.12.

Tableau I.12 : Quelques utilisations traditionnelles du *Thymelaea hirsuta*.

L'espèces	L'utilisation	Pays	References
<i>Thymelaea hirsuta</i>	la partie aérienne est utilisée comme décoction dans le traitement du diabète	Maroc	[47]
<i>Thymelaea hirsuta</i>	Il est recommandé par les herboristes dans le traitement de maladies humaines (Leishmanicide, vermifuge, eczéma) dans la région de M'Sila	Algérie	[48]

I.5.7. Quelques activités biologiques reconnues de l'espèce

Le tableau I.13 représente quelques effets et activités biologiques reconnues du *Thymelaea hirsuta*.

Tableau I.13 : Quelques effets et activités biologiques reconnues du *Thymelaea hirsuta*.

Espèces	Effet et Activité biologique	Références
<i>Thymelaea hirsuta</i>	activité anti-inflammatoire et une inhibition de l'induction de l'arthrite adjuvante	[49]
	activités antioxydantes	[50]
	Effet antidiabétiques et Antihypertenseurs	[51]
	Activités antioxydantes et antimicrobiennes	[52]
	Activités antioxydantes et Antitumorales	[53]
	Effet anti mélanogénèse	[54]

Activité anti Hyperglycémique	[55]
Inhibition de l'activité enzymatique du produit oncogène comme approche pour la chimio prévention du cancer	[45]

I.5.8. Les métabolites secondaires isolés de l'espèce *Thymelaea hirsuta*

Des travaux effectués sur l'espèce *Thymelaea hirsuta* permis d'isolés des composés polyphénoliques et plus précisément des flavonoïdes et acides phénoliques. On retrouve également quelques composés de la famille des stérols, des lignanes et des coumarines.

I.5.8.1. Flavonoïdes

Une étude phytochimiques menée sur les parties aériennes de l'espèce *T. hirsuta* a permis d'isoler et d'identifier les flavonoïdes suivantes : des mono- et bi-flavonoïdes comme genkwanin, genkwanine 5-O- β -D-glucopyranoside, genkwanine 5-O- β -D-primeveroside , trans-tiliroside et néochamaejasmine B de *T. hirsuta* [56].

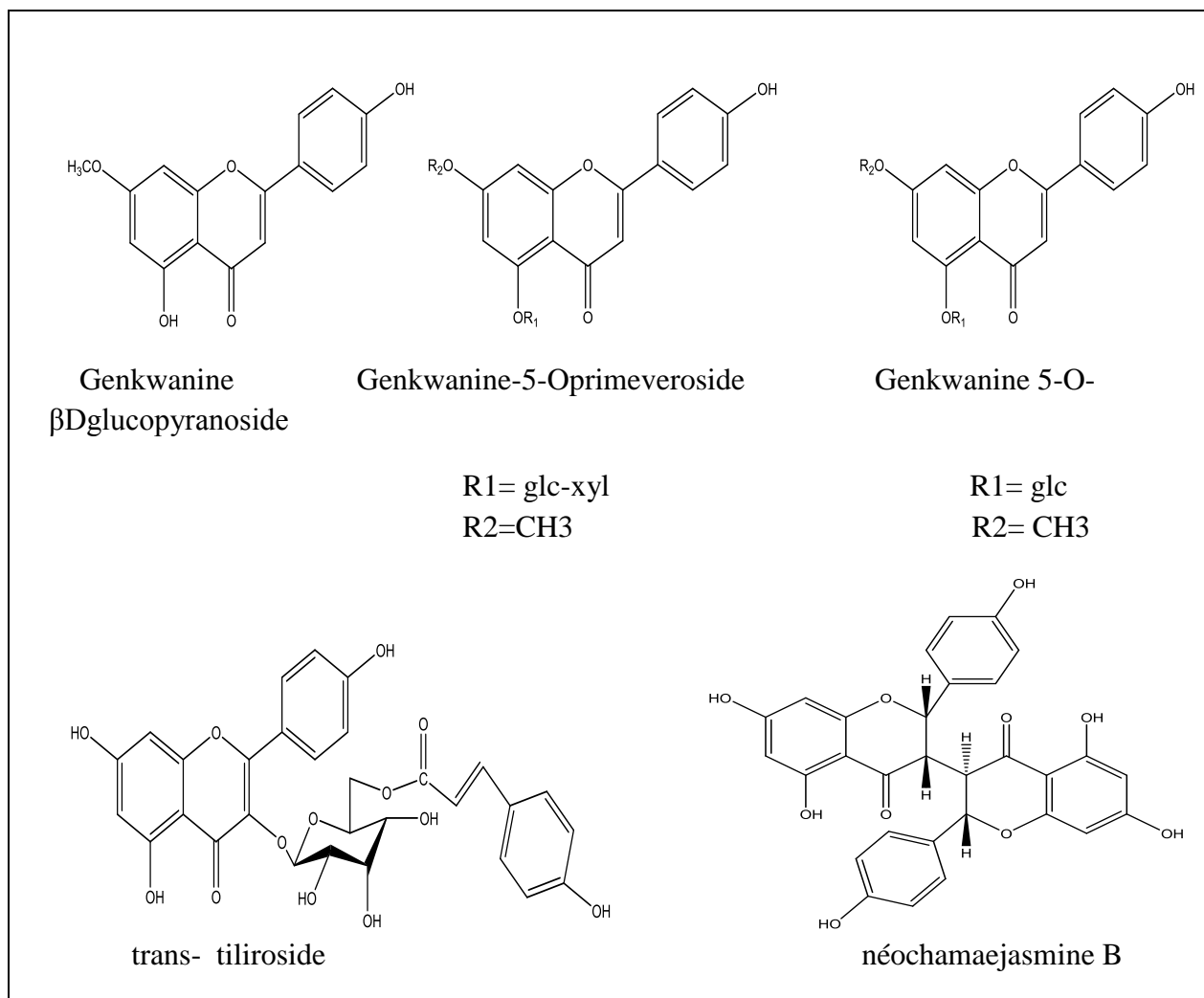


Figure I.5 : Structures des Flavonoïdes isolés de l'espèce *T. hirsuta*.

I.5.8.2. Composés terpénoïdes

Des travaux réalisés sur l'extrait de parties aériennes de *T. hirsuta* ont permis d'isoler deux nouveaux diterpénoïdes de daphnane, hirsein A (1) et hirsein B (2) [57].

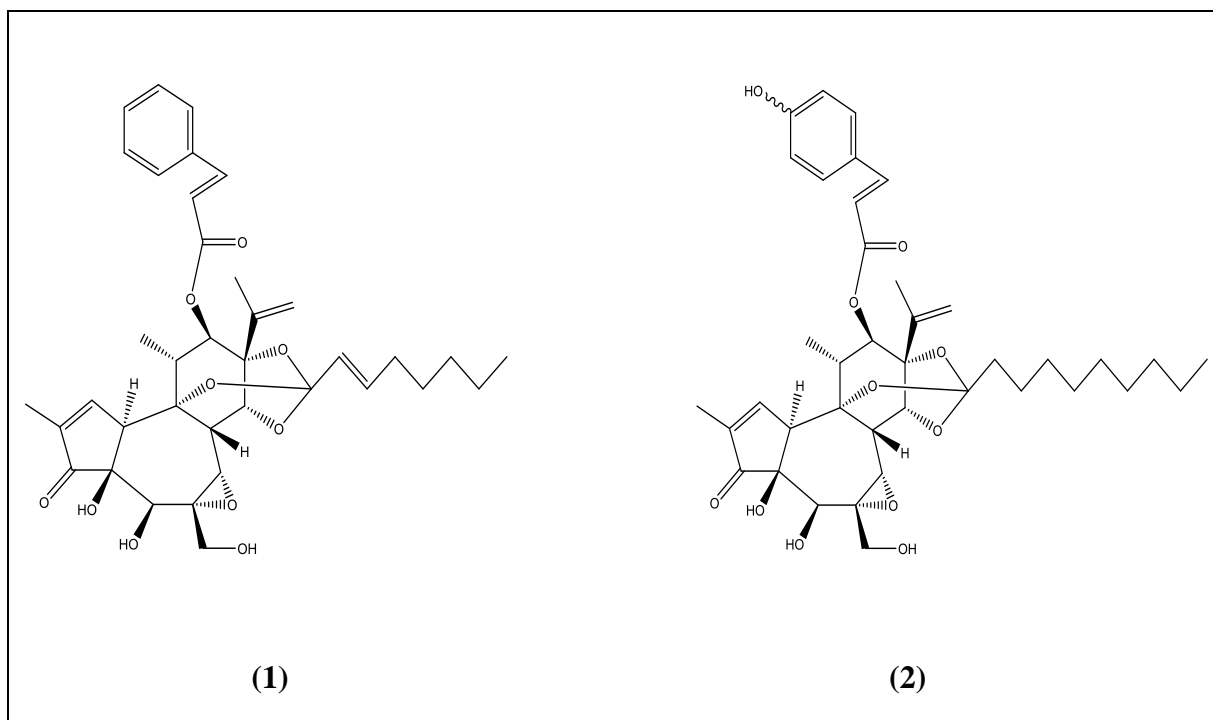


Figure I.6 : Structures des terpénoïdes isolés de l'espèce *T- hirsuta*.

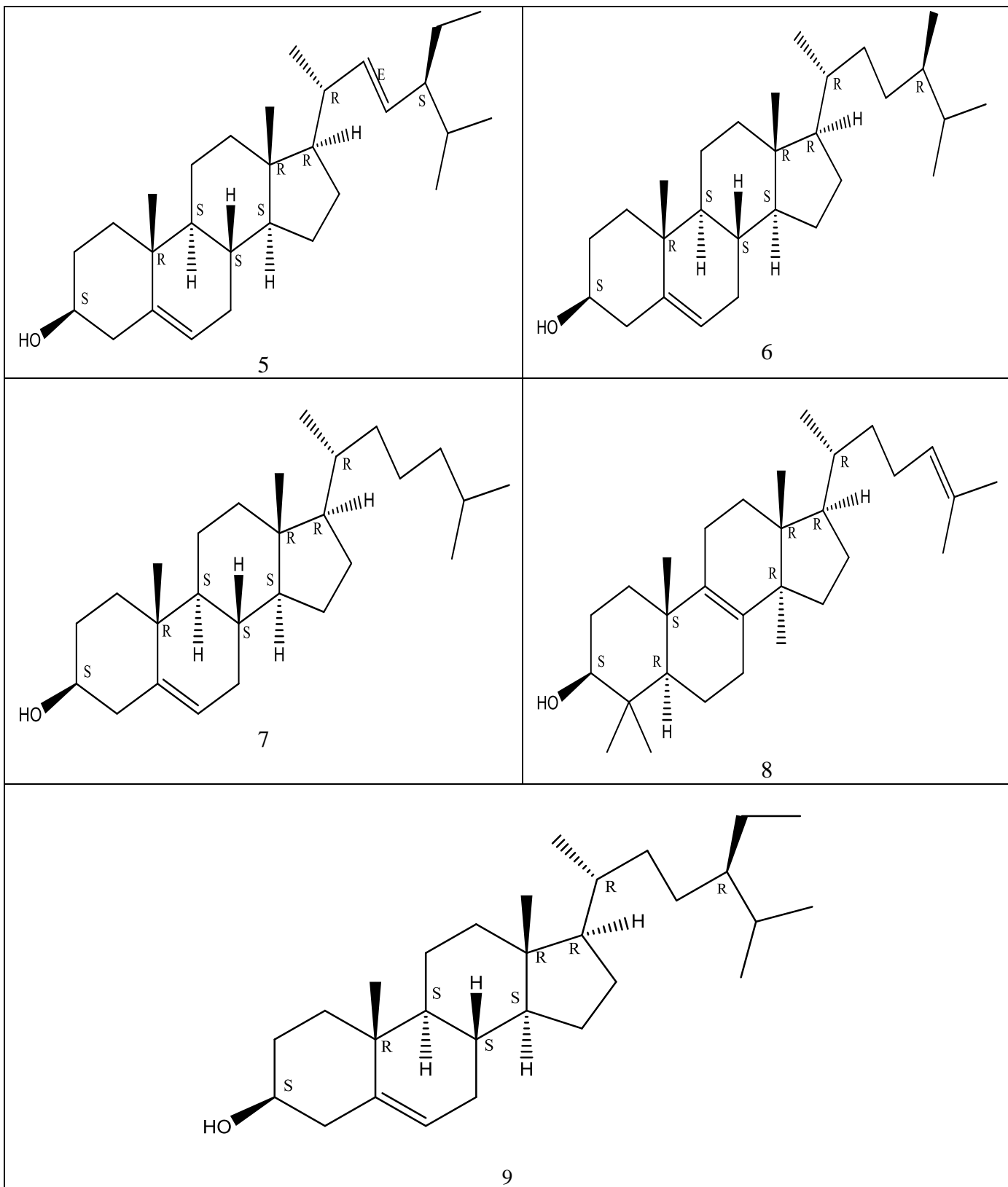
I.5.8.3. Les stérols

D'autres études effectuées sur les feuilles et les fleurs de cette espèce ont permis d'obtenir sept composés stéroïdes à savoir : β -Sitosterol-3-O-glucoside (3)[31], β -sitosterol (4) [38], Stigmasta-5,22-dien-3-ol,(3 β ,22E) (5)[38], Campesterol (6)[39], Cholesterol (7) [37], Lanosterol (8) [37], Nimbosterol (9) [37].

Les composés répertoriés sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau I.14 : Structures des stérols isolés de l'espèce *T- hirsuta*.

structure	structure
<p>3</p>	<p>4</p>



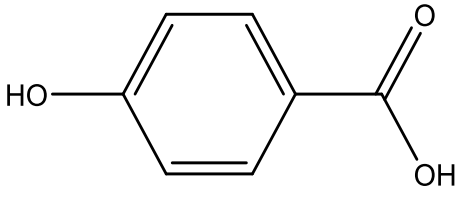
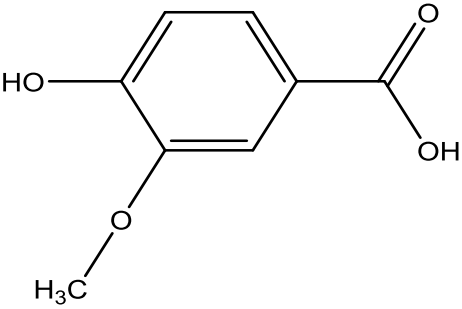
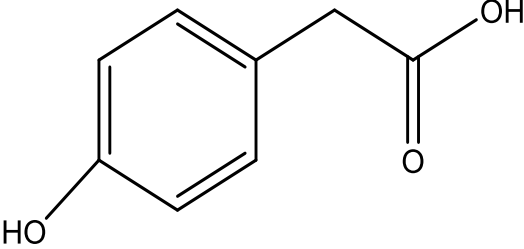
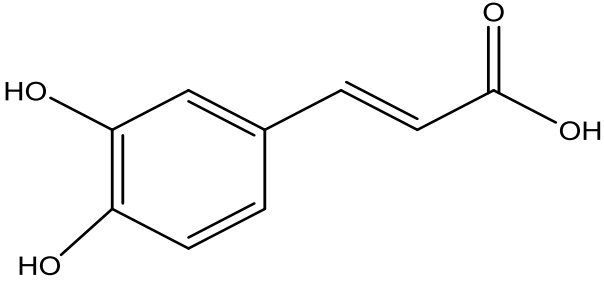
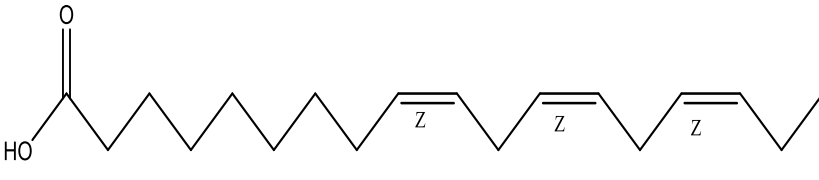
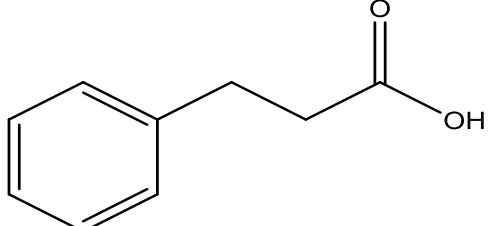
I.5.8.4. Acide phénolique

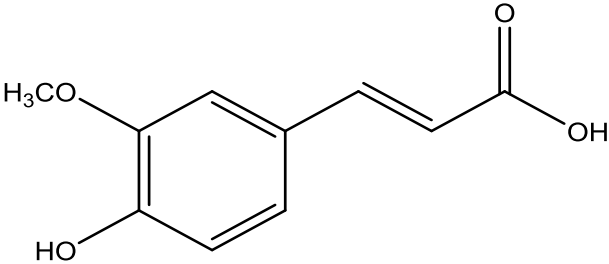
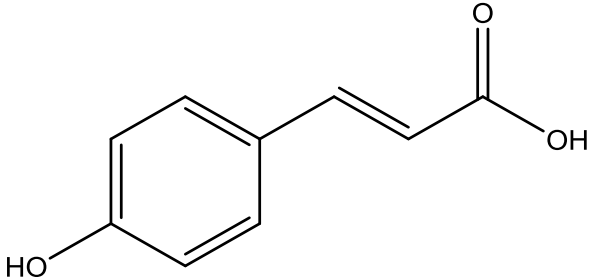
Des études réalisées sur les parties aériennes de l'espèce *Thymelaea hirsuta*. Ont permis d'isoler et d'identifier de nombreux composés d'acides phénoliques [52].

Les composés isolés sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau I.15 : Les acides phénoliques isolés de l'espèce *T- hirsuta* [52].

Composé	Structure
Acide octadécanoïque	
Acide 9,12-octadécadiénoïque (9Z, 12Z)	
Acide benzoïque	
Acide o-hydroxybenzoïque	
Acide m-hydroxybenzoïque	

<p>Acide p-hydroxybenzoïque</p>	
<p>Acide vanillique</p>	
<p>Acides p-hydroxyphenylacétique</p>	
<p>L'acide caféique</p>	
<p>L'acide alpha-linoléique</p>	
<p>Acide hydrocinnamique</p>	

Acide férulique	
Acide p-coumarique	

I.5.8.5. Coumarines

Les travaux antérieurs effectués sur cette espèce ont permis d'isoler les coumarines : le daphnorétine (23) et le triumbelletin (24) [57].

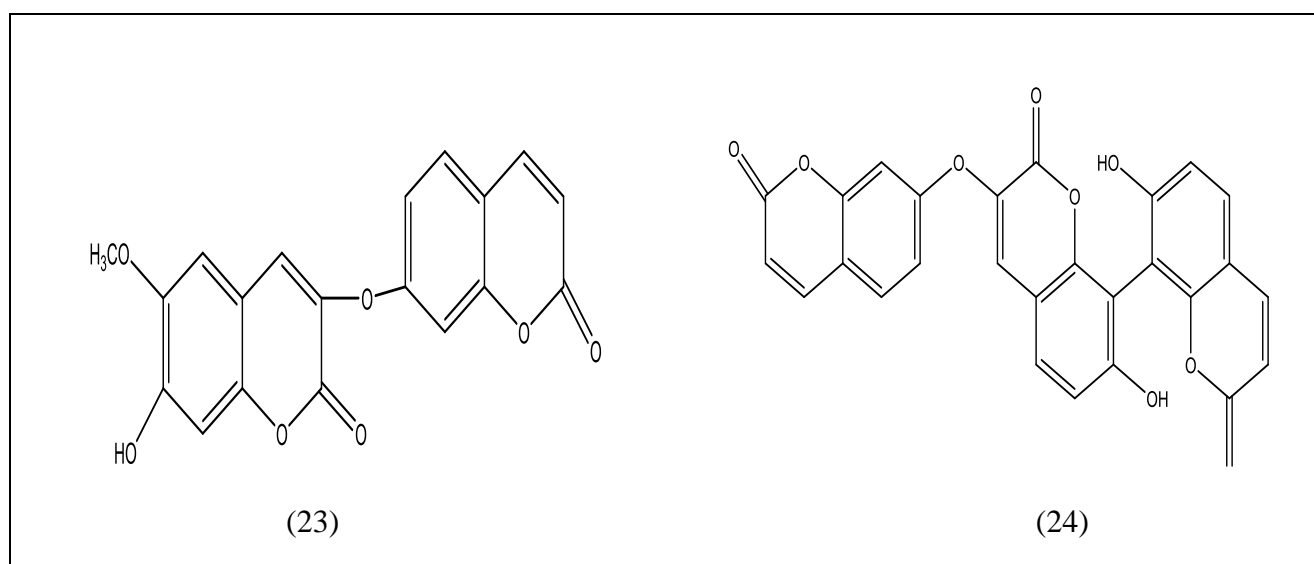


Figure I.7 : Structures de coumarines isolées de l'espèce *T- hirsuta*.

I.5.8.6. lignans

Une investigation de celle poussant en Egypte a permis la description de deux ligans : le pinorésinol (25) et le syringaresinol (26) [57].

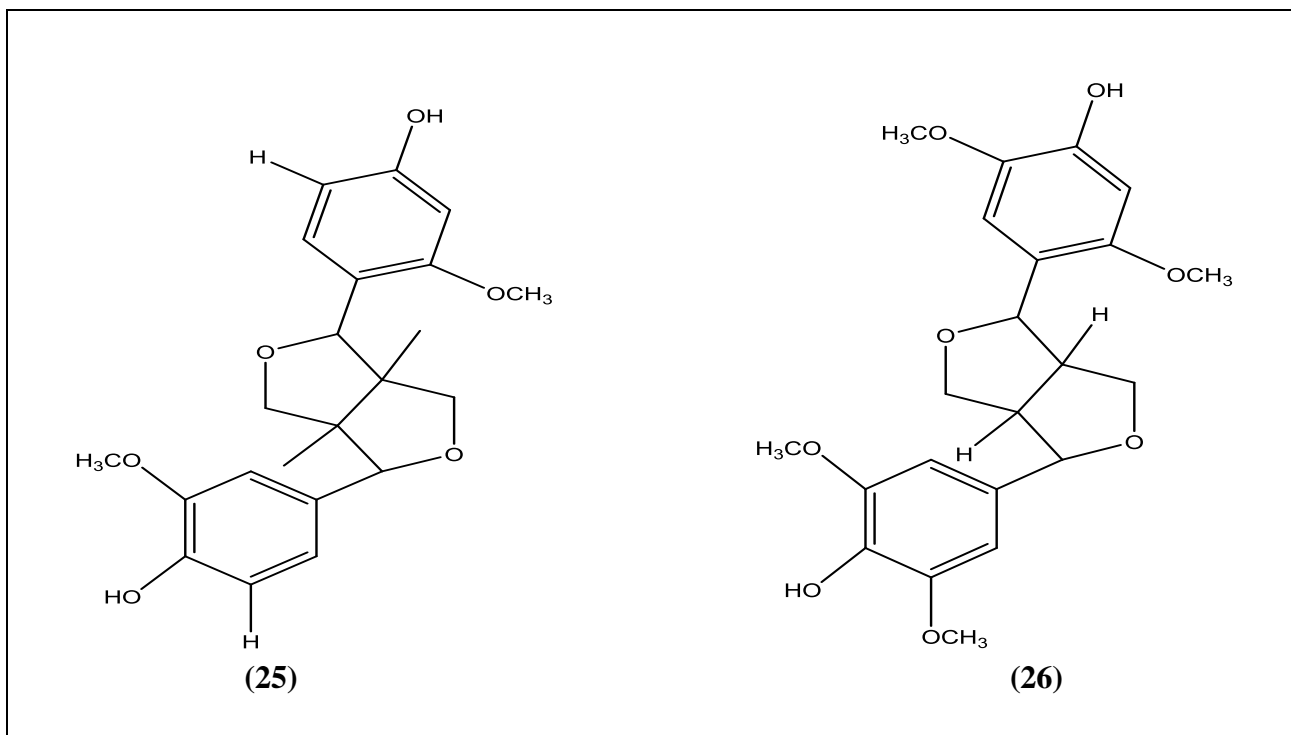


Figure I.8 : Structures des lignans isolés de l'espèce *T. hirsuta*.

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

II. Partie 1: les Composés phénoliques

II. 1. 1. Généralité

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. [58]. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols [59].

A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés [60]. Ils présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) [61] [62]. Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 Da [63].

Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation. Les polyphénols sont aussi connus pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et pour ces propriétés antifongique et antibactérienne [64]. Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur [65].

En effet les polyphénols ont des propriétés bénéfiques pour la santé comme neurodégénératives [66] et certains d'entre eux sont utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [67].

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés)[58].

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés [68].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

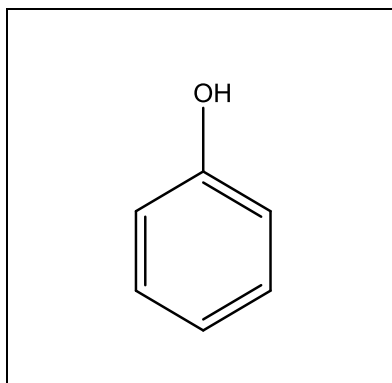


Figure II.9 : Structure du noyau phénol [63].

II.1.2. Distribution

En phytochimie les polyphénols sont les dérivés des acides benzoïques et cinnamiques [69]. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits (racines, tiges, bois et dans les cellules épidermiques des feuilles) [70]. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% [71].

- À l'échelle cellulaire, ils s'accumulent principalement dans deux sites : la paroi cellulaire et la vacuole.
- À l'échelle tissulaire, une répartition très inégale des différents composés phénoliques. Ainsi les anthocyanes et les flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes : épidermes des fruits et des feuilles [63].

II. 1.3. Biosynthèse

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzymeA. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière [72] [73].

II.1. 3.1. Voie de l'acide shikimique : (Fig II.10)

Cette voie débute par la condensation du phospho-énol-pyruvate qui provient de la glycolyse avec l'erythrose-4-phosphate, qui est produit par la voie des pentoses phosphates au cours d'une succession des réactions, le glucide qui en résulte à 7 atomes de carbones, subit une cyclisation puis une réduction qui forme du shikimate d'où la dénomination de la voie [74].

Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines [75].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

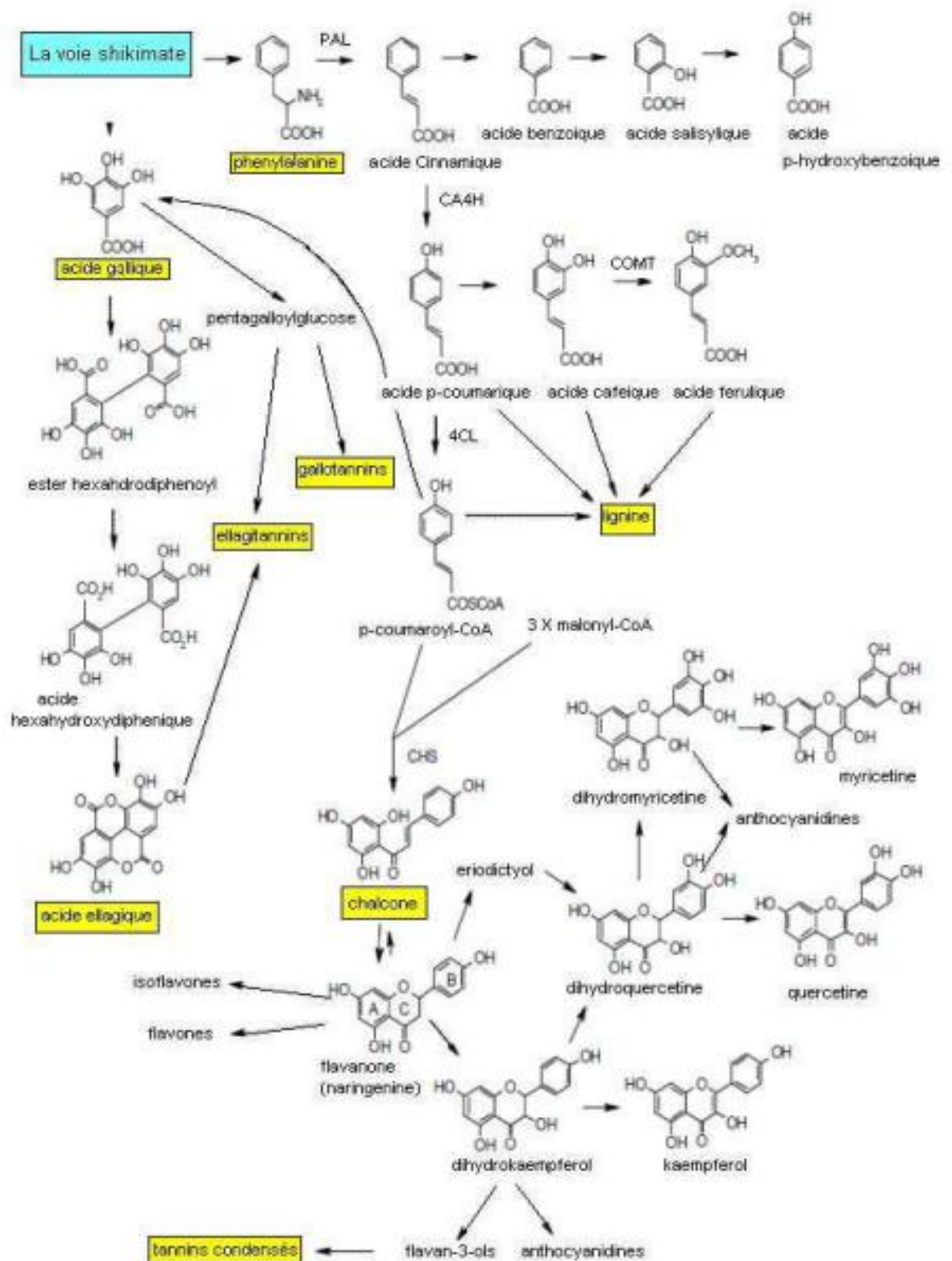


Figure II.10 : Biosynthèse des composés phénoliques par la voie shikimate [24]

II. 1.3.2. Voie de l'acétate / malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques,

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase [76].

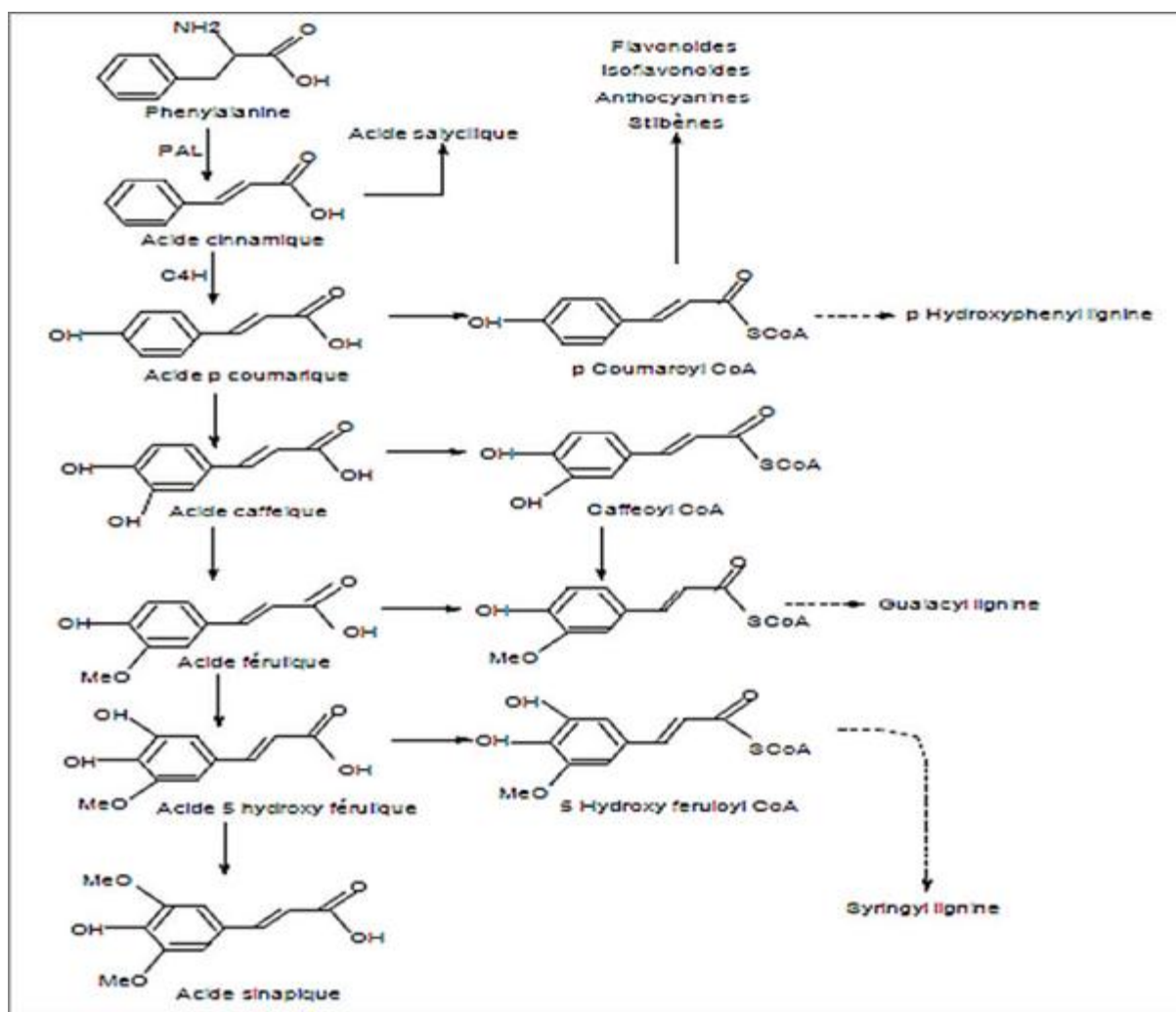


Figure II.11 : Biosynthèse des composés phénoliques par la voie d'acétate [77]

II.1.4. Classification

Les composés phénoliques (ou polyphénols) représentent un groupe de métabolites secondaires complexe comportant plusieurs familles: dérivés des acides benzoïque et cinnamique, flavonols, flavones, isoflavanones, flavanes, flavanones, chalcones, aurones et stilbène. Certains sont des précurseurs de polymères pariétaux, comme la lignine et la subérine. D'autres sont des polymères intracellulaires tels que les tanins condensés et les tanins hydrolysables [78].

Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base [79]. Les principales classes des composés phénoliques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau II.16 : Les principales classes des composés phénoliques [62].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

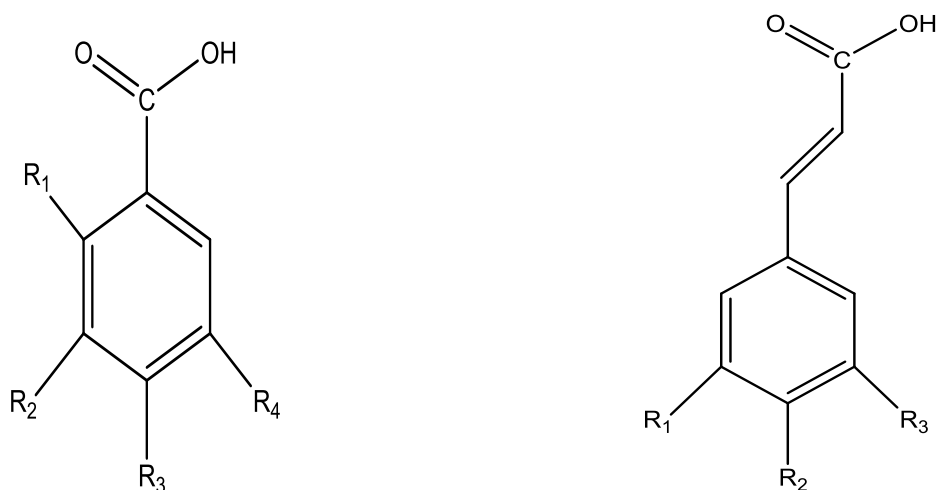
Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simple	Catéchol	Nombreuses espèces
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïque	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, Acide férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Kaempférol, quercétine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Pomme, raisin Citrus Soja, pois
	<ul style="list-style-type: none">• Flavonols• Flavanols• Flavanones Isoflavonoïdes		
(C ₆ -C ₂) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅)	Tannins		Raisin rouge, Kaki

II.1 4.1. Les acides phénoliques : Qui se divisent en :

II.1.4.1.1. Acides hydroxybenzoïques : qui ont une formule de base de type C₆ – C₁, ils sont présent sous forme d'esters ou de glucosides et peuvent être intégrés dans des structures complexes comme les tanins.

II.1.4.1.2. Acides hydroxycinnamiques : qui représentent une classe très importante, dont la structure de base est C₆ – C₃, ils existent sous forme d'ester avec le glucose (acide quinique et acide tartrique) ou sous forme de glucoside [63]. La Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques est représenté dans la figure II.12 :

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction



Acide hydroxybenzoïques

$R_1=R_4=H, R_2=OCH_3, R_3=OH$ Acide vanillique

$R_1=H, R_2=R_3=R_4=OH$ Acide gallique

$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$ Acide salicylique

Acide hydroxycinnamiques

$R_1=R_3=H, R_2=OH$, Acide p-coumarique

$R_1=R_2=OH, R_3=H$ Acide caféique

$R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$ Acide férulique

Figure II.12 : Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques [58].

II.1.4.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde sont des pigments jaunes, désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [80], très répandus chez les végétaux, ils sont responsables en particulier de la coloration des fleurs, des fruits et même des feuilles. Abondants chez les plantes supérieures, ils sont présents dans tous les organes jeunes, feuilles et boutons floraux [81], dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge [82].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

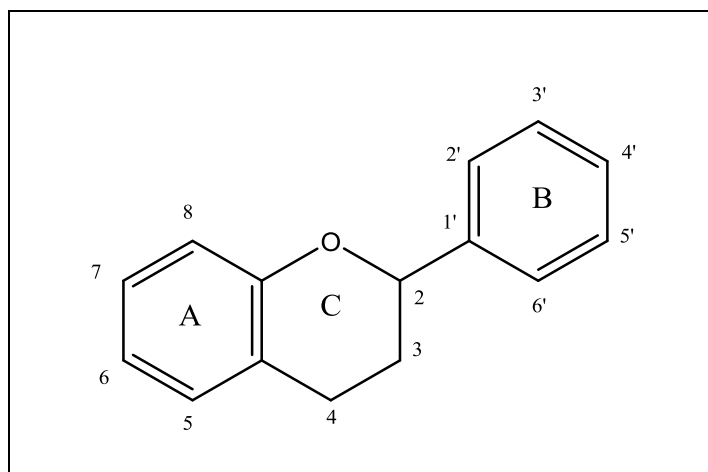


Figure II.13 : Structure de base de flavonoïde [79].

II.1.4.2.1. Classification des flavonoïdes

Comme il est représenté dans le tableau ci-dessous, plusieurs classes de flavonoïdes apparaissent en fonction du degré d'oxydation, de méthylation et de polymérisation du noyau pyranique central ainsi que la nature et la substitution portés sur le cycle C [82][83].

- **Les flavones**

Les flavones sont très rencontrés dans les plantes supérieures, ils se trouvent sous les deux formes aglycones ou glycosylées, caractérisés par la même structure de base de flavonoïdes avec une liaison instaurée en position C2-C3 avec une fonction cétone tels que l'apigénine, Chrysin [84]. ces composés sont caractérisés par leurs activités physiologiques remarquables, spécialement leurs propriétés antimicrobienne et antivirale.

- **Les flavonols**

Les flavonols sont les constituants flavoniques les plus abondants des aliments. Ce sont des flavones qui se caractérisent par la présence d'un groupement hydroxyle (OH) en position 3 de l'hétérocycle central C tels que le kaempférol, la quercétine et la rutine qui sont les composants les plus représentatifs de cette famille. Ces dernières possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres [85].

- **Les flavanones**

Ces constituants se définie par une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'instauration au niveau de l'hétérocycle. L'alimentation représente une source de ces composant comme il est le cas des tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents en grandes quantités dans les agrumes qui se caractérisent par la présence d'un grand pourcentage des flavanones [83].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

- Les flavanes

Ce sont des composés dont l'hétérocycle central C est saturé et qui n'ont pas de fonction cétone. Les flavanes sont répartis dans les écorces des végétaux. Ces composés sont connus sous forme de monomères ou polymères exemple de la catéchine qui existe dans de nombreux fruits comme la pomme, le chocolat et le thé qui sont les principales sources de ce composé[86].

- Iso flavonoïdes

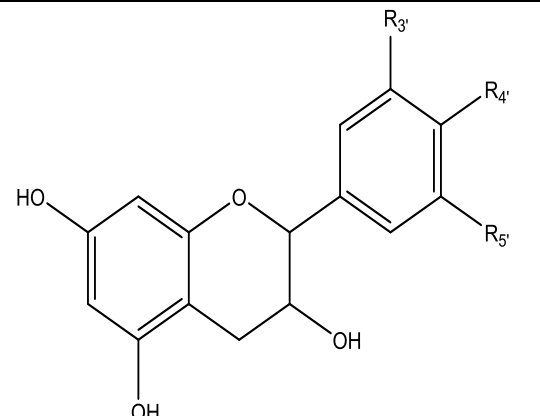
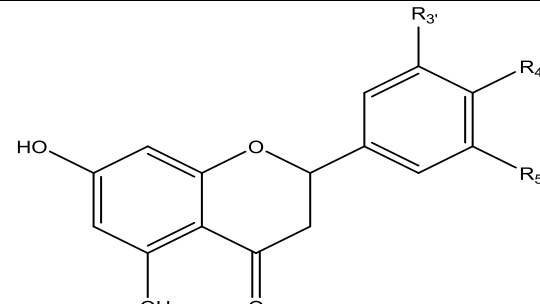
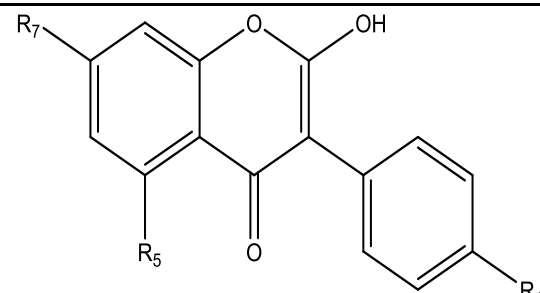
Les isoflavonoïdes se distinguent des flavonoïdes par la position C3 sur l'hétérocycle pyranique central C du noyau aromatique B. Ce sont des composés à 15 atomes de carbones comme les flavonoïdes. Ils dérivent d'une structure 1,2- diphenylpropane [87]

Les isoflavonoïdes se trouvent essentiellement chez les fabacées ou les légumineuses [88], Ces composés sont classés en fonction du degré d'oxydation et de l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires. On trouve aussi, les isoflavones, les isoflavanones, les Isoflavanols, les isoflavanes, les roténoïdes, les ptérocarpanes, les coumaranochromones et les 3-arylcoumarines [89]. Le tableau II.17 représente les principales classes des flavonoïdes

Tableau II.17 : Principales classes des flavonoïdes [90]

Classe	Structure chimique	R' ₃	R' ₄	R' ₅	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Déosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myecétine

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

Flavanols		OH OH H Catéchine												
Flavanones		<table border="1"> <tbody> <tr> <td>H</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>Naringénine</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>Eriodictyol</td> </tr> </tbody> </table>	H	OH	H	Naringénine	OH	OH	H	Eriodictyol				
H	OH	H	Naringénine											
OH	OH	H	Eriodictyol											
Isoflavones		<table border="1"> <thead> <tr> <th>R₅</th> <th>R₇</th> <th>R'₄</th> <th>Exemple</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>Genisteine</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>O-Glu</td> <td>OH</td> <td>Daidezine</td> </tr> </tbody> </table>	R ₅	R ₇	R' ₄	Exemple	OH	OH	OH	Genisteine	H	O-Glu	OH	Daidezine
R ₅	R ₇	R' ₄	Exemple											
OH	OH	OH	Genisteine											
H	O-Glu	OH	Daidezine											

II.1.4.3. Les Tanins

Ils représentent une classe très importante des polyphénols localisés dans pratiquement toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles..). Ils sont caractérisés par leur aptitude à se combiner aux protéines, aux glucides et aux enzymes, formant ainsi des complexes insolubles. Deux groupes de tanins différents, aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique, sont distingués [91].

II.1.4.3.1. Les tanins hydrolysables

Ils sont composés de sucre et d'acide phénol. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique, libérant ainsi une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (tanins galliques), soit de l'acide éllagique et une partie non phénolique, qui est souvent du glucose ou de l'acide quinique [63].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

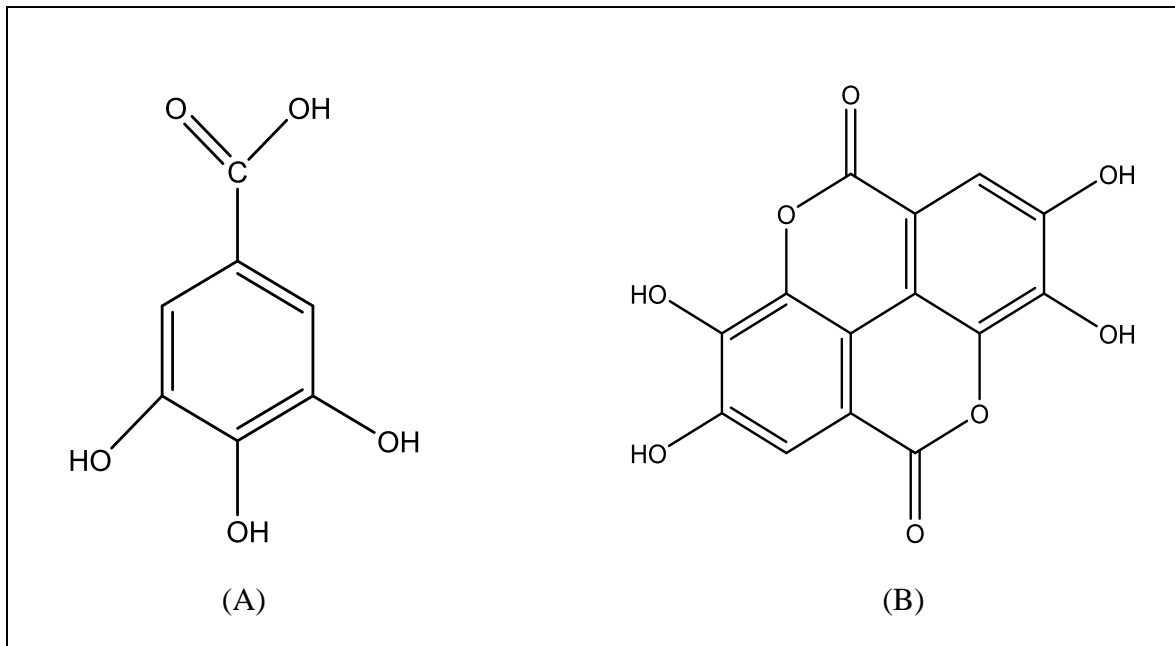


Figure II.14 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B) [58]

II.1.4.3.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères de flavane-3-ols (des anthocyanidines) et des flavane-3,4-diols (des leucoanthocyanidines) (**Fig.15**), dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères [92].

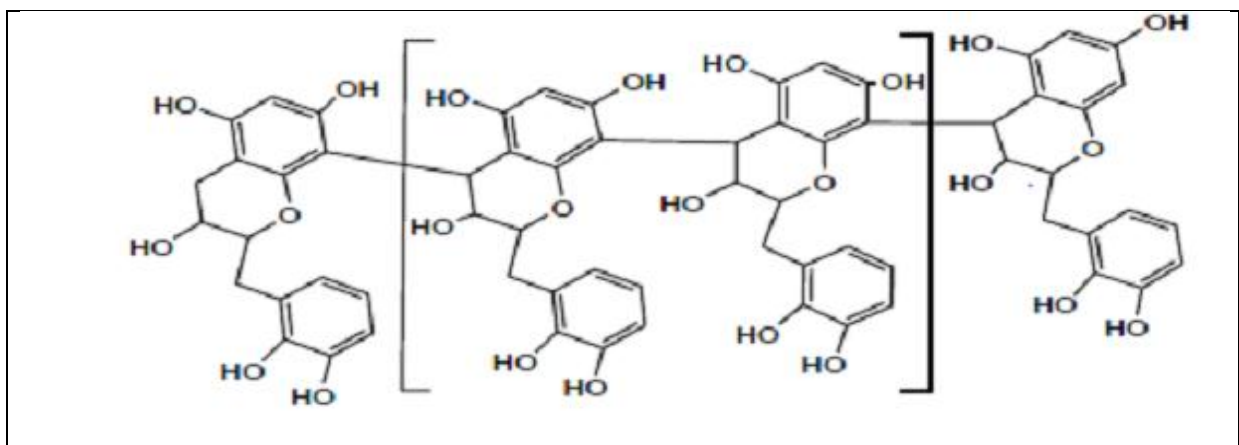


Figure II.15: Structure chimique des tanins condensés [58].

Les tanins condensés, appelés proanthocyanidines ou procyanidines, sont des polyphénols de masse molaire moléculaire élevée [93]. Se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes [77].

Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Les tannins condensés sont

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise ...) ou des boissons fermentées ou non (thé, vin, cidre. On peut également trouver chez certains mutants de maïs des pigments rougeâtres ou phlobaphènes qui sont des formes polymérisées proches des tannins condensés mais qui dérivent dans ce cas de flavane-4-ols [58].

II.1.4.4. Coumarines

Coumarine vient de « coumarou », nom sud-américain de la graine du *Dipterix odorata* ou fève tonca, dont ce composé fut retiré pour la première fois en 1982 [75].

Les coumarines sont des composés phénoliques non volatils, sont très répandues chez les végétaux, notamment dans les racines et les écorces; d'odeurs agréables, certaines servent en parfumerie ou pour aromatiser le tabac; d'autre sont très toxiques telles que les aflatoxines des champignons inférieurs [94].

Leur squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone [95].

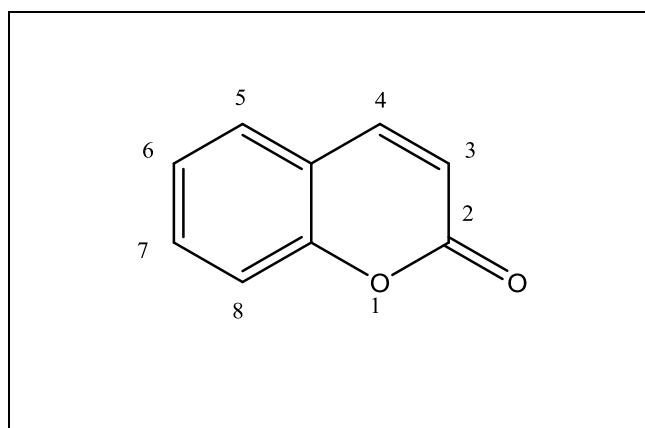


Figure II.16: La structure générale des coumarines [96]

Les coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. Selon la nature des substituant sur leurs structures On peut classer les coumarines en cinq catégories : Coumarines Simples, furanocoumarines, pyranoco, dicoumarines, tricoumarines. La famille Thymeleacées est plus riches en coumarines, et elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines [97] [98][99].

II.1.4.5. Les anthocyanes

Les anthocyanes ou pigments anthocyaniques sont des composés hydrosolubles, de teinte rouge, violette ou bleue, qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles. Ces pigments sont très répandus dans le règne végétal et proche des flavonoïdes sur le plan de l'origine, de la structure et des propriétés pharmacologiques [100].

Leur structure de base est caractérisée par un noyau «flavonoïde » chargé positivement (C6-C3-C6). Ce dernier portera le nom d'anthocyanine ou d'anthocyanidine suivant qu'il soit glycosylé ou non [101]. Elles varient selon le nombre et la position des différents

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

groupements hydroxyles et méthoxyles, la nature, le nombre et la position des sucres et l'acylation éventuelle de ces sucres [102].

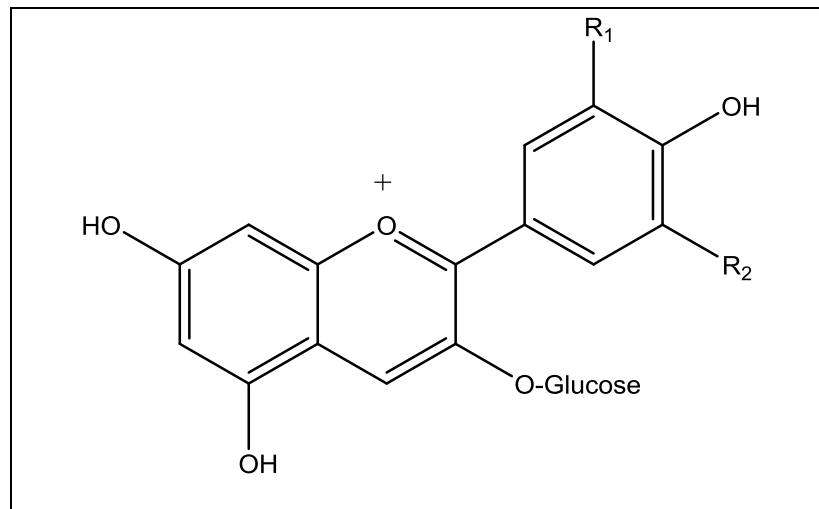


Figure II.17 : Structure des anthocyanosides [103]

II.1.4.6. Lignanes

Les lignanes proviennent de la composition initiale de deux molécules phénoliques de type monolignol comme l'alcool coniférilique. Diverses oxydations, réductions ou alkylations conduisent ensuite aux lignanes présents chez les végétaux [58]. Ils sont très répandus dans les plantes, autant les gymnospermes que les angiospermes, mais plus fréquents dans les pinacées, les podophyllacées, les rutacées et les lauracées, ils sont moins abondants chez les Astéracées [78].

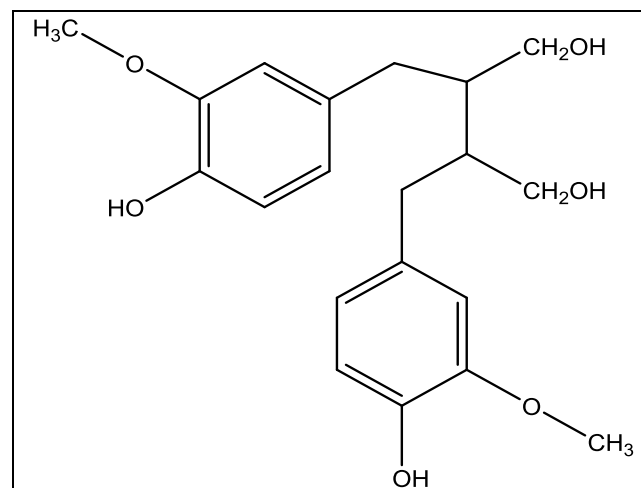


Figure II.18 : Structure de base des lignanes [104].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

II.1.4.7. Les stilbènes

Les stilbènes (C6-C2-C6) caractérisés par une structure ayant un noyau 1,2-diphényléthylène avec des groupements hydroxyles substitués sur les cycles aromatiques et existent sous forme de monomères ou d'oligomères. Ces molécules sont présentes dans notre alimentation en petite quantité. Le plus connu d'entre eux est le trans-resvératrol, possédant un squelette trihydroxystilbène dont leur propriété anticancéreuse a été prouvée par des études scientifiques sur les plantes médicinales [105][106].

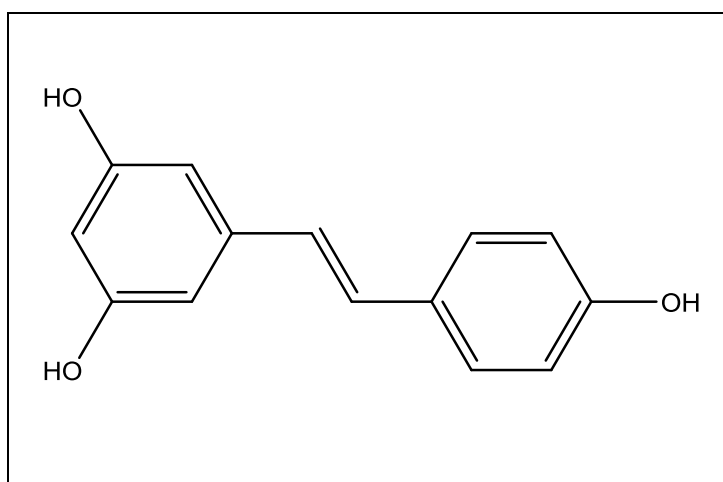


Figure II.19: Structure de base des stilbènes [104].

II.1.4.8. Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa- 3,5-diéniq (ortho-quinones) [75]. Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs [107].

II.1.5. Les propriétés physico-chimiques

Les composés phénoliques sont hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre (500 et 3000) Dalton. Les deux propriétés fondamentales que partagent toutes les classes de polyphénols sont :

II.1.5.1. Les propriétés réductrices : qui sont à la base de la capacité de ces substances à piéger les espèces oxygénées (activité antioxydante) et de leur capacité à s'oxyder [63].

II.1.5.2. Les propriétés complexantes : la complexation métallique des polyphénols est susceptible de limiter l'absorption intestinale des ions métalliques d'importance biologique comme le fer [75].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

II.1.6. Activités biologiques de certains composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités qui sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau II. 18: Activités biologiques de certains composés phénoliques.

Composés phénoliques	Activités biologiques	Références
Acides phénols	antipyrétiques et anti-inflammatoires. antioxydantes et anti radicalaires. antivirales, antibactériennes, antifongiques. anticancéreux antiproliférative, anti tumorales,	[107] [108] [109]
Coumarines	anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique	[110] [111] [112] [113] [114] [115] [116]
Flavonoïdes	antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire, antioxydant	[59] [117] [118] [119]
quinones	activités antidépressives (hypericin), anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques.	[75]
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	[120]
Tanins	anti-nutriments, vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques, antioxydant,	[121] [61] [122] [123]

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

	stopper les hémorragies et de lutter contre les infections	[124] [77]
	Antioxydantes, propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques, antimicrobien	
Lignanes	Antiviral, anticancéreux, antimicrobien et antioxydant	[125]
Stilbènes	Antiviral, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoire.	[62] [126]

II.1.7. Activités antioxydant des composés phénoliques et des flavonoïdes

Ces dernières décennies, plusieurs travaux scientifiques sur les polyphénols ont été publiés pour informer et sensibiliser les consommateurs et les pouvoirs publics sur l'intérêt des fruits et des légumes riches en polyphénols ; source naturel d'antioxydants. Ces molécules sont reconnues par leurs considérables potentiels antioxydants qui sont en relation direct avec la santé humaine [127].

Les polyphénols ont la capacité de piéger les radicaux libres, générés en permanence par notre organisme ou formés en réaction à des agressions de notre environnement (tabac, polluants, infections ...). Quand ils sont ingérés avec les aliments, ils renforcent nos défenses naturelles en protégeant nos cellules et nos tissus contre le stress oxydant [128].

Les flavonoïdes, peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [129] ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres [131]. Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols [123]. Les autres composés phénoliques qui possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique [132].

II.1.8. Rôles des polyphénols dans les plantes

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits qui couvrent une large gamme de couleur allant du rouge au violet en passant par le jaune. Leur couleur dépend de leur structure, mais aussi de l'acidité du milieu [9] , On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries [133]. De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogénèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes [134].

II. Partie 2 : Les méthodes d'extraction des composés phénoliques et leur effets sur le rendement

L'extraction des polyphénols de plantes médicinales est l'une des principales étapes de nombreuses études biologiques et thérapeutiques. La présence de ces composants souvent en quantité extrêmement faible dans la plante impose des séparations, généralement, délicates. La décoction, l'infusion et la macération sont les méthodes de séparation les plus utilisées pour l'extraction globale des composés phénoliques.

II.2.1. Les différentes méthodes d'extraction

II.2.1.1. Macération

L'extraction par macération est utilisée depuis longtemps pour extraire les polyphénols à partir des écorces d'arbre, ou à partir des fruits. Les solvants utilisés sont l'eau, l'acétone 70% ou le méthanol 80%. Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective [135].

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint [136].

II.2.1.2. Infusion

L'extraction par infusion consiste à utiliser l'eau chaude pour extraire les polyphénols dans les plantes pour leurs propriétés anti-oxydantes ou anti-inflammatoires [137]. Cette méthode est simple, n'utilise pas de solvant, limite le développement bactérien mais elle permet d'extraire une quantité importante de sucres et nécessite un temps d'extraction long (3h) [136].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

II.2.1.3. Décoction

Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de la plante, comme les racines, et aux écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion. La réglisse, les racines de ginseng, sont fréquemment utilisées en décoction. Cette méthode consiste à extraire les propriétés des plantes en les laissant « infuser » dans de l'eau portée ensuite à ébullition. Comptez une cuillerée à soupe de plantes par tasse. Il faut déposer les plantes dans une casserole, Portez ensuite à ébullition, et laissez le tout mijoter sur le feu pendant une vingtaine de minutes jusqu'à ce que le liquide ait réduit d'un tiers. Retirez du feu, puis laissez infuser (et refroidir) pendant une heure, avant de filtrer. Vous pouvez conserver une décoction pendant trois jours au réfrigérateur [138].

II.2.2. L'effet des méthodes d'extraction sur le rendement des polyphénols et des flavonoïdes

L'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés d'intérêt. Elle est influencée par plusieurs facteurs notamment la méthode utilisée et la présence de substances interférentes. Il s'agit de comparer les trois méthodes d'extraction à savoir la décoction, l'infusion, et la macération par l'évaluation des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux [139].

Afin d'évaluer la meilleure technique d'extraction de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés d'artichaut, **Mahmoudi et ses collaborateurs** ont utilisés deux méthodes d'extraction à savoir la décoction et la macération par quatre solvants (eau, méthanol, éthanol et acétone [140]. Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la décoction soit une moyenne de 17,34 % versus 15,64 % pour la macération (**Figure II. 20 et II.21**).

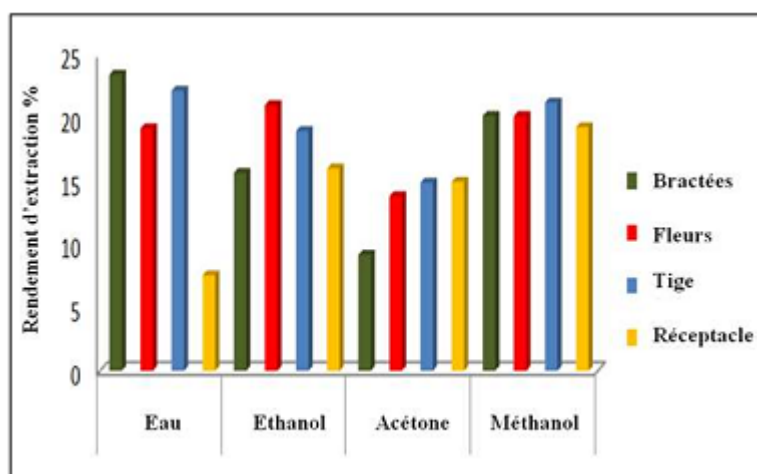


Figure II.20 : Rendements d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par décoction [140].

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

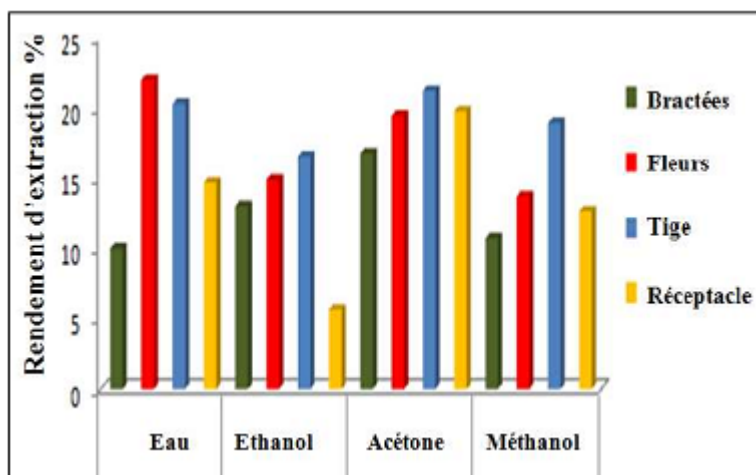


Figure II.21 : Rendements d'extraction de différentes parties de la fleur d'artichaut par macération [140].

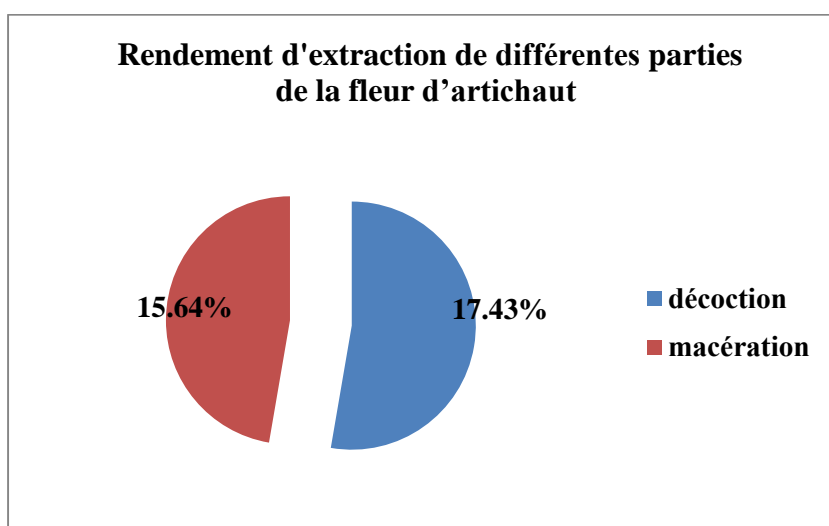


Figure II.22 : Secteur représentatif de rendement d'extraction de la fleur d'artichaut extrait par décoction et par macération.

- Concernant le dosage des polyphénols totaux, ils ont utilisé la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) [141]. Ils ont trouvé que la macération semble être la meilleure méthode d'extraction des polyphénols totaux soit en moyenne 19,88 contre 17,53 mg éq AG/g PS pour la décoction.

Tableau II.19 : Teneur en polyphénols totaux dans différentes parties de la fleur d'artichaut extraits par décoction et par macération (mg éq AG/g PS) [140].

Parties de la plante	Teneur en PT (mg éq AG/g PS)	
	Par décoction	Par macération
Moyenne générale	17,53 ± 10,38	19,88 ± 14,56

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

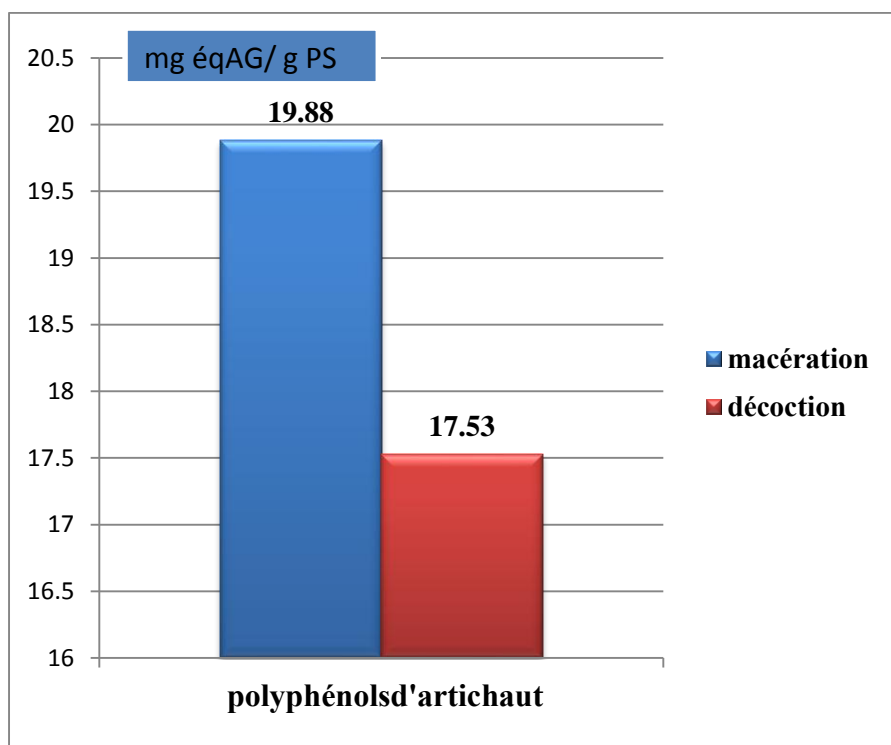


Figure II.23 : Histogramme représentatifs des teneurs en polyphénols totaux de la fleur d'artichaut extrait par décoction et par macération.

Ils ont trouvé aussi que les extraits éthanoliques enregistrent les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées (21,9 mg éq AG/g PS) suivis par les extraits acétoniques et méthanoliques qui donnent des teneurs proches estimées respectivement à 20,64 et 19,17 mg éq AG/g PS. Les travaux conduits par [142] [143] et par [144] confirment leurs résultats, ils ont indiqué que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols [145] par modulation de la polarité du solvant organique [146].

Pour déterminer les flavonoïdes totaux ils ont utilisé la méthode décrite par Dehpeur et ses collaborateurs [147], ils ont trouvé que la macération est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de 8,25 mg éq Qu/g PS contre 6,6 mg éq Qu/g PS en moyenne pour la décoction.

Tableau II.20 : Teneur en flavonoïdes dans différentes parties de la fleur d'artichaut extraits par décoction et par macération (mg éq Qu/g PS) [140].

Parties de la plante	Solvants d'extraction	Teneur en flavonoïdes (mg éq Qu/g PS)	
		Par décoction	Par macération
Moyenne générale		6,60 ± 6,09	8,25 ± 8,20

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

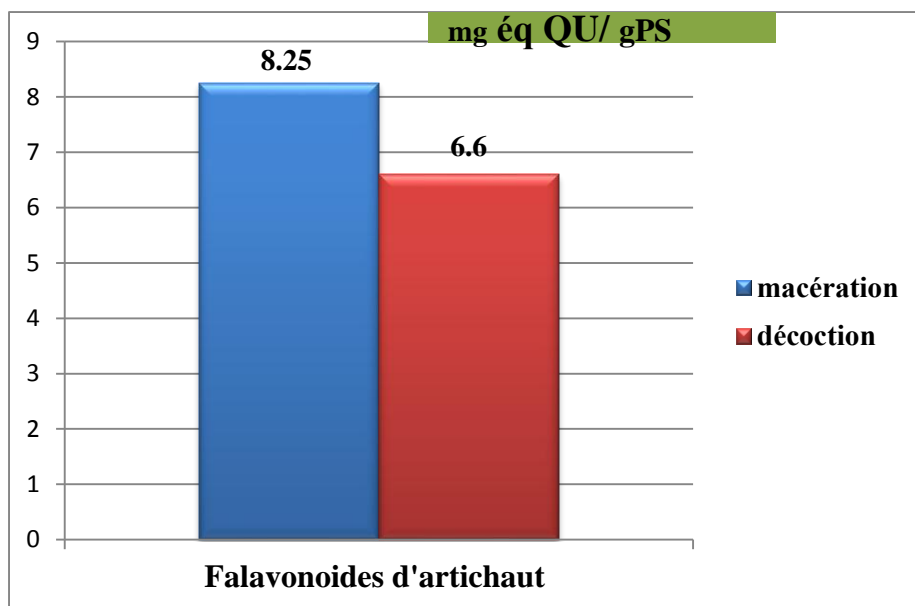


Figure II.24 : Histogramme représentatif des teneurs en flavonoïdes de la fleur d'artichaut extrait par décoction et par macération.

Le solvant d'extraction, quel que soit le mode d'extraction, l'éthanol et l'acétone restent les meilleurs extracteurs des flavonoïdes soient des moyennes très proches de 8,44 et 8,08 mg éq Qu/g PS respectivement [140]. L'éthanol et l'eau sont préférables car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol [148].

- ❖ D'autres équipes de recherche ont testé les trois modes d'extraction à savoir la décoction, l'infusion et la macération pour évaluer la meilleure technique d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* [139].

Ils ont trouvé que la décoction est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées macération et infusion. Ils ont utilisé comme solvant (l'eau). Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la décoction [139].

Le tableau II.21 indique les rendements obtenus pour chaque extrait de plante.

Tableau II. 21 : Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des feuilles de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* à différents modes d'extraction [139]

Plantes	Rendement d'extraction (%)		
	Par décoction	Par infusion	Par macération
<i>Azadirachta indica</i>	16,30	14,30	15,10
<i>Psidium guajava</i>	19,30	15,90	15,50

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

Le rendement d'extraction des flavonoïdes totaux le plus élevé a été obtenu par la décoction chez les deux espèces, suivi par la macération et l'infusion chez *Azadirachta indica*, puis de l'infusion et la macération chez *Psidium guajava* [139].

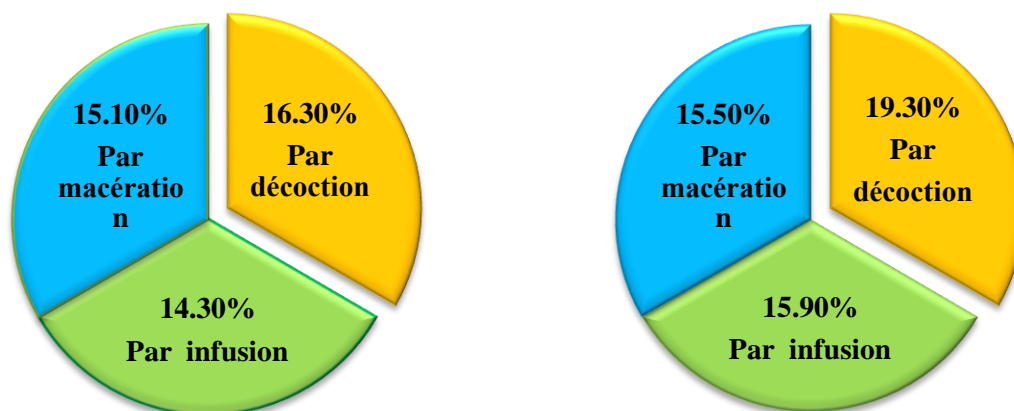


Figure II.25 : Secteur représentatif de rendement d'extraction des extraits obtenue à partir des feuilles de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* à différents modes d'extraction.

- Les résultats de screening phytochimique obtenus par cette équipe de chercheurs indiquent clairement la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits des deux plantes quel que soit le mode d'extraction. Cela est caractérisé par une réponse positive au test de chlorure ferrique (FeCl₃) et au test à la cyanidine respectivement pour les composés phénoliques et les flavonoïdes. Les composés phénoliques se sont confirmés par l'apparition d'une coloration vert-noirâtre et les flavonoïdes par une coloration orange [139].

Tableau II.22 : Mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes [139].

Extraits	Mode d'extraction	Flavonoïdes	Polyphénols
<i>Azadirachta indica</i>	Macération	+	+
	Infusion	+	+
	Décoction	+	+
<i>Psidium guajava</i>	Macération	+	+
	Infusion	+	+
	Décoction	+	+

(+) : Présent ; (-) : Absent

- Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes et les calculs des rendements en flavonoïdes sont indiqués dans le tableau suivant.

Tableau II.23: Teneur en flavonoïdes dans différentes parties des feuilles de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* extraits par décoction et par macération (mg éq/mL) [139].

Plantes	Teneur en flavonoïdes (mg éq / mL)		
	Par décoction	Par infusion	Par macération
Azadirachta	6,73 ± 0,02	6,34 ± 0,02	6,67 ± 0,04

Chapitre II : Les composés phénoliques et les méthodes d'extraction

indica			
Psidium guajava	8,10 ± 0,02	7,62 ± 0,02	7,80 ± 0,01

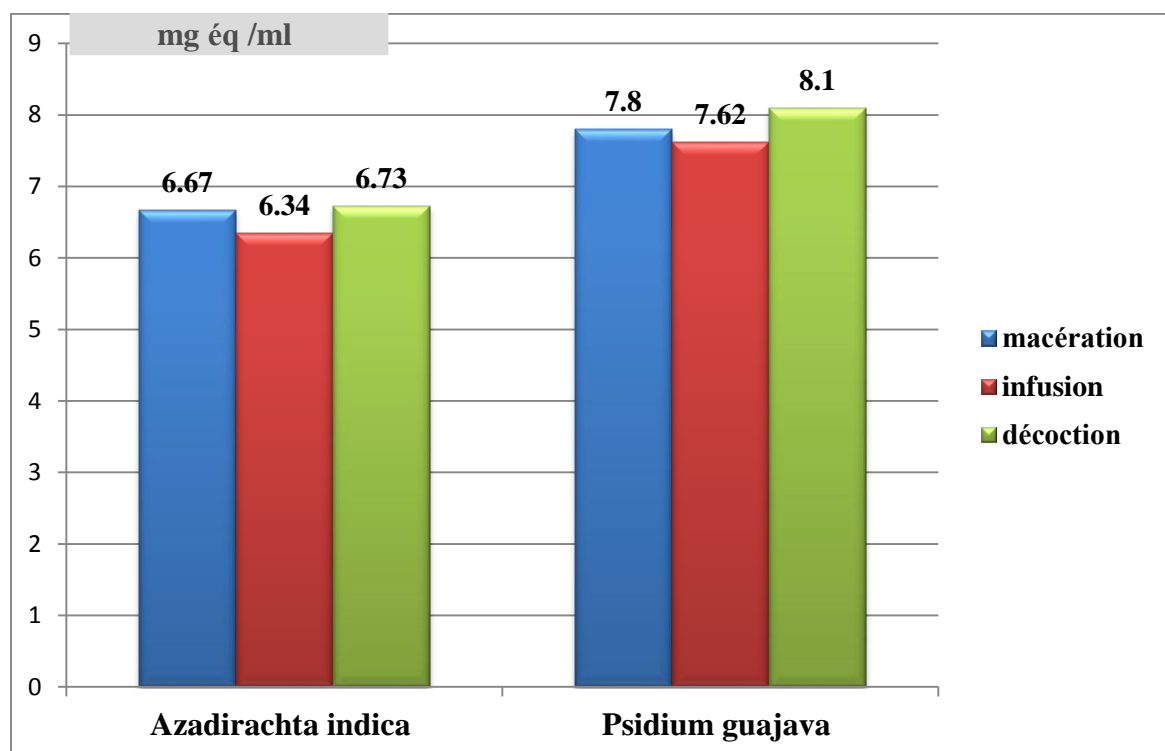


Figure II.26 : Histogramme représentatif des teneurs en flavonoïdes de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*.

Pour *Psidium guajava*, les résultats de la teneur en flavonoïdes totaux du décocté, de l'infusé et du macérat obtenus par les trois modes d'extraction montrent que la décoction est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de 8,10 mg éq/mL contre 7,90 mg éq/mL en moyenne pour l'infusion suivie de la macération avec une moyenne de 7,60 mg éq/mL. [139].

- ❖ Des autres travaux ont été effectués sur ces trois méthodes d'extraction afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (solution chloroformique, méthanolique et infusion) [140]

Les résultats de ces deux dernières études [139,140] montrent que l'extraction par décoction est la meilleure méthode pour extraire les flavonoïdes et les polyphénols.

- ✚ D'après les résultats de toutes ces études nous pouvons conclure que la décoction et la macération sont préférables pour extraire les flavonoïdes et les polyphénols par rapport à l'infusion.

III. Partie 1 : Matériels et Méthodes

III.1.1.Matière végétale

La plante qui a fait l'objet de notre étude a été choisie sur la base d'une recherche bibliographique méticuleuse qui a montré que cette espèce végétale est très peu étudiée.

III.1.1.1. Situation géographique

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été récoltés au mois de mars 2020 dans la région de Ferdjioua, wilaya de mila (**Figure.III. 27**),



Figure III.27: Localisation de la commune Ferdjioua dans la wilaya de Mila.

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Ferdjioua>)

III.1.2. Préparation de l'échantillon végétale

→ **Le séchage :** Les parties aériennes de la plante ont été séchés pendant 20 jours à l'abri de lumière et à température ambiante.



Figure III.28 : séchage des parties aériennes de *Thymelaea hirsuta*.

→ **Le broyage** : Pour augmenter la surface de contact solvant – échantillon, les parties aériennes de *Thymelaea hirsuta* sont broyées dans un broyeur.



Figure III.29 : broyat des parties aériennes de *Thymelaea hirsuta*.

→ **La conservation** : Le broyat de la plante a été conservée dans en plastique opaque jusqu'à leur utilisation. .

III.1.3. Screening phytochimique

Ce sont des réactions de mise en évidence pour identifier la présence des substances chimiques au niveau des parties végétales [150], Ce screening chimique a été réalisé sur l'échantillon de *Thymelaea hirsuta* L.

III.1.3.1. Préparation des extraits

III.1.3.1.1. L'extrait végétal hydro-alcoolique (A)

- Dans un dessiccateur on fait macérer, à température ambiante, pendant 24 h, 10 g de la matière végétal dans 100 ml de mélange méthanol-eau (70/ 30).
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

III.1.3.1.2. L'extrait éthérique

- Introduire 10 g de matière végétal dans un erlenmeyer et ajouter 100 ml d'éther de pétrole, laisser reposer pendant 10 minute.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

III.1.3.1.3. L'extrait chloroformique

- Introduire 10 g de matière végétal dans un erlenmeyer et ajouter 100 ml de chloroforme, laisser reposer pendant 10 minute.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

III.1.3.2. Le screening phytochimique

III.1.3.2.1. Le screening phytochimique des flavonoïdes

➤ **Teste de bate-smith (teste de flavan-3,4-diols)**

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait hydro-alcoolique (A) dont :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{eme} tube additionné 0,5 ml de HCl concentré.
- Porter au bain marie pendant 30 min.

L'apparition d'une coloration **rouge dénoté** la présence de **Leucoanthocyanes** qui sont des dérivés des **flavan -3,4- diols**.

➤ **Teste de Wilstater (teste de flavonols et flavonones)**

On met dans deux tubes 2,5 ml de l'extrait hydro-alcoolique (A) dont :

- Le 1^{ier} tube témoin.
- Dans le 2^{eme} tube additionné 0,5 ml de HCl concentré.

On ajoute tout doucement quelques fragments de magnésium, on laisse agir sous la hotte

L'apparition d'une couleur qui vire vers **le rouge pourpre (flavonols)** ou **le rouge violacées (flavonones ou flavonols)** confirme l'existence des **flavonoïdes**

III.1.3.2.2. Le screening phytochimique des Tannins

On met dans 4 tubes 2 ml de l'extrait hydro-alcoolique (A) dont :

- Le 1^{er} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube additionné 4 à 5 gouttes de gélatine à 1%.
- Le 3^{ème} tube témoin.
- Dans le 4^{ème} tube additionné 4 à 5 gouttes de FeCl₃ (en solution méthanolique).

La couleur vire au **bleu noir** en présence de tannins galliques et **brun verdâtre** en présence de tannins catéchiques avec précipitation dans les testes de gélatine.

III.1.3.2.3. Le screening phytochimique des Coumarines

- ❖ Un fragment de l'extrait (E) est dissout dans 2ml de l'eau chaude.
- ❖ Après refroidissement la solution est partagée dans 2 tubes à essai :

- tube 1 témoin.
- tube 2 + 0,5 ml d'ammoniaque (25% NH₄ OH).

L'apparition d'**une Fluorescence intense** du tube 2 sous lumières UV à 365 nm indique la présence des coumarines

III.1.3.2.4. Le screening phytochimique des Anthraquinones

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait chloroformique (C) dont :

- Le 1^{er} tube témoin.
- Dans le 2^{ème} tube on ajoute KOH 10%.

Après agitation, la présence des Anthraquinones est confirmée par le virage de **la phase aqueuse en rouge.**

III.1.3.2.5. Le screening phytochimique des Saponosides

On prend de 0,5 g de la plante dans 80 ml d'eau distillée pendant quelques minutes.

L'apparition d'une mousse dans le milieu prouve la présence des saponosides.

III.1.4.Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

Les composés phénoliques et flavonoïdes ont été extraits à partir des parties aériennes de cette plante par trois méthodes différentes : Extraction par macération, extraction par infusion et

extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction).

III.1.4.1.Extraction par macération dans l'eau (extraction solide/liquide)

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans l'eau pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Hamia et ses collaborateurs**, avec quelques modifications [151]. Le protocole de la macération de cette plante est le suivant:

Une quantité de 20 g de la poudre de plante a été introduite dans un dessiccateur en verre contenant 175 ml (méthanol/eau) (7:3). L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures à la température ambiante. La solution hydrométhanolique obtenue a été filtrée avec du papier filtre. Les essais ont été réalisés en triple

III.1.4.2. Extraction par Infusion

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par qui **Kim et ses collaborateurs** [84] en y apportant quelques modifications: Une prise d'essai de 20 g de broyat de la plante a été introduite dans un bécher contenant 175 mL d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 minutes jusqu'au refroidissement, le mélange obtenu a été filtré avec du papier filtre. Les essais ont été réalisés en triple.

III.1.4.3. Extraction par Décoction

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Kim et ses collaborateurs** [84] en y apportant quelques modifications: Une prise d'essai de 20 g de broyat de la plante a été introduite dans un bécher contenant 175 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu en ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement, le mélange obtenu a été filtré avec du papier filtre. Les essais ont été réalisés en triple.

III.1.4.4. Evaporation

Les trois solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap qui permet a éliminé le solvant sous vide. Le protocole d'évaporation est le suivant : - Placer la solution dans le ballon d'évaporation ; - Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (Solution 1 (To = 45⁰ C), Solution 2 et 3 ((To = 70⁰ c); - Retirer le ballon du rotavape et attendre qu'il soit froid ; - Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction.

Après l'évaporation des trois solutions (hydro alcoolique, aqueux, et décocté on obtient 3 extraits secs.



Figure III.30 : les extraits de trois méthodes d'extraction.

Le protocole d'extraction est résumé dans le schéma ci-dessous Figure III.31

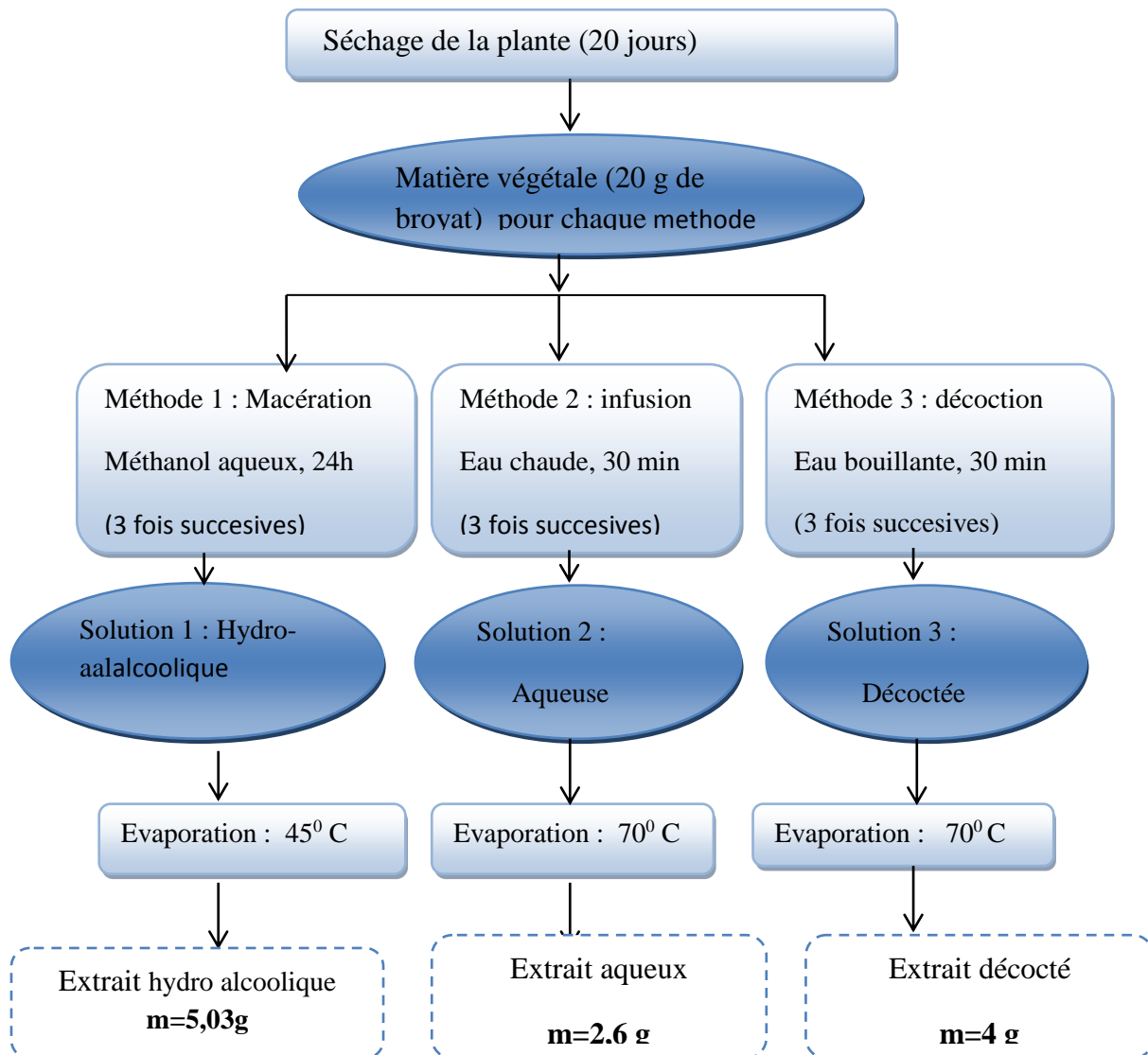


Figure III.31: Organigramme d'extraction

III.1.4.5. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = (\text{PB} / \text{PA}) \times 100$$

PB : poids d'extrait brut.

PA : poids de la plante sèche en poudre.

III.1.5. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une technique très utilisée en chimie notamment dans la séparation et la mise en évidence des constituants d'un mélange.

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les trois extraits obtenus afin de vérifier s'il y a une différence d'efficacité entre les différentes méthodes d'extraction.

III.1.5.1. Les principaux éléments du CCM

Cuve à chromatographie : Un récipient en verre fermé par un couvercle étanche.

Phase mobile (éluant ou système solvant) : **Tableau III.24**

Tableau III.24: Systèmes solvants utilisés pour la CCM

	Systèmes solvants	Proportions V/V
Les systèmes solvants	Chloroforme/ Méthanol	7/3
Essayés	Chloroforme/ Méthanol	6/4

- **Phase stationnaire** : Le plus utilisé est le gel de silice, c'est une couche d'environ 0,25 mm fixée sur une plaque d'aluminium.
- **Echantillons** : Les trois extraits (hydro alcoolique, extrait aqueux, et extrait décocté) ont été dissous dans du méthanol.
- **Révélateurs** : lampe UV 254 nm.

III.1.6. Dosage des polyphénols totaux des extraits

III.1.6.1. Dosage des composés phénoliques totaux (TCP)

➤ Principe

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu [152]. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides: acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont

l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$), réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard (**Figure III.32**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche et en poudre (mg éq AG/g MS).

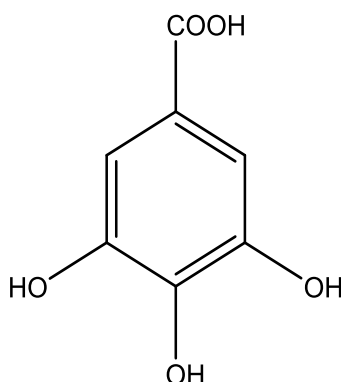


Figure III.32 : Structure de l'acide gallique.

➤ Protocole

Une solution mère d'acide gallique a été préparée avec une concentration de 1 mg/ml (1000 µg/ml) à partir de laquelle on a préparé une série de solutions filles de 1 ml de concentrations (62.5, 125, 250, 500 µg/ml).

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir de ces solutions filles d'acide gallique.

- 100 µl de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à moitié (1N).
- Après agitation puis repos pendant 2 minutes, 2,5 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20% ont été ajoutés.
- Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm sur un spectrophotomètre Thermo électronique (Evolution 300).
- Les extraits à doser ont été préparés de la même manière que la courbe d'étalonnage et dans les mêmes conditions, chaque concentration est répétée trois fois et l'absorbance est lue à 765 nm.

Cette procédure est résumée dans le schéma ci-dessous.

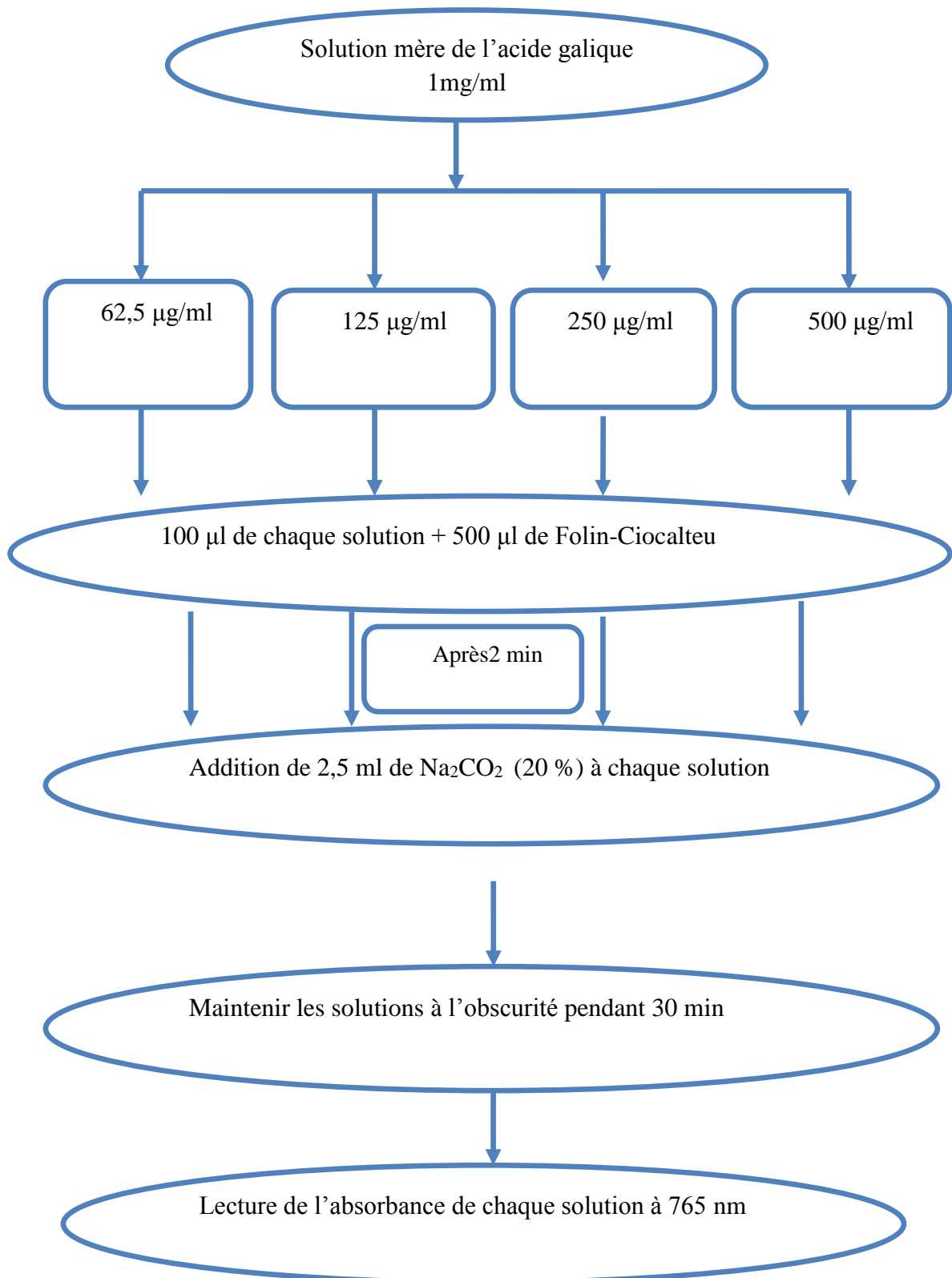


Figure III.33 : Schéma illustratif de la méthode de dosage des polyphénols.

Les absorbances de la courbe d'étalonnage en fonction de leurs concentrations sont reportés sur la **figure III.34**.

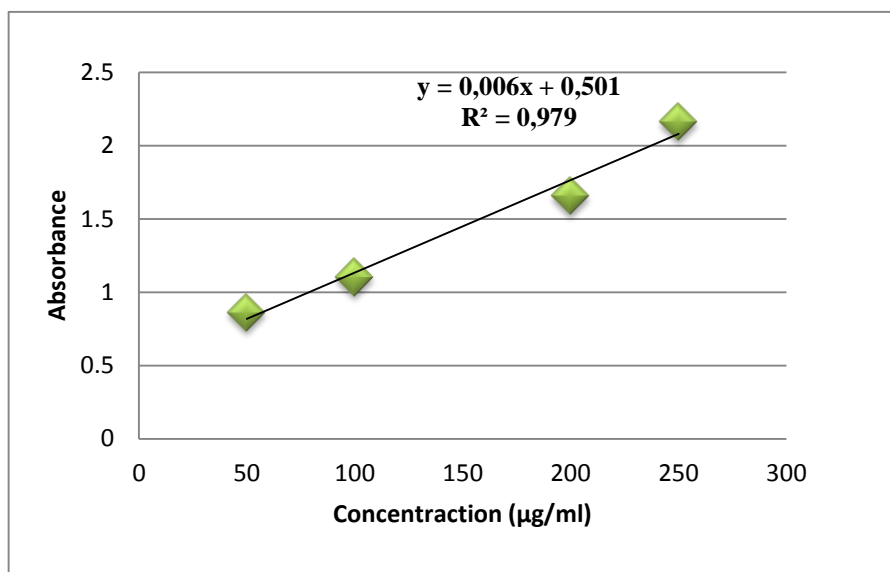



Figure III.34 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique


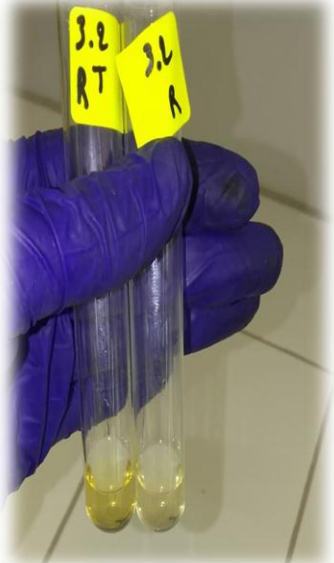

III. Partie 2 : Résultats et discussions


III.2.1. Screening phytochimique

La première partie de notre étude consiste à détecter les différentes familles des composés phénoliques existantes dans les feuilles (la partie aérienne) de la plante (*Thymelaea hirsuta* L.). Les tests appliqués sont basés sur des colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau I

Tableau III. 25: Les différents tests de criblage phytochimique

Les composés	La plante	L'observation	Présence/ Absence
Flavan3, 4diols	<i>Thymelaea Hirsuta</i>		+

<p>Flavonols et flavonones</p>	<p>Thymelaea Hirsuta</p>		<p>-</p>
<p>Tannins Cathéchiqes</p>	<p>Thymelaea Hirsuta</p>		<p>-</p>
<p>Coumarines</p>	<p>Thymelaea Hirsuta</p>		<p>++ l'évènement d'une fluorescence intense sous UV</p>

Saponoides	Thymelaea Hirsuta		++ Mousse
------------	----------------------	---	--------------

+++ : Réaction très positive. ++ : Réaction moyennement positive. + : Réaction faiblement positive. - : Réaction négative.

- Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que la plante étudiée est plus ou moins riche en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique de la plante étudiée. Les composés détectés, après le criblage phytochimique de *Thymelaea Hirsuta* étaient essentiellement des flavonoïdes, des saponosides et des coumarines.

III.2.2. Etude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes

L'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal. Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes [153].

Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction : Extraction par macération (méthanol aqueux, 70 %), extraction par infusion (30 min) et extraction par décoction (eau bouillante, 30 min).

L'étude comparative des ces trois méthodes d'extraction se porte normalement sur :

- Le rendement d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes
- Le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux

- Le criblage phytochimique
- L'activité antioxydante

Malheureusement, l'activité antioxydante et le dosage des flavonoïdes totaux n'ont pas été réalisés à cause de la crise sanitaire de cette année.

III.2.2.1. Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les flavonoïdes et les composés phénolique) à été déterminé par rapport à 20 g de la matière végétale (broyat). Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

A partir de la plante sélectionnée, trois extraits ont été obtenus. Le tableau III.26 indique les rendements obtenus pour chaque extrait.

Tableau III.26 : Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des parties aériennes de *Thymelaea hirsuta* à différents modes d'extraction

Mode d'extraction	Plante <i>Thymelaea hirsuta</i>		
	Par macération	Par infusion	Par décoction
Poids d'extrait sec (g)	5,03	2,62	4
Rendement d'extraction (%)	25,15	13,1	20

La figure suivante représente le rendement d'extraction de *Thymelaea hirsuta* par différentes méthodes d'extraction

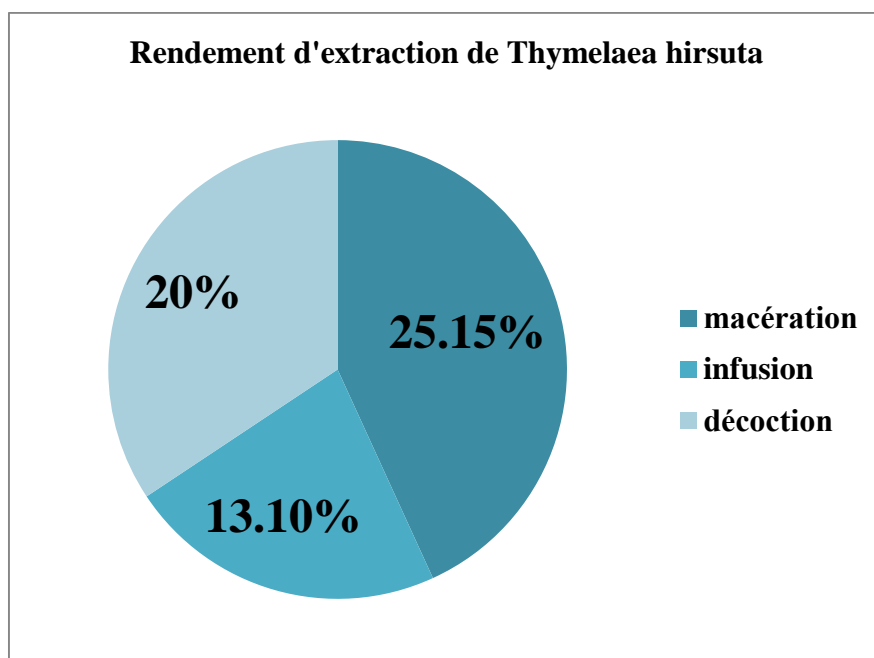


Figure III.35 : Secteur représente le rendement d'extraction de *Thymelaea hirsuta* par différents méthodes d'extraction.

- Le meilleur rendement d'extraction de nos trois méthodes utilisées est la macération avec une moyenne de 25,15 % suivi de la décoction et de l'infusion avec en moyenne 20% et 13,1% respectivement. ce rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la taille des particules, la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation.
- Dans notre cas, l'utilisation d'un mélange hydro-alcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction, l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols [146] par modulation de la polarité du solvant organique [147]. Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles [154].

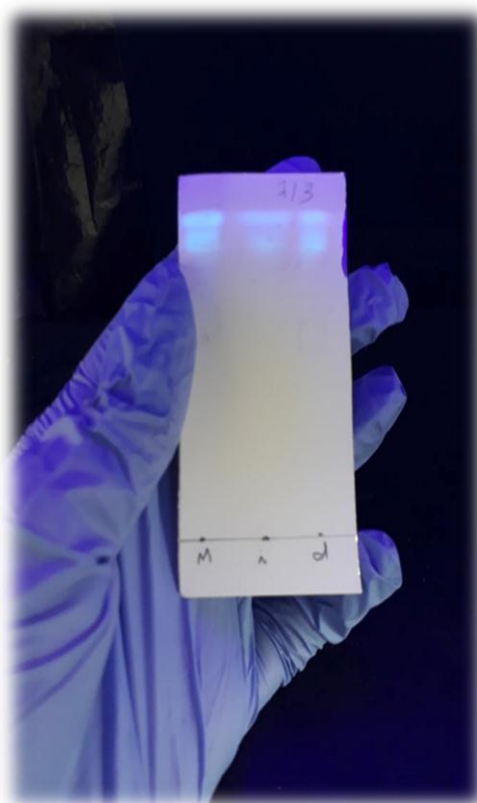
III.2.2.2. Chromatographie sur couche mince

Pour avoir une empreinte polyphénoliques de nos trois extraits, une chromatographie sur couche mince a été réalisée en utilisant un système de solvant (Chloroforme/Méthanol) avec des proportions différentes (7/ 3, 6/4). L'observation a été faite sous lampe d'UV 365nm nous avons aussi déterminé le rapport frontal (Rf) pour chaque composé

Les résultats de cette manipulation sont représentés sur la Figure III.36 et Tableau III. 27



Révélation sous UV à 366 nm
(Systeme7/3)



Révélation sous UV à 366 nm (Système 6/4)

Figure III.36 : Résultat de la CCM

Tableau III. 27 : Résultat de la CCM

Extrait				Couleurs	Méthode 1 : Macération	Méthode 2 : Infusion	Méthode 3 Décoction	Composés propable [155]
	Système	Proportion	Spot	/	R _f	R _f	R _f	/
Chloroforme/Méthanol	7/3		1	Jaune pale	4	5,3	3,9	Flavonoides
			2	Jaune	4,8	-	3,5	
			3	Bleu fluo	5,5	-		Acide phéolique
	6/4		1	Vert jaunetre sombre	5	5,6	5,7	Flavonoides
			2	Jaue pale	5,8	6,1	6,2	
			3	Jaune	6,2	-	-	

L'analyse qualitative sur CCM et visualisation sous UV à 366 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots).

Le nombre de taches sur les CCM indique que la quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes dans l'extrait de la macération et la décoction est la plus élevée que celles de l'infusion.

Enfin, nous pouvons conclure que les résultats de la CCM confirment la présence des composés phénoliques dans les différents extraits de la plante étudiée par l'apparition des couleurs (la fluorescence) caractéristique de ce type de composé comme le jaune, le vert et le bleu,

III.2.2.3. Dosage des composés phénoliques

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg éq AG/g d'extrait).

La quantification des polyphénols des trois extraits a été représentée sur la Figure III.47 et le Tableau III.28.

Tableau III.28 : Résultats du dosage des polyphénols.

extrait	L'absorbance				Polyphénols (mg éq AG/g d'extrait)
	1	2	3	Moyenne	
Macération	2,275	2,660	2,285	2,41	318,16
Infusion	1,305	1,400	1,355	1,35	141,50
Décoction	1,500	1,56	1,510	1,52	169,83

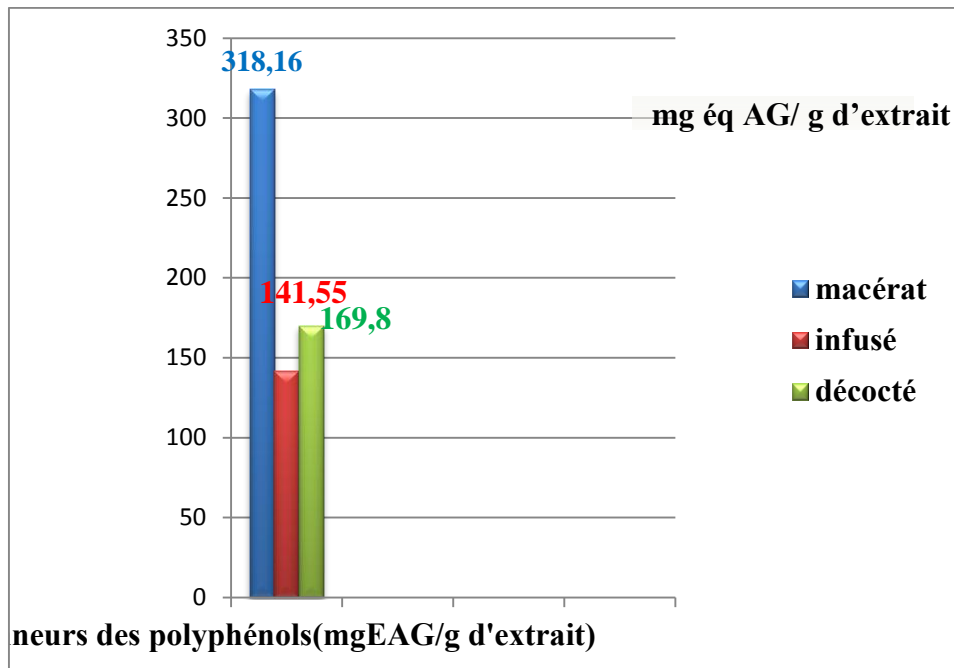


Figure III.37 : Histogramme représentatif de teneurs en polyphénols totaux du macérat de l'infusé et du décocté de *Thymelaea hirsuta*

les résultats de la teneur en polyphénols totaux du décocté, de l'infusé et du macérat obtenus par les trois modes d'extraction montrent que la macération est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de **318,16 mg éq AG/g d'extrait** contre **169,83 mg éq AG/g d'extrait** en moyenne pour la décoction suivie de l'infusion avec une moyenne de **141,51 mg éq AG/g d'extrait**.

Une étude comparative de trois méthodes d'extraction des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans une plante médicinale, *Thymelaea hirsuta*, a été réalisée. Il s'agit, en l'occurrence, de l'extraction par macération dans le méthanol aqueux à 70 %, à température ambiante, pendant 24 heures, l'extraction par infusion, pendant 30 min, et l'extraction par décoction pendant 30 min. Cette dernière est la méthode préconisée en médecine traditionnelle. Le but était d'observer l'impact du procédé d'extraction tant sur la quantité des composés phénoliques présents dans les trois extraits

Nous avons choisi d'effectuer nos extractions sur 20 g de poids sec, ce qui représente la dose moyenne utilisée traditionnellement par la population algérienne.

Du point de vue phytochimique, cette plante médicinale est plus ou moins riche en métabolites secondaires. Les composés détectés, après le criblage phytochimique de *Thymelaea Hirsuta* étaient essentiellement des flavonoïdes, des saponosides et des tanins.

La comparaison porte sur le rendement d'extraction des métabolites visés et le dosage de polyphénols.

Les résultats de l'étude comparative montrent que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par La macération, suivi par la décoction et enfin par l'infusion.

L'extrait issu de la macération présente une teneur en phénols totaux supérieur à celles des autres extraits obtenus. Ces résultats montrent que l'extraction par macération est la meilleure méthode pour extraire les flavonoïdes et les polyphenols. Néanmoins, ce résultat, obtenu pour *Thymelaea hirsuta*, reste à confirmer pour les autres plantes médicinales.

- [1]- **Sebai, M., Boudalim, M.** ; (2012). La phytothérapie entre la confiance et la méfiance. Mémoire professionnel, Institut de formation paramédical chettia.
- [2]- **Graham, N.L., patterson, K., Hodges, J.R.** ;(2000). The impacte of semantic memory impairment on spellig : Evidence from semantic dementia. *Neuropsychologia*, vol(38), pp143-163.
- [3]- **Ozenda, P.** ; (1977). Flore du sahara ,2^e éd, Edition du centre national de la recherche scientifique, Paris, pp622.
- [4]- **Bnouham, M., Ziyyat, A., Mekhfi, H., Tahri, A., Legssyer, A.** ; (2006). Medicinal plants with potential antidiabetic activity, vol(14), pp1-25.
- [5]- **Kawano, M.I., Aravind, G.S.** ; (2007). An antisense rna controls synthesis of an SOS-induced toxin evolved from an antitoxin. *Mol.microbiol*, vol(64), pp738-754.
- [6] - **Sofowora, A.** ; (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, éd Karthala, Paris, pp22-23.
- [7]- **Elqaj, M., Ahami, A., Belghyti, D.** ; (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "*ressources naturelles et antibiotiques*". Maroc.
- [8]- **Iserin, P.M.** ; (2001). Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd ed), (T. D.-F. Edith Ybert, Ed., & P. Vican,Trans.) Larousse-Bordas (1997). ISBN : 2-03-560252-1.P, pp6-16, 18-53, 335.
- [9]- **Bruneton, J.** ; (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd, revue et augmentée, éd médicales internationales, Tec et Doc, Paris, France.
- [10]- **Decaux, I.** ; (2002). Phytothérapie: Mode d'emploi, éd : Le bien public, pp6.
- [11]- **Borris, R.P., Blasko, G., Cordelle, G.A.** ; (1988). Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the *Thymelaeaceae*, *Journal of Ethnopharmacology*, vol(24), pp41-91.
- [12]- **Heywood, V.H.** ;(1996). Les Plantes à Fleurs, éd Nathan, Paris, pp159-160.
- [13]- **Fournier, P.** ; (1999). Les plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome III, éd. *Connaissance et mémoires Européennes*, pp176-177.

- [14]- **Dohou, N., Khalid, Y., Najib, G., Idrissi, H.** ; (2004). Étude de polyphénols des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, thymelaealythroïdes. *Acta botanicamalacitana*, vol(29), pp233-239.
- [15]- **Tubery, P.** ; (1968). Alcohol extract of *Lasiosiphon kraussianus* plant having lymphocytic activity, for use against leprosy. Brevet, Fr. M. 6366 (CA 74, 91170x).
- [16]- **Ren, C.P.** ; (1978). Long-acting analgesic antidyne in anal operations. *Nat. Med. J. China* 4, pp158-159.
- [17]- **Kupchan, S.M., Baxter, R.L.** ; (1975). Mezerein : anti-leukemic principle isolated from *Daphnemezereum* L. *Science*, vol(187), pp652-653.
- [18]- **Baba Aissa, F.** ; (1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, éd. *Librairie moderne*, Rouiba, pp203.
- [19]- **Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N.** ;(2003). *Bull. Soc. Pharm, Bordeaux*, vol(142), pp61-78.
- [20]- **Han, J.T., Bang, M.H., Chun, O.K., Kim, D.O., Lee, C.Y., Baek, N.I.** ; (2004). Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities, *Arch Pharm Res*, vol(27), pp390–5.
- [21]- **Wu, L. C., Hsu, H, W., Chen, Y. C., Chiu, C. C., Lin, Y. I., Ho, J. A.** ; (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya, *Food Chemistry*; vol(95), pp319–327.
- [22]- **Kerbab, K., Mekhelfi, T., Zaiter, L., Benayache, S., Benayache, F., Picerno, P., Mencherini, T., Sansone, F., Aquino, R., Rastrelli L.** ; (2015). Natural product research, *Vol(29)*, pp671-675.
- [23]- **Dohou, N., Yamni, K., Badoc, A., Douira, A.** ; (2004). Activité antifongique d'extraits de *Thymelaea lythroïdes* sur trois champignons pathogènes du Riz, *Bull. Soc. Pharm, Bordeaux*, vol(143), pp31-38.
- [24]- **Mohammedi, Z.** ; (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie (Doctoral dissertation), pp27.

Les références bibliographiques

- [25]- **Iserin, P., Masson, M., Restellini, J-P., Ybert, E., Moulard, F., Zha, E.** ; (1996). Larousse encyclopédie des plantes médicinales, les éléments actifs des plantes, 2éd, pp14.
- [26]- **Mekhelfi, T.** ; (2016). Séparation et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux Plantes Algériennes - Activités Biologiques, these doctorat, discipline : Analyses physicochimiques, contrôle de la qualité et synthèse de substances bioactives, Université des Freres Montouri Constantine, pp8.
- [27]- **Kabbaj, F. Z., Lai, D., Meddah, B., Altenbach, H.J., Cherrah, Y., Proksch, P., El Abbas F. M., Debbab, A.** ;(2013). From Biochemical Systematics and Ecology, vol(51), pp153-155.
- [28]- **Garcia-Granados, A., Saenz de Buruaga, J. M.** ; (1980). From Anales de Quimica, Serie C: Quimica Organica y Bioquimica, vol(76), pp96-7.
- [29]- **Ghanem, H., Haba, H., Marcourt, L., Benkhaled, M., Wolfender, J.L.** ; (2014). From Natural Product Research, vol(28), pp1732-1738.
- [30]- **Amari, N., Bouzouina, M., Berkani, A., Lotmani, B.** ; (2014). From Asian Pacific Journal of Tropical Disease, vol(4), pp104-109.
- [31]-**Rizk, A.M., Rimpler, H.** ; (1972). Isolation of daphnoretin and. <-sitosterol-<- Dglucoside from Thymelaea hirsuta, Phytochemistry, vol(11), pp473-475.
- [32]-**Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Ismail, S.I.** ; (1975). Phytochemical investigation of Thmelaea hirsuta, III, coumarins. Acta chimica Academiae scientiarum Hungaricae, vol(85), pp107-115.
- [33]- **Cheriti, A., Sekkoum, K.** ; (1995). From Acta Chimica Slovenica, vol(42), pp373-74.
- [34]-**Saleh, M.R.I., Haddad, D.Y., Sar, T.M.** ; (1965). Isolation of the crystalline principle, thymelol, from leaves of Thymelaea hirsuta, U, Arab Rep, Journal Pharm. Sci, vol(4), pp49-56.
- [35]- **Quezel,P.,Santa,S.** ; (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (éd.), Paris, Tome 2.
- [36]- **Kenza, K., Sofia, H., Azeddine, Z., Abdelouahab, Y.** ; (2017). Effet antibactérien des extraits de Thymelaea hirsuta L.

- [37]- **Spichiger., Rodolphe., Clément, C., Bastian, B.** ; (2004)."Geographical zonation in the Neotropics of tree species characteristic of the Paraguay-Paraná Basin." *Journal of Biogeography*, vol(31), pp1489-1501.
- [38]- **Gharbo, S.A., Khafagy, S.M., Sarg, T.M.**; (1970).Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*, U, Arab Rep, *Journal Pharm. Sci*, vol (11), pp101-106.
- [39]- **Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Ismail, S.I.**; (1974).Phytochemical investigation of *Thymelaea hirsuta*, II, Lipid fraction. *Plant Med*, vol (26), pp346-358
- [40]- **Nawwar, M.A.M., Ishak, M.S., Sherbieny, A.D., Meshaal, S.A.**; (1977).Flavonoids of *Reaumuria mucronata* and *Thymelaea hirsuta* *Phytochemistry*, vol (16), pp1319-1320.
- [41]- **Ismail, S.I.** ; (1978). Tiliroside (Kaempferol-3-p-coumaroylglucoside) from *Thymelaea hirsuta*, IV.
- [42]- **El-Beheiry, M.A.H.** ; (2000). Evaluation of the organic composition of *Thymelaea hirsuta* populations in Egypt, *Bull, Fac, Sci, Assiut Univ., D: Botany*, vol(29), pp375-383.
- [43]-**Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Ismail, S.I., Missiry, M.M., Evans, F.J.** ; (1984). Irritant resiniferonol derivatives from Egyptian *Thymelaea hirsuta* L, *Experientia*, vol(40), pp808-809.
- [44]-**Brooks, G., Evans, A.T., Aitken, A., Evans, F.J., Rizk, A.F.M., Missiry, M.M., Ismail, S.E.** ; (1990). Daphnane diterpenes of *Thymelaea hirsuta*, *phytochemistry*, vol(29), pp2235-2237.
- [45]-**Abdou-Karam, M., El-Shaer, N.S., Shier, W.T.** ; (1998). Inhibition of oncogene product enzyme activity as an approach to cancer chemoprevention, tyrosine-specific protein kinase inhibition by daphnoretin from *Thymelaea hirsuta* root, *phyother, Res*, vol(12), pp282-284.
- [46]- **Ahmed M Badawya, Hashem A Hassaneanb, Amany K. Ibrahimb, Eman S. Habibb, Safwat A. Ahmedb.** ; (2019). Review article on chemical constituents and biological activity of *Thymelaea hirsuta*, *Review Article «Records of pharmaceutical and biomedical sciences* », Egypt, vol(3), pp28-32.

- [47]- **Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., Jiang, Y.** ; (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions as determined by FRAP assay, *Nutrition Research*, vol (23), pp1719-1726.
- [48]- **Andayi, A.W., Yenesew, A., Derese, S., Midiwo, J.O., Gitu, P.M., Jondiko, O.J.** ; (2006). Antiplasmodial flavonoids from *Erythrina saculeuxii*, *Planta Med*, vol(72), pp187–9.
- [49]- **Schinor, E. C., Salvador, M.J., Ito, I.Y., Dias, D.A.** ; (2007). Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolates constituents from *Chresta scapigera*, *Braz. J. Microbiol*, vol(38), pp145–149.
- [50]- **Trendafilova, A., Todorova, M., Gavrilova, A., Vitkova, A.** ; (2012). *Biochem. Syst. Ecol*, vol(43), pp156-158.
- [51]-**Valant, V.K.M., Wollenweber, E.** ; (2006). Flavones and Flavonols. In: Andersen M. and K.R. Markham (Eds.) *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. London:Taylor and Francis Group, pp628-644.
- [52] - **Trigui, M., Hsouna, A., Tounsi, S.** ; (2013). *J. Industrial Crops and Products*, vol(41), pp 150-157.
- [53] - **Akrouit, A., Gonzalez, Alarcon, L., El Jani, H.** ; (2011). Madrid, Pablo Campra, *Food and Chemical Toxicology*, vol(49), pp342-347.
- [54]- **Kawano, M., Matsuyama, K., Miyamae, Y., Shinmoto, H., Kchouk, M. E., Morio, T., Shigemori, H., Isoda, H.** ; (2007). *Experimental Dermatology*, vol(16), pp977-984.
- [55] - **Bnouham, M., Merhfour, F. Z., Legssyer, A., Mekhfi, H., Maallem, S., Ziyyat, A.** ; (2007). *Pharmazie*, vol(62), pp630-632.
- [56]-**Yang, M.H., Ali, Z., Khan, S.I., Khan, I.A.**; (2014).Characterization of chemical constituents from *Thymelaea hirsuta* with PPAR α/γ modulation activity.
- [57]- **Miyamae, Y., Villareal, M.O., Abdrabbah, M.B., Isoda, H., Shigemori, H.**; (2009).Hirseins A and B, daphnane diterpenoids from *Thymelaea hirsuta* that inhibit melanogenesis in B16 melanoma cells, *Journal of natural products*, vol (72), pp938-941.

- [58]- - **Macheix, J.j., Christian, J.a., Allemand, J.** ; (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes, pp1-192.
- [59]- **Middleton, E., Kandaswami, C, Theoharides, T.C.** ; (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, Vol (52), pp673-839.
- [60]- **Tao, L., Lambert, J.D.**; (2014). Polyphenols in the prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease and Cancer. *Polyphenols in Human Health & Disease*, Vol (2), pp1191 -1198.
- [61]- - **Hannebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F.** ; (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. Springer-Verlag, Vol (1), pp3-6.
- [62]- **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H.** ; (2006). *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*, éd Blackwell Publishing Ltd.
- [63]- **Sarni- Manchado, P., Cheynier, V.**; (2006). Les polyphénols en Agroalimentaire. Techniques et documentation. Lavoisier. Paris. pp398.
- [64]- **Heimeur, N., Idrissi Hassani, L.M., Amine Serghini, M.** ; (2004). Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *Reviews in Biology and Biotechnology*, Vol (3), pp37-42.
- [65]- **Dubois, G.E., Grosbay, G.A., Saffron, P.**; (1977). Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, Vol (195), pp397-399.
- [66]- **Bonfigli, L., Cecarini, V., Amici, M., Cuccioloni, M., Angeletti, M., Keller, J.N., Eleuteri, A.M.**; (2008). Natural polyphenols as proteasome modulators and their role as anti-cancer compounds. *FEBS*, Vol (275), pp5512-5526.
- [67]- **Burta, O., Tirlea, F., Burta, O.L., Qadri, S.M.**; (2008). Phytotherapy in cardiovascular diseases: From ethnomedicine to evidence based medicine. *Journal of Biological Sciences*, Vol (8), pp 242-247.
- [68]- **Druzyńska, B., Stepnińska, A. & Wolosiak, R.**; (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and

antioxydant propriétés obtenues extraits. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, Vol(6), pp27-36.

[69]- **Belyagoubi, N., Benhammou, N.** ; (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, Thèse de doctorat en biologie, université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. pp12.

[70]- **Marfak, A.** ; (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools : formation de depsides, Thèse de doctorat. Limoges

[71]- **Walton, N. J., Brown, D. E.**; (1999). Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products, éd World Scientific, pp1-14.

[72]- **Guignard, J.L.** ; (2000). Les composés aromatiques In : Biochimie végétal, éd Dunod, pp161-217.

[73] - **Bruneton, J.** ; (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris, pp198-260.

[74]- **Buchanan, B., Gruissem, W., Jones J.** ; (2000). American Society of Plant Physiologists Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24: Biochemistry & Molecular Biology of plants.

[75]- **Bruneton, J.** ; (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème éd Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

[76]- **Akroum, s., Bendjeddou, d., Satta, d., Lalaoui,k.**; (2010). "Antibacterial, antioxydant and acute toxicity tests on flavonoids extracted from some medicinal plants." International Journal of Green Pharmacy, vol (4), pp165.

[77]- **Bruneton, J.** ; (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème éd Lavoisier Techniques & Documentation, Paris, pp1120.

[78]- **Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R., Vincent, CH.** ; (2008). Biopesticides d'origine végétale, éd Lavoisier, pp259-280.

[79]- **Dacosta, Y.** ;(2003). Les phytonutriments bioactifs, éd Yves Dacosta, Paris, pp317.

[80]- **Bouakaz, I.** ; (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.

Les références bibliographiques

- [81]- **Roux, D., Catier, O.** ; (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Collection du " cahier du préparateur en pharmacie ", pp141- 146.
- [82]- **Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V.** ; (2006). The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, Vol(7), pp140-146.
- [83]- **Lobstein, A.** ; (2010). Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp3-25.
- [84]- **Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W., kong, S.S.** ; (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *J Pharmaco. Sci*, vol(96), pp229-254.
- [85]- **Liu, H., Zhang, L., Lu, S.** ; (2012). Evaluation of antioxidant and immunity activities of 96 quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, vol (17), pp4281-4291.
- [86]- **Castaneda-ovando, A., Pacheco-Hernández, M.L., Elena Pérez-Hernández, M.E, Rodríguez, J.A., Carlos Andrés Galán-Vida, C.A.** ; (2009). Chemical studies of anthocyanins: a review, *Food Chemistry*, vol(113), pp859-871.
- [87]- **Schwarz, H., Liebhard, P., Ehrendorfer, K., Ruckenbauer, P.** ; (2007). Potential growth and biomass productivity of *Miscanthus giganteus* as affected by plant density and N-fertilization in central Greece. *Biomass Bioenerg*, vol (31), pp145-152.
- [88]- **Dewick, P.M.** ; (1993). Isoflavonoids. *The Flavonoids Advances in research since (1986)*. (Ed.) Harborne, J.B., Chapman & Hall. London, pp117-238.
- [89]- **Iwashina, T.** ; (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *J. Plant Res*, Vol(113), pp287-299.
- [90]- **Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., Krishna, D. R.**; (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, Vol (33), pp2-16.
- [91]- **Benyahia, A.** ; (2014). Contribution à l'étude phytochimique et activité biologiques de deux plantes médicinales *Inula viscosa* et *Inula montana*. Mémoire de Master. Université Aboubekr belkaid. Tlemcen, Algérie.
- [92]- **Stevanovic, T., Perrin, D.** ; (2009). *Chimie du bois*, Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes, pp179-180.

- [93]- **Wollgast, J., Anklam, E.** ; (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, vol(33), pp423 – 447.
- [94]- **Garabeth, F., Bouaoun, D., Elyafi-Elzahri, G.** ; (2007). Etude quantitative des coumarines d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boissier, *Phytothérapie*, vol(5), pp259-263.
- [95]- **Ford, R.A., Hawkins, D.R., Mayo B.C., Api, A.M.** ; (2001).The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteer rsun dersimulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, vol (39), pp153-162.
- [96]- **Anderson, C.M., Halleberg, A., Hogberg, T.**; (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxydants. *Adv. drug Res*, vol (28), pp65-180.
- [97]- **Guignard, J.L., Hahn, D. H., Faubion, J.M., Rooney, L.W.**; (1998).Sorghomphenolicacids, theirhight performance chromatography separation and their relation to fungalresistance. *Cereal Chem.* 60: 255. In: *Phenolic Compounds in Cereal Grains and TheirHealthBenefits*.Dykes, L; Rooney, W.L. 2007.Texas A&M University.CFW-52-3-0105.
- [98]- **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L.**; (2003). Natural product: theirchemistry and biologicalsignificance.*Journal of the American OilChemistry Society*.Vol (80), pp65-70.
- [99]- **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E.**; (2004).New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and theirpharmacological activity.*Clinical Pharmacology and Therapeutics*, vol(50), pp120-123.
- [100]- **Catier, O., Roux, D.**; (2007). *Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie : Cahiers du préparateur en pharmacie*. 3^e éd. France : Wolters Kluwer.
- [101]- **Vivas de Gaulejac, N.**; (2001). *Vin et santé. Les bases scientifiques du French Paradox*, éd Féret, pp198.
- [102]- **Clifford, M.N.** ; (2000).Anthocyanines-nature, occurrence and dietary burden. *J.Sci. Food Agric*, vol (8), pp1063-1072.
- [103]- **Collin, S., Crouzet, J.** ; (2011). *Polyphénols et procédés*, éd Lavoisier, pp6-11.

- [104]- **Neal, M.D., Jaime, A.Y., Basil, R.** ; (2012). Flavonoid Pharmacokinetics: Methods of Analysis, Preclinical and Clinical, Pharmacokinetics, Safety, and Toxicology, éd John Wiley & Sons.
- [105]- **Han, X., Shen, T., Lou H.**; (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, vol (8), pp950-988.
- [106]- **Kundu, J.K., Surh, Y.**; (2008). Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: Mechanistic perspectives, *Cancer Letters*, vol (269), pp243– 261.
- [107]- **Cowan, M.M.** ; (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clin, Microbiol Res*, vol (12), pp564-582.
- [108]- **Kim, K. H., Tsao, R., Cui, S. W.**; (2006). Phenolic acid profile and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect hydrolysis condition, *Food Chemistry*, vol (95), pp466-473.
- [109]- **Suba, A., Muralikrishna, G.**; (2002). Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet. *J. Agric. Food Chem*, In Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits: Dykes, L; Rooney, L W. 2007. Texas A&M university college station TX, vol (50), pp889.
- [110]- **Ochocka, R.J., Rajzer, D., Kowalski., Lamparczyk, H.** ; (1995). Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum* L., By capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, vol(709), pp197-202.
- [111]- **Taguchi, G., Fujikawa, S., Yazawa, T., Kodaira, R., Hayashida, N., Shimosaka, M., Okazaki, M.** ; (2000). Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2,4-D-treated tobacco cells. *Plant Science*, vol(151), pp153-161.
- [112]- **Ojala, T., Rames, S., Haansu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., Vuorela, P.** ; (2000). Antimicrobial activity of some coumarin-containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, vol (73), pp299-305.

- [113]- **Chen, C.N., Weng, M.S., Wu, C., Lin, J.k.**; (2004). Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells. *Food Chemistry*, vol (2), pp175-185.
- [114]- **Khan, I., Kulkari, M.V., Gopal, M., Shahabuddin.** ; (2005). Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, vol (15), pp3584 -3587.
- [115]- **Thati, B., Noble, A., Rowan, R., Creaven, S.B., Walsh, M., Egan, d., Kavanagh, K.** ; (2007). Mechanism of action of coumarin and silver coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*. *Toxicology in vitro*, vol (21), pp801-808
- [116]- **Stefanova, T., Nikolova, N., Michailova, A., Mitov, I., Iancovii.; Zlabinger, g.I., Neychev, H.** ; (2007). Enhanced resistance to *Salmonella enteric* serovar typhimurium infection in mice after coumarin treatment. *Microbes and infection*. Vol (9), pp7-14.
- [117]- **Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdely C.**; (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*, *Plant, Physiol Bioch*, vol (45), pp244-249
- [118]- **Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F.**; (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agric. Food Chem.*, vol(48), pp3396-402.
- [119]- **Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P.** ; (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am. J. Clin Nutr*, vol (74), pp418-425
- [120]- **Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Teissedre, P.L.**; (1995). *J. Agric. Food Chem.* Vol (43), pp221-235.
- [121]- **Chung, K., Wong, T.Y., Wei C., Huang Y., Lin Y.**; (1998). Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, vol (38), pp421-464.
- [122]- **Rahman, I., Biswas, S. K., Kirkham, P. A.**; (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, vol(72), pp1439-1452.
- [123]- **Zimmer, N., Cordesse, R.**; (1996). Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. éd INRA. *Prod Anim*, vol (9), pp167-179.

- [124]- **Smythies, J. R.** ; (1998).Every Person's Guide to Antioxidants, éd British cataloging. pp89-110.
- [125]- **McRae, D.W., Towers, G.H.N.**; (1984).Biological activities of lignans. *Phytochemistry*. Vol (6), pp1207-1220.
- [126]- **Udenigwe, C.C., Ramprasath, V.R., Aluko, R.E. & Jones, P.J.H.**; (2008).Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutrition Reviews*, vol (66), pp445-454.
- [127]- **Bouayed, J., Rammal, H., Younos, C., Dicko, A., Soulimani, R.**; (2008). Caractérisation et bio évaluation des polyphénols: nouveaux domaines d'application en santé et nutrition. *Springer*, 4: France.
- [128]- **Scalbert, A.** ; (2004). Fruits et légumes, polyphénols et santé, Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand/Theix.
- [129]- **Hodek, P., Trefil, P., Stiborov, A. M.** ; (2002).Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, vol (139), pp1–21.
- [130]- **Van Acker, S., Van Balen, G.P., Van Den, Berg D.J., Van Der, Vijgh W.J.F.** ; (1996). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids, *Biochem, Pharmacol*, vol (56), pp935–943.
- [131]- **Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. & Del Rio, J.A.**; (1997).Uses and properties of *Citrus* flavonoids, *J. Agric, Food Chem*, vol (45), pp4505-4515.
- [132]- **Bossokpi, I.P.L.**; (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, *Bamako*, pp133.
- [133]- **Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselsela, H. , Oued-Mokhtar, S.M.** ;(2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, vol(13), pp118-129.
- [134]- **Lhuillier, A.**; (2007). Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae),

Tambourissa *Trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Toulouse, pp171.

[135]- **Makino, R., Ohara, S., Hashida, K.** ; (2009). Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science*, pp9-45.

[136]- **Handa, S.S.** ; (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D.* (Eds) *Extraction Technologies, for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy , pp21-54.

[137]- **Diouf, P.N, Stevanovic, T, Cloutier, A.**; (2009). Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food chemistry*, vol(113), pp897-902.

[138]- **Anne-Sophie., Nogaret-Ehrhart,** ; (2003). *La Phytothérapie Se Soigner Par Les Plantes* Groupe Eyrolles, ISBN 2-7081-3531-7. Suisse, pp25-30

[139]- **Bohui, P.S.G., Adima, A.A., Niamké, F.B., N'Guessan, J.D.** ; (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*, *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, vol(46), pp50-58.

[140]- **Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N.** ; (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* l.), *revue « Nature & technologie »*. b- sciences agronomiques et biologiques, pp35-40.

[141]- **Boizot, N., Charpentier, J-P.** ; (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah. Tech. INRA*. N°.special, pp79-82.

[142]- **Katalinic, V. S., Mozina, D., Skroza, I., Generalic, H., Abramovic, M., Milos, I., Ljubenkovic, S., Piskernik, I., Pezo, P., Terpinic., Boban, M.** ; (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *J. Food. Chem*, Vol(119), pp715-723.

[143]- **Mulinacci, N.D., Prucher, M., Peruzzi, A., Romani, P., Pinelli, C., Giaccherini, F.F., Vincieri, F.F.**; (2004). Commercial and laboratory extracts

from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compound content. J. Pharm. and Biomed. Anal, Vol(34), pp349-357

[144]- **Koffi, E.T., Sea, Y., Dodehe., Soro, S.** ; (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. J. Animal & Plant Sci. Vol(5), pp550-558.

[145]- **Sripad, G. V., Prakash., Narasinga Rao. M. S.** ; (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. J. Biosci, Vol(4), pp145-152.

[146]- **Mohammedi , Z., Atik. F.** ; (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. Inter. J. Pharma. Bio. Sci, Vol(2), pp609-615.

[147]- **Dehpour, A. A. M. A., Ibrahimzadeh, N., seyed, F., N. Seyed, M. N.** ; (2009). Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. Grasas Y Aceites, Vol(60), pp405-412.

[148]- **Jokić, S. D., Velić, M., Bilić, A., Bucić-Kojić, M., Plan, i., Tomas, S.** ; (2010). Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. J. Food Sci, Vol(28), pp206-212.

[149]- **Marinovad., Ribarovaf., Atanassova, M.** ; (2005). Total phenolics in bulgarian Fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, Vol(40), pp255.

[150]- **Dohou., Tarik., Billaz, R., Sahel, E.G.** ; (2003). *La décentralisation en Afrique de l'Ouest: Entre politique et développement*, éd. Marc Totté. KARTHALA éd.

[151]- **Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M., yousfi, M.** ; (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. *Annales des sciences et technologie*, vol(6).

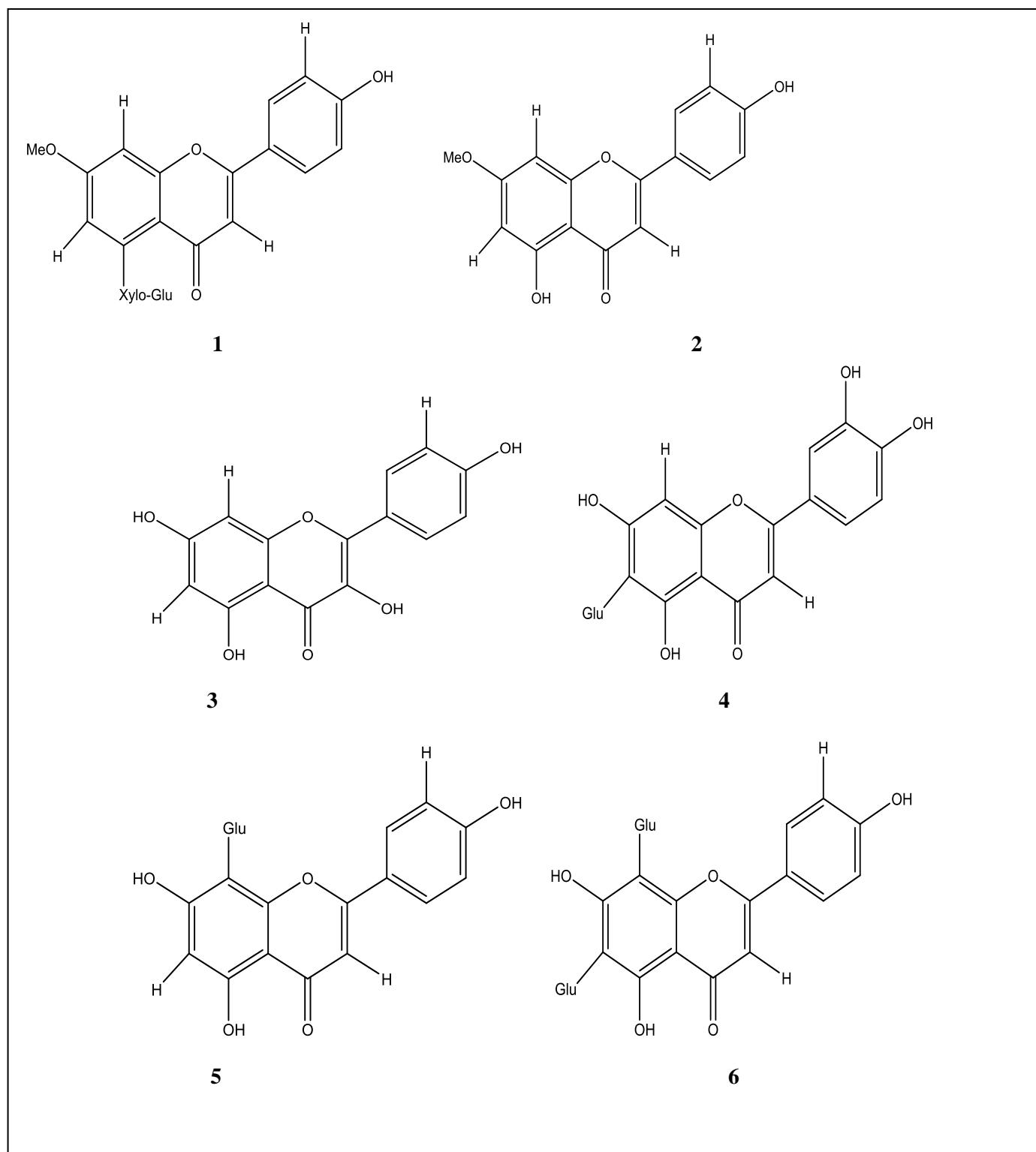
[152]- **Singleton.V.L., Orthofer.R., Lamuela-Raventós.R.M.** ; (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*, Academic Press, pp 152-178.

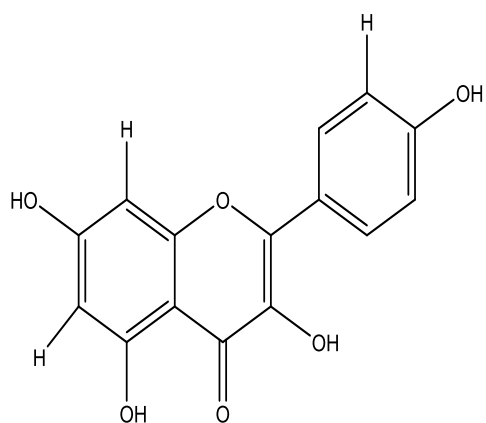
Les références bibliographiques

[153]- **Stalikas, C.D.**; (2007).Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J. Sep. Sci, vol (30), pp3268–3295.

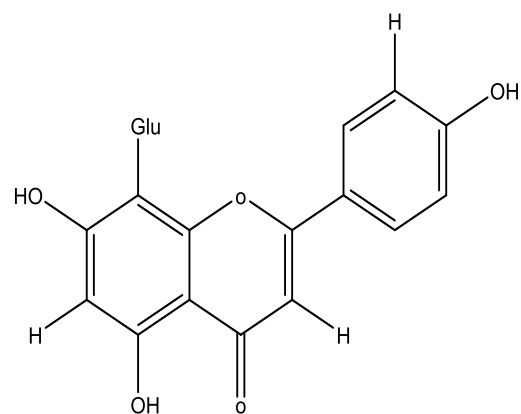
[154]- **Békro, Y-A., Békro, J.A.M., Boua, B.B., Trabi, F.H., Ehilé, E.E.** ; (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae), *sciences & Nature, Vol(4), pp217 – 225*.

[155]- **Markham, R.** ; (1983). Techniques of Flavonoides Identification, Academic Press, pp133.

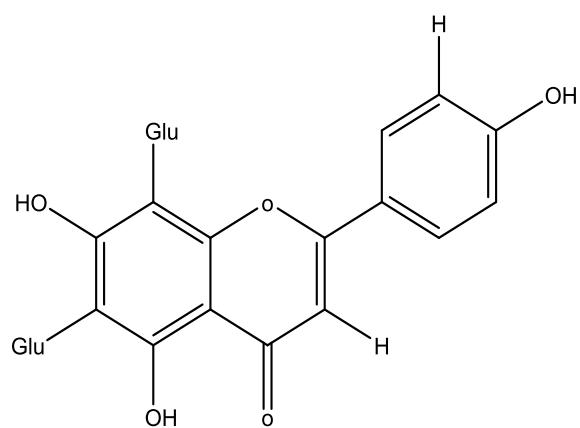
Annexe I : Les différentes Structures des composés phénoliques isolés du genre *Thymelaea*.



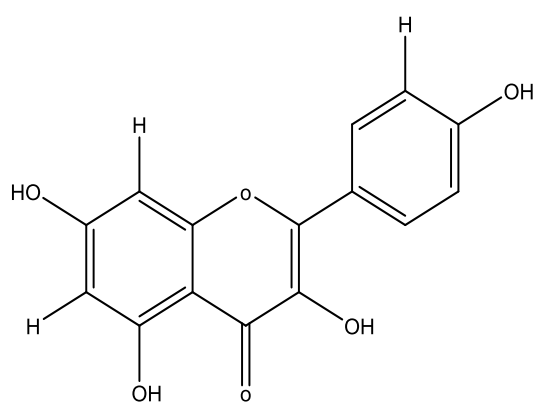
7



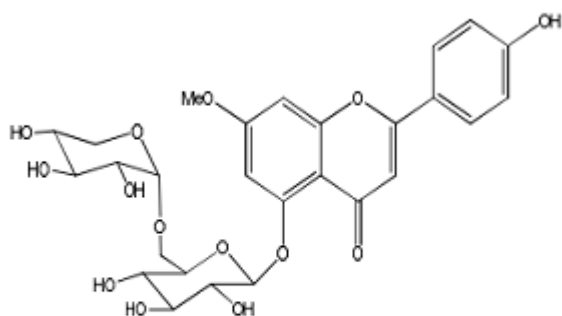
8



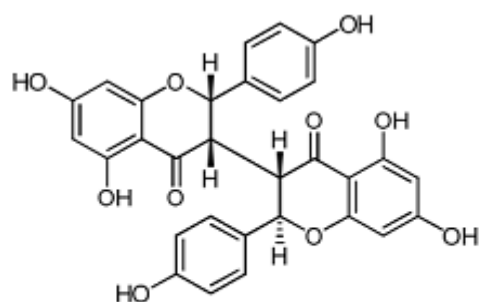
9



10



11



12

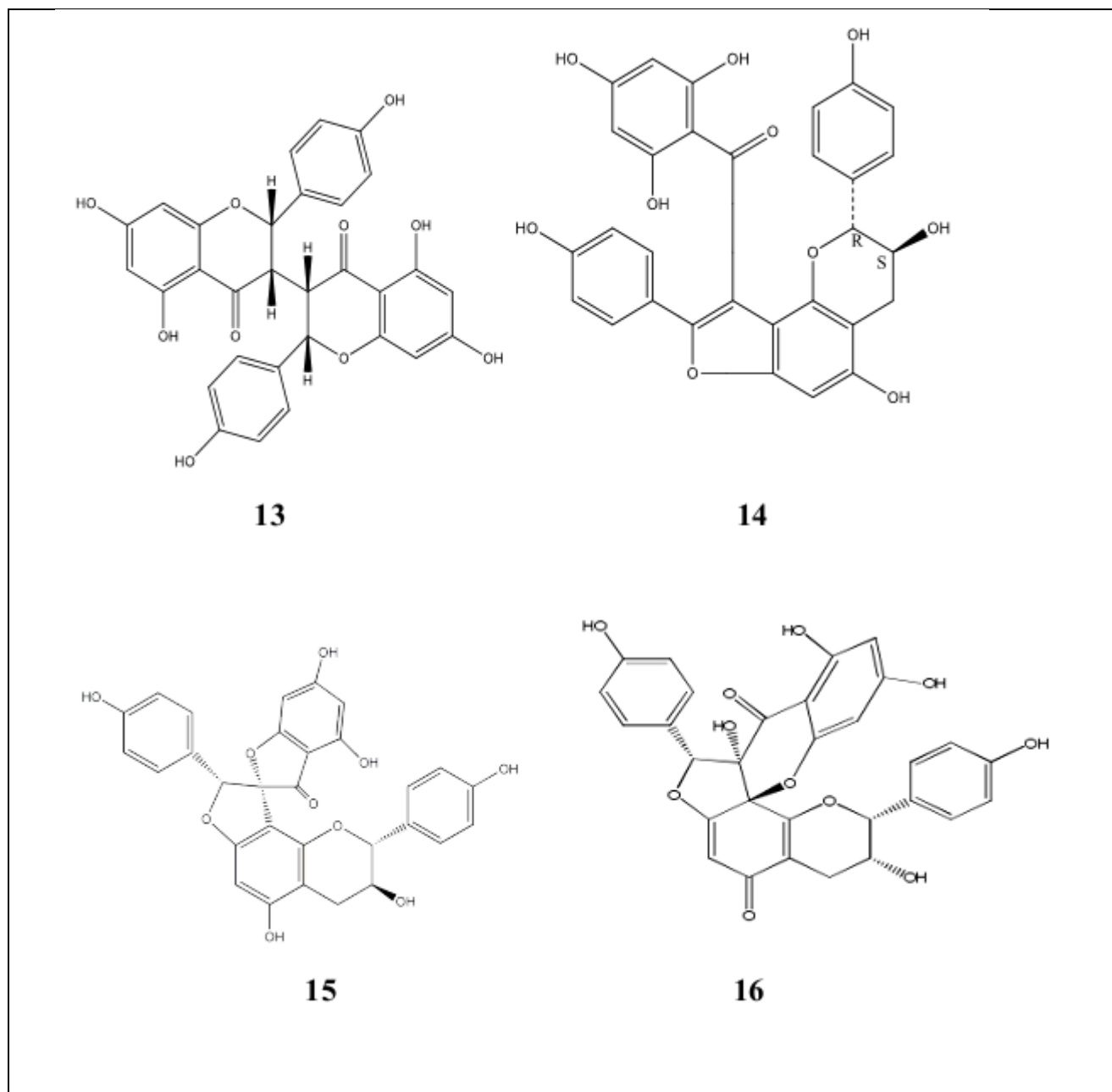
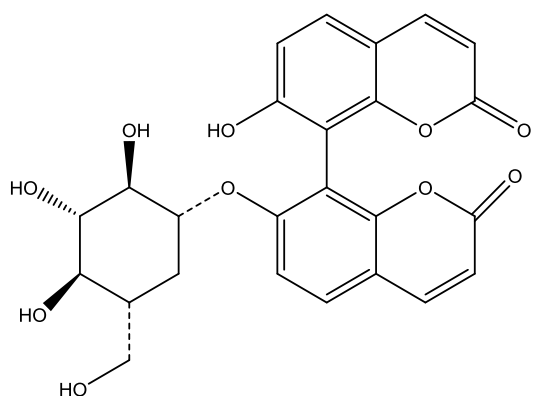
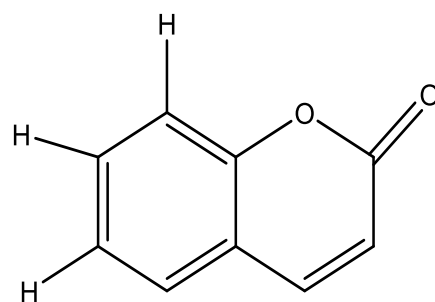


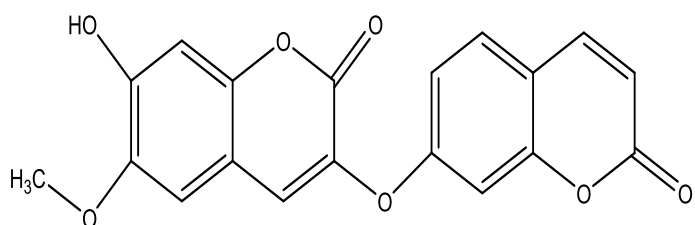
Figure 1 : Structures des flavonoïdes isolés du genre *Thymelaea*.



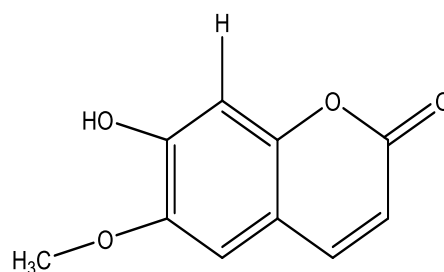
17



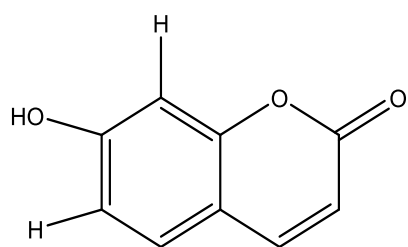
18



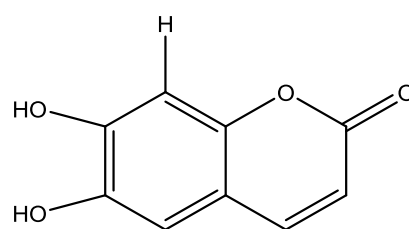
19



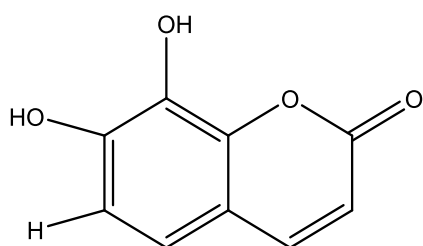
20



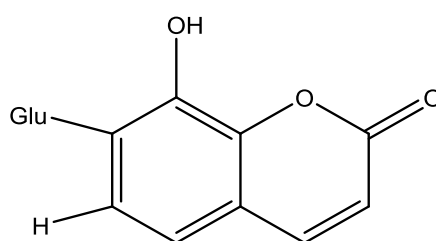
21



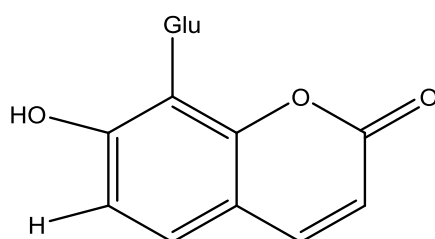
22



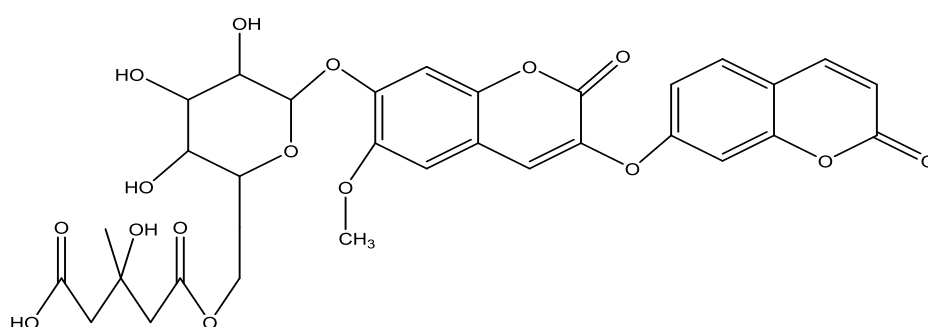
23



24



25



26

Figure 2 : Structures des coumarines isolées du genre *Thymelaea*.

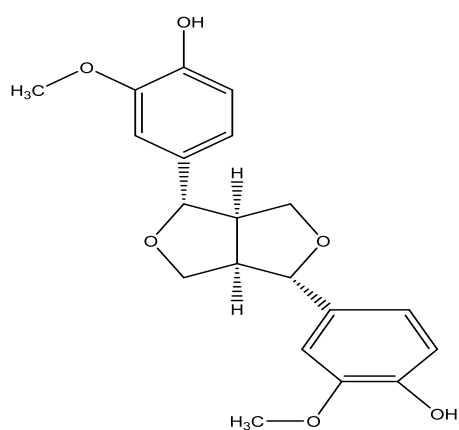
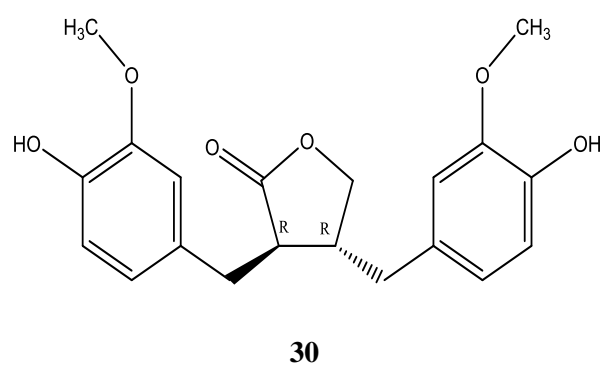
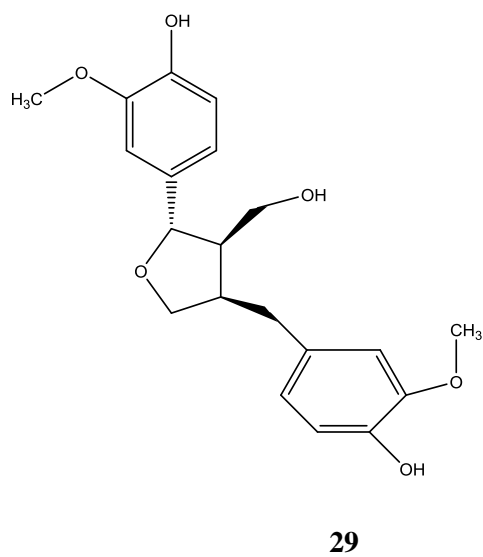
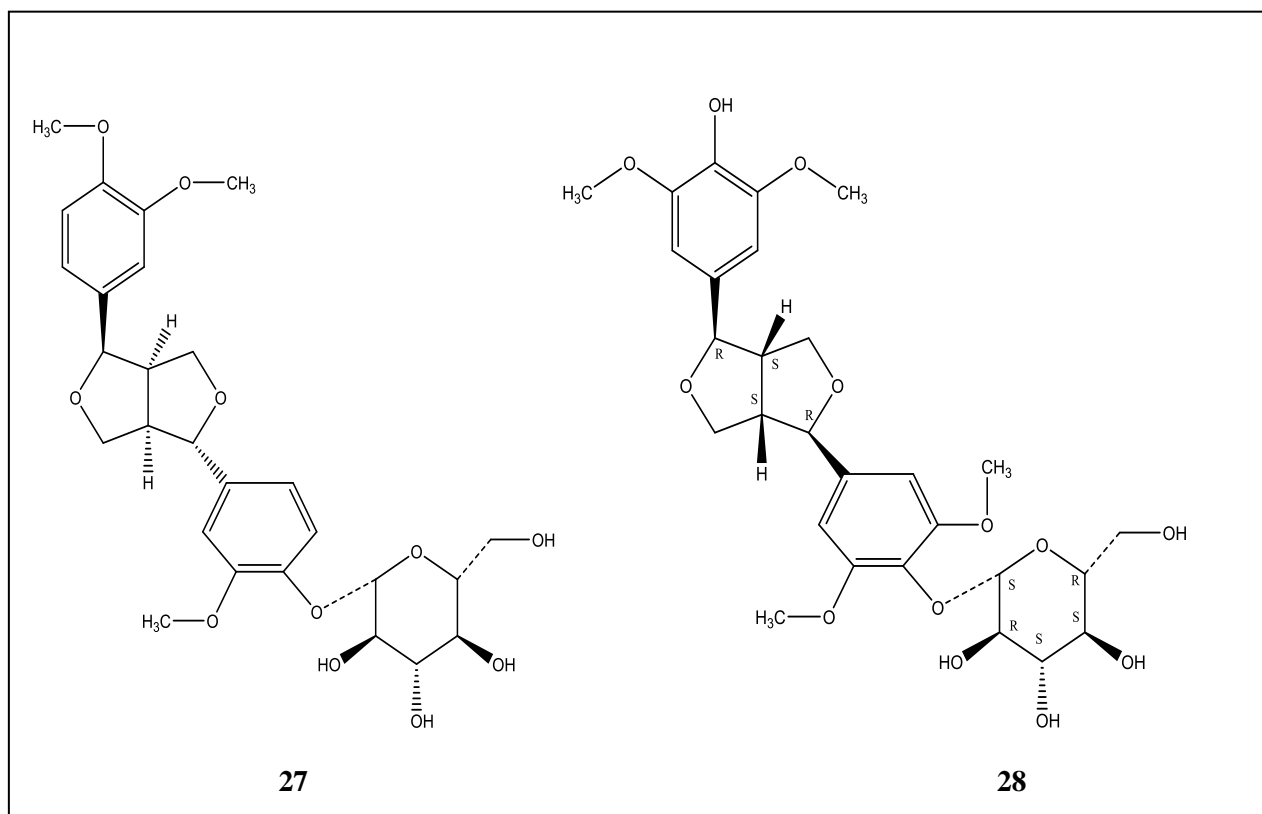
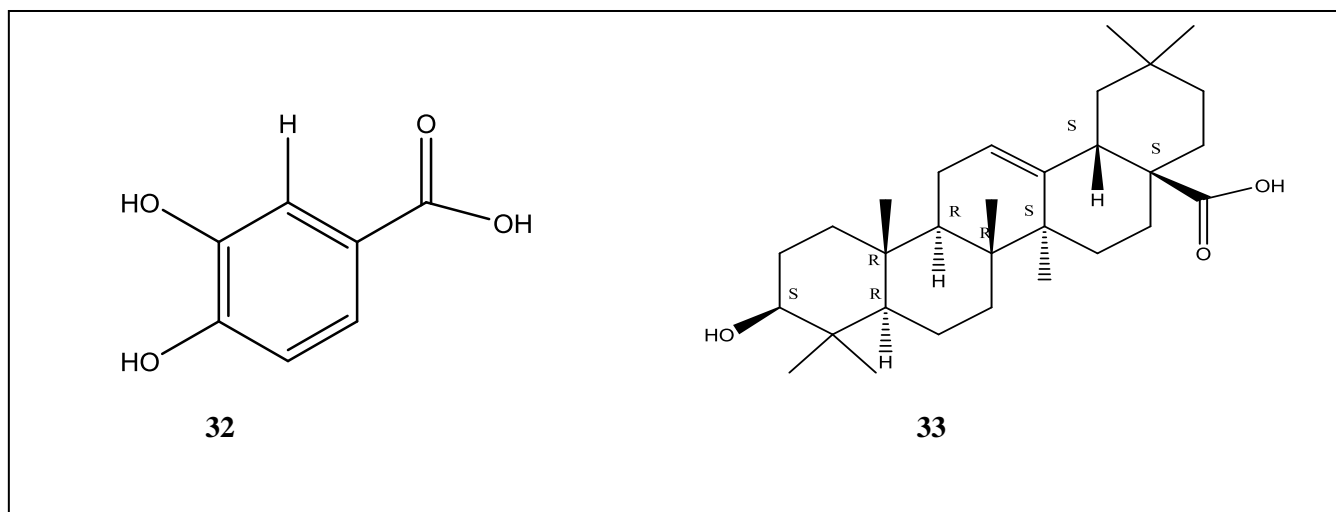
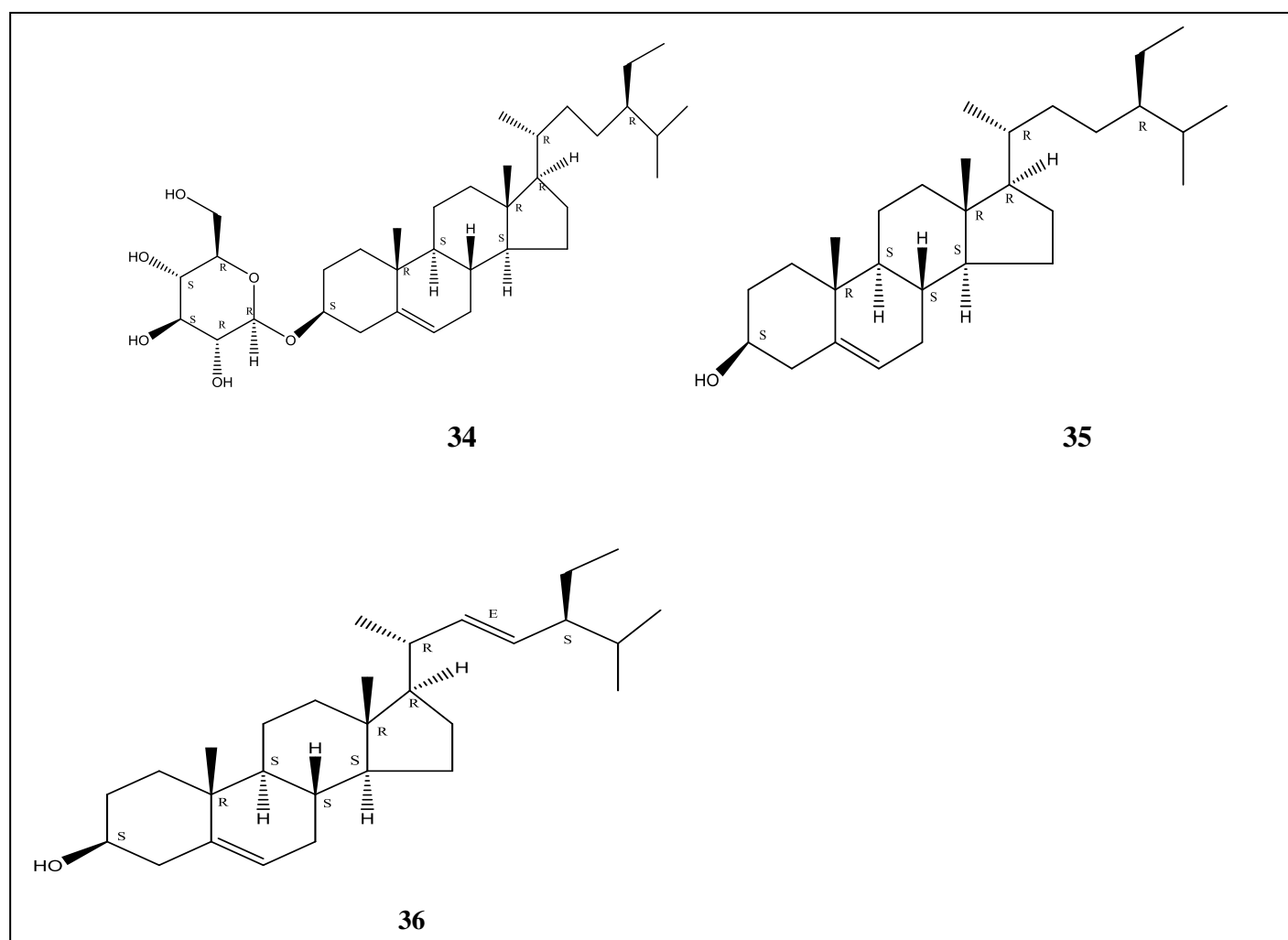


Figure 3 : Structures des Lignanes isolés du genre *Thymelaea*.Figure 4 : Structures des acides phénoliques isolés du genre *Thymelaea*.Figure 5 : structures des stérols isolés du genre *Thymelaea*.

.

