

République Algérienne Democratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf- M'sila

Faculté des Sciences
Département de Chimie
N°:



Domaine : Sciences de la Matière (SM)
Filière : Chimie
Option : Chimie Pharmaceutique

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme

De

Master Académique

Par :

M^{elle}. Bochra TAHMI

M^{elle}. Khawla HAMOUCHE

M^{elle}. Chaima GEUNNI

Thème

**Action Antioxydante et Antinitrosante de l'Acide
Syringique (AS) : Étude Théorique et
Expérimentale**

Devant le jury composé de :

M^{me}. Oum Elkheir BELHADDAD

Présidente

Université Mohamed Boudiaf -M'sila

M^f. Hocine BOULEGHLEM

Encadreur

Université Mohamed Boudiaf- M'sila

M^{me}. Salima ZIDANE

Examinatrice

Université Mohamed Boudiaf- M'sila

Année universitaire : 2021/2022

République Algérienne Democratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf- M'sila

Faculté des Sciences
Département de Chimie
N°:



Domaine : Sciences de la Matière (SM)
Filière : Chimie
Option : Chimie Pharmaceutique

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme

De

Master Académique

Par :

M^{elle}. Bochra TAHMI

M^{elle}. Khawla HAMOUCHE

M^{elle}. Chaima GEUNNI

Thème

**Action Antioxydante et Antinitrosante de l'Acide
Syringique (AS) : Étude Théorique et
Expérimentale**

Devant le jury composé de :

M^{me}. Oum Elkheir BELHADDAD

Présidente

Université Mohamed Boudiaf -M'sila

M^r. Hocine BOULEGHLEM

Encadreur

Université Mohamed Boudiaf- M'sila

M^{me}. Salima ZIDANE

Examinatrice

Université Mohamed Boudiaf- M'sila

Année universitaire : 2021/2022



Remerciement

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu,

Tout puissant, à qui nous avons fait confiance depuis long temps jusqu'à ce jour où nous a donné la chance de mener à bien notre mémoire de fin d'étude malgré les obstacles et les difficultés.

*Ensuite, nous adressons notre sincère remerciement et notre gratitude, A notre encadreur **Dr. Hocine BOULEGHLEM** qui nous a fourni le sujet de ce mémoire et nous a guidés de ses précieux conseils et suggestions et la confiance qu'il nous a témoignée tout au long du travail.*

*Nos vifs remerciements pour les membres du jury **M^{me} Salima. ZIDANE** et **M^{me} Oum Elkheir BELHADAD** pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail. Notre remerciement s'adresse également à **Mr. Abd elhalim GUELIL**, **Mr. Nour eldin Arioua** et **Mr. Z. Hamza** et tous les membres du laboratoire de département de chimie.*

Nous tenons à remercier tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation, nos collègues et toutes personnes qui nous ont aidés de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

T. Bochra

G. Chaima

H. Khawla

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut ;

Tous les mots ne sauraient, exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance.

Je dédie ce modeste travail ;

A mes très chers parents, 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.

*À mes chères sœurs : **Amina** et **Hadjer** et chers frères **Houssam**, **Merouane**, **Abd El Wahabe** et **Lokmane**, pour vos soutiens, vos compréhensions et vos encouragements, merci pour toutes.*

*À mes copinages dans cette étude **Khawla** et **Chaima** très heureux de travailler avec vous, merci pour tous les beaux que nous avons passés ensemble.*

*Aux meilleures amies : **Djamana**, **Somia**, **Sara**, **Khawla**, **Malika** et **Fatima**.*

À toute ma famille. À mes très chères amies.

À mes collègues de promotion de master en chimie pharmaceutiques 2022

Bohra

Dédicace

Que ce travail témoigne de mes respects :

*A mes parents (**Mohamed**, **Fatiha**) : Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

Je prie le bon Dieu de les bénir, De veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

*À mes chères sœurs (**Fadila**, **Chahira**, **Samiha**, **Linda** et **Chaima**) et mon frère (**Fateh**).*

*À la famille **Hamouche** et **Feniche**. Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.*

*À mes très chères et très fidèles amies (**Zaineb**, **Soumia Chahinez**, **Khawla**, **Djomana**, **Sara**, **Racha**, **Inaam** et **Amina**). À mon cher binome (**Bochra** et **Chaima**).*

À toutes mes amies et mes collègues.

À tous les étudiants de ma promotion. À tous ceux que j'aime et ceux que m'aiment.

Khawla

Dédicace

Au nom du tout puissant Allah

Je dédie ce travail

*A ma très chère mère et a mon cher père, je vous souhaite
une bonne sante, voici le fruit de vos sacrifices*

*A mes sœurs **Nadia, Hafida, Ratiba, Asia, Souad, Achouak et Alima***

*A mes frères **Tahar, Fatah et Walid***

A tout le membre de ma famille grande et petite.

*À mes amies **Sabrina, Khawla, Bouchra, Sara, Rania, Sabah,
Chaima, Lina, Lamya** je vous souhaite le bonheur et la réussite*

*À tous mes proches, mes camarades de promotion,
pharmaceutique (2022)*

A tous ceux que j'aime.

Chaima



Résumé

L'acide syringique (AS), un composé phénolique souvent présent dans les fruits et les légumes. Il montre un large éventail d'applications thérapeutiques dans la prévention du diabète, maladies cardiovasculaires, cancer, cérébral ischémie ; ainsi l'acide syringique possède une activité antioxydante, antiseptique, antinitrosante, antimicrobienne, anti-inflammatoires, antiendotoxique ...etc. De nos jours, les études portent sur l'utilisation de l'acide syringique comme alternatifs aux agents antimicrobiens, antinitrosantes, antioxydants et anti-inflammatoires pour leur incorporation dans la formulation des produits alimentaires et pharmaceutiques. Cependant, l'utilisation de l'acide syringique est généralement limitée en raison de leur faible stabilité.

L'objectif de notre travail a été d'encapsuler l'acide syringique dans des molécules cages, la β -cyclodextrine (β -CD) en vue de développer des systèmes naturels et éco-compatibles ayant des applications potentielles dans les domaines alimentaire et pharmaceutique. Quatre axes ont été abordés. Le premier axe a porté sur le développement des techniques modernes de l'extraction, l'isolément et l'identification de l'acide syringique dans certains fruits et légumes cultivés dans la région de M'sila et Biskra (sources naturelles d'AS), les trois variétés qui nous ont choisie sont : (la courge (*Cucurbita moschata*), le Radis (*Raphanus sativus* L.) et la datté Deglet-Nour (*Phoenix dactylifera*). Le deuxième axe a porté sur la préparation et la caractérisation des complexes d'inclusion β -CD/AS avec un rapport (1 :1). Le troisième axe a porté sur l'évaluation de l'effet de la β -CD sur les trois extraits et l'acide syringique. Le dernier axe a été orienté vers l'étude des activités anti-oxydante et anti-bactérienne des complexes d'inclusion des extraits (A, B et C) et l'AS libre et en complexe. Les résultats montrent que la β -CD sont capables d'encapsuler les trois extraits (A, B et C) et l'AS, augmenter leur stabilité. De plus, l'encapsulation a conservé les propriétés antioxydantes et antibactériennes les trois extraits (A, B et C) de l'AS. Les résultats de cette étude suggèrent que les complexes d'inclusion des trois extraits (A, B et C) et l'AS avec la β -CD peuvent être considérés comme outils prometteurs pour l'optimisation des formulations alimentaires et pharmaceutiques.

Mots Clés : Antioxydant, antinitrosant, acide syringique, β -cyclodextrin, acide phénolique, complexe d'inclusion, extraction, stabilisation.

الملخص :

حمض السيرنجيك ، مركب فينولي يوجد غالبًا في الفواكه والخضروات. يظهر مجموعة واسعة من التطبيقات العلاجية في الوقاية من مرض السكري وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان ونقص التروية الدماغية ، وبالتالي فإن حمض السيرنجيك يحتوي على مضادات الأكسدة والمطهرات ومضادات الميكروبات ومضادات الالتهابات ومضادات التسمم ... إلخ. في الوقت الحاضر ، تركز الدراسات على استخدام حمض السيرنجيك كبديل للعوامل المضادة للميكروبات ومضادات التآكل ومضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات لإدماجها في صياغة المنتجات الغذائية والصيدلانية. ومع ذلك ، فإن استخدام حمض السيرنجيك بشكل عام محدود بسبب استقراره الضعيف.

كان الهدف من عملنا هو تغليف حمض السيرنجيك في جزيئات التضمين بيتا-حلقي دكسترين ، من أجل تطوير أنظمة طبيعية ومتوافقة مع البيئة مع تطبيقات محتملة في المجالات الغذائية والصيدلانية. تم تناول أربعة محاور. ركز المحور الأول على تطوير التقنيات الحديثة لاستخراج، عزل والتعرف على حمض السرنجيك في بعض الفواكه والخضروات المزروعة في منطقة المسيلة وبسكرة (المصادر الطبيعية لحمض السيرنجيك) ، الأصناف الثلاثة التي اخترناها هي: (القرع (كوركوبيتا موسشانا (القرع المسكي)) والفجل (رافانوس ساتيفيس ل.) والتمر دقلة نور (فينيكس داكتيليفرا) ركز المحور الثاني على تحضير وتوصيف مجمعات تضمين حمض السيرنجيك / بيتا- حلقي الدكسترين بنسبة (1:1) ركز المحور الثالث على تقييم تأثير / بيتا- حلقي الدكسترين على المستخلصات الثلاثة وحمض السيرنجيك، أما المحور الأخير فقد تم توجيهه نحو دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادات الأكسدة. في المركب. تظهر النتائج أن بيتا- حلقي الدكسترين قادر على تغليف المستخلصات الثلاثة (أ، ب و ج) و حمض السيرنجيك، وزيادة ثباتها. بالإضافة إلى ذلك ، يحتفظ التضمين بخصائص مضادات الأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات الثلاثة (أ ، ب و ج) و حمض السيرنجيك. تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن مجمعات تضمين المستخلصات الثلاثة (أ و ب و ج) و حمض السيرنجيك مع بيتا-حلقي الدكسترين يمكن اعتبارها أدوات واعدة لتحسين المستحضرات الغذائية والصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة ، مضادات التآكل ، حمض الحقل ، بيتا حلقي الدكسترين حمض الفينول ، الاستخلاص ، الاستقرار.

Abstract

Syringic acid (SA), a phenolic compound often found in fruits and vegetables. It shows a wide range of therapeutic applications in the prevention of diabetes, cardiovascular disease, cancer, cerebral ischemia; thus syringic acid has antioxidant activity, antiseptic, antinitrosant, antimicrobial, anti-inflammatory, antiendotoxic, etc. Nowadays, studies focus on the use of syringic acid as an alternative to antimicrobial, antinitrosant, antioxidant and anti-inflammatory agents for their incorporation in the formulation of food and pharmaceutical products. However, the use of syringic acid is generally limited due to their poor stability.

The objective of our work was to encapsulate syringic acid in cage molecules, β -cyclodextrin (β -CD) in order to develop natural and eco-compatible systems with potential applications in the food and pharmaceutical fields. Four axes were addressed. The first axis focused on the development of modern techniques for the extraction, isolation and identification of syringic acid gives certain fruits and vegetables grown in the region of M'sila and Biskra (natural sources of AS), the three varieties that we chose are: (the squash (*Cucurbita moschata*), the Radish (*Raphanus sativus* L.) and the Deglet-Nour date (*Phoenix dactylifera*). The second axis focused on the preparation and characterization of the β -CD/AS inclusion complexes with a ratio (1:1). The third axis focused on the evaluation of the effect of β -CD on the three extracts and , syringic acid. The last axis was oriented towards the study of anti-oxidative and anti-bacterial inclusion complexes of the extracts (A, B and C) and the free AS and in complex. The results show that the β -CD are able to encapsulate the three extracts (A, B and C) and AS, increase their stability. In addition, the encapsulation retains the antioxidant and antibacterial properties of the three extracts (A, B and C) of SA. The results of this study suggest that the inclusion complexes of the three extracts (A, B and C) and AS with β -CD can be considered as promising tools for the optimization of food and pharmaceutical formulations.

Keywords: Antioxidant, antinitrosant, syringic acid, β -cyclodextrin, phenolic acid, inclusion complex, extraction, stabilisation.

Liste des abreviations:

AS: Acide syringique

AG: Acide Gallique

β -CD : β -Cyclodextrine

Cal : Calories

CCM : Chromatographie sur couche mince

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl

DMSO : Dimethyl sulfoxide

DO : densités optiques

EAG : Équivalent d'Acide Gallique

E. coli : Escherichia coli

ES : Extrait Sec

EGb : Extrait de Ginkgo biloba

HHDP : Hexahydroxydiphénique

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IR : Infra-Rouge

IRTF : infrarouge à transformée de Fourier

MO : Micro-Ondes

MH : Mueller- Hinton

pH : potentiel d'hydrogène

PF : Point de Fusion

R : Rendement

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TEAC: Total Equivalent Antioxidant Capacity

UV : Ultra-Violet

US : Ultrasons

UFC : Unité formant colonie

Listes des tableaux

Partie I : Étude Bibliographique

I.1	Composition de la courge dans 100g	14
I.2	Teneur en eau et en sucres de quelques variétés de dattes en %	18
I.3	Éléments nutritifs de <i>Raphanus sativus</i> L	22
I.4	Principes actifs de <i>Raphanus sativus</i> L	23
I.5	Activités biologiques de <i>Raphanus sativus</i> L	23
II.1	Principales classes des composés phénoliques	34
II.2	Principaux dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	36
II.3	Principaux acides hydroxycinnamiques	40
II.4	Différentes sous-classes des flavonoïdes	44
II.5	Activités pharmacologiques et biologiques de certaines classes de composés phénoliques	49

Partie II : Expérimental

I.1	Dosage des polyphénols totaux	79
I.2	Caractéristiques des cyclodextrines naturelles	82
II.1	Poids d'extrait et rendement correspondant des quatre méthodes d'extraction à partir de la courge musquée <i>Cucurbita moschata</i>	91
II.2	Poids d'extrait et rendement correspondant des quatre méthodes d'extraction à partir de la <i>Dates Deglet Nour Phoenix dactylifera</i>	92
II.3	Poids d'extrait et rendement correspondant des quatre méthodes d'extraction à partir de le Radis <i>Raphanus sativus</i> L.	93
II.4	Résultats du dosage des composés phénoliques après l'ajouté de réactif de Folin Ciocalteu de l'extrait de la courge (<i>Cucurbita moschata</i>) (A)	95
II.5	Résultats du dosage des composés phénoliques après l'ajouté de réactif de FolinCiocalteu de l'extrait de la Datte (<i>Phoenix dactylifera</i>) (B)	96
II.6	Résultats du dosage des composés phénoliques après l'ajouté de réactif de Folin Ciocalteu de l'extrait du radis (<i>Raphanus sativus</i> L.) (C)	96
II.7	Teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits des substances (A,B et C) (mg éq AG/g ES)	98
II.8	De calcul des pourcentages d'inhibition (<i>I</i> en %)	104
II.9	Les résultats des tests antimicrobiens des extraits extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion	106

Liste des figures

Partie I : Étude Bibliographique

I.1	Fruit de Courge(<i>cucurbitamoschata</i>)	11
I.2	Courge musquée en fleurs et Cucurbitamoschataen fruits	11
I.3	Courge en forme de poire (a) et courge en forme de potiron (b)	12
I.4	Différentes utilisations de la courge dans le domaine thérapeutique et biologique	15
I.5	Plante Phoenix dactylifera R (a) et datte entiere (a gauche) et coupe longitudinale (a droite)(b)	16
I.6	Plante de Radis (<i>Raphanussativus</i> L.) aspect des feuilles, des fleurs et des fruits	21
II.1	Stucture de base des polyphénols	33
II.2	Principales classe des polyphénols	35
II.3	Différentes sources naturelles d'acide syringique	37
II.4	Aperçu de la voie de biosynthèse de l'acide syringique chez les plantes	39
II.5	Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b)	40
II.6	Classification des tanins	41
II.7	Structure de tanins hydrolysables	41
II.8	Structure chimique des tannins condensés	42
II.9	Motif flavan (a) et flavon (b) et numérotation systématique	43
II.10	Structure générale des principales anthocyanidines	46
II.11	Proposition de réaction du radical X· avec l'acide syringique	48
II.12	Applications biomédicales de l'acide syringique	50
II.13	Applications industrielles des polyphénols	51
III.1	Schéma de l'extraction par macération	62
III.2	Représentation schématique d'un extracteur Soxhlet	63
III.3	Dispositifs à ultrasons: bac et sonde, respectivement	64
III.4	.Schéma de principe de micro-onde domestique et Dispositifs à microonde	64
III.5	Montage de l'extraction par liquide pressurisé	65

Partie II : Expérimental

Figure.I.1	Protocole général de l'extraction, de l'identification et de la caractérisation	72
Figure I.2	Extraction par macération	76
Figure I.3	Extraction au Soxhlet (Montage de Soxhlet)	77
Figure.I.4	Extraction assistée par ultrason	77
Figure I.5	Extraction assistée par micro-onde	78

Figure.I.6	Test positif de Folin	79
Figure.I.7	Représentation schématique des CDs (a) Structure chimique et (b) Structure 3D du CD (c) unité glycosidique	81
Figure.I.8	Structure tridimensionnelle des différentes cyclodextrines	82
Figure.I.9	Schéma général (3D) de la formation d'un complexe d'inclusion (1:1) entre une molécule hôte CD et une molécule invitée	83
Figure.I.10	Représentation (3D) des différentes stœchiométries des complexes d'inclusi	83
Figure.I.11	Réduction du radical DPPH par un antioxydant	86
Figure.II.1	Histogramme illustrant le taux de rendement en extraits de courge musquée <i>Cucurbita moschata</i> (en pourcentage de poids frais)	91
Figure.II.2	Histogramme illustrant le taux de rendement en extraits de <i>Dates Deglet Nour Phoenix dactylifera</i> (en pourcentage de poids frais)	92
Figure.II.3	Histogramme illustrant le taux de rendement en extraits de Radis <i>Raphanus sativus</i> L. (en pourcentage de poids frais)	93
Figure.II.4	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	97
Figure.II.5	Histogramme illustrant le teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits des substances (A,B et C) (mg éq AG/g ES)	98
Figure.II.6	Résultats de test négatif des flavonoïdes	99
Figure.II.7	Résultats de test négatif des tanins	99
Figure.II.8	Résultats de test négatif de l'anthocyane	100
Figure.II.9	Spectre d'absorption UV de comparaison entre les quatre fractions issu de l'extrait (A) de la courge (<i>Cucurbita moschata</i>)	101
Figure.II.10	Spectre d'absorption UV de comparaison entre les quatre fractions issues de l'extrait (B) de la datte (<i>Phoenix dactylifera</i>)	102
Figure.II.11	Spectre d'absorption UV de comparaison entre les quatre fractions issu de l'extrait (C) du radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)	102
Figure.II.12	Formation du complexe d'inclusion (AS : β -CD)	103
Figure.II.13	Pourcentage d'inhibition radical DPPH° par les extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion	105
Figure.II.14	Les CI ₅₀ des extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion	105

Table des matières

Remerciement	I
Dédicace.....	II
Résumé.....	V
الملخص	VI
Abstract	VII
Liste des abreviations	VIII
Listes des tableaux	IX
Liste des figures	X
Introduction Générale.....	- 1 -

Partie I :Étude Bibliographique

Chapitre I : Données Botaniques

I. Introduction.....	10
I.1.Courge (Cucurbita Moschata).....	10
I.1.1. Donnèes botaniques sur la courge (<i>Cucurbita moschata</i>).....	11
I.1.2. Classification botanique et phylogénétique de la courge [10] :	12
I.1.3. Composition chimique	12
I.1.3.1. Polyphénols et les acides polyphénoliques	12
I.1.3.2. Place des polyphénols dans la courge	13
I.1.3.3. Différents types de polyphénols.....	13
I.1.4. Utilisation.....	14
I.2. Datte Deglet-Nour (<i>Phoenix dactylifera</i>).....	15
I.2.1. Données botaniques sur la datte Deglet-Nour (<i>Phoenix dactylifera</i>).....	16
I.2.1.1. Systématique du <i>phœnix dactylifera</i> L	16
I.2.2. Variétés de dattes	16
I.2.3. Classification.....	17
I.2.4. Composition biochimique.....	17
I.2.4.1. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe " : Constituants majeurs	17
I.2.4.1.a. Eau :	17
I.2.4.1.b. Sucres:.....	17
I.2.5. Composition phytochimique	18
I.2.5.1. Composés phénoliques.....	18
I.2.5.2.1. Acides hydroxybenzoïques	19
I.2.5.2.2. Acides hydroxycinnamiques	19
I.2.6. Utilisation.....	20

I.3. Radis (<i>Raphanus sativus</i> L.)	20
I.3.1. Présentation.....	20
I.3.2. Origine et répartition du <i>Raphanus sativus</i> L.	20
I.3.2.1. Données botaniques sur le radis (<i>Raphanus sativus</i> L.).....	21
I.3.2.2. Systématique de <i>Raphanus sativus</i> L.....	21
I.3.3. Différentes variétés du radis	22
I.3.4. Valeur nutritionnelle	22
I.3.4.1. Principes actifs de <i>Raphanus sativus</i> L.....	22
I.3.5. Activités biologiques	23
I.3.5.1. Activité antioxydante	23
I.3.5.2. Autres activités biologiques	23
I.3.6. Conclusion	24
Références Bibliographiques	

Chapitre II: Polyphénols & Acides Phénoliques, Structures et Propriété

II. Composés Polyphénols & Acides Phénoliques	33
II.1. Définition et importance pratique.....	33
II.2. Principales classes de composés phénoliques.....	33
II.3. Composés polyphénolique non flavonoïdiques.....	36
II.3.1. Acides phénoliques.....	36
II.3.1.1. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C ₆ -C ₁) :.....	36
II. 3.1.1.1. Acide syringique (AS).....	36
II.3.1.1.1.a. Activité antioxydante de l'acide syringique	37
II.3.1.1.1.b. Biosynthèse de l'acide syringique	38
II.3.1.2. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C ₆ -C ₃) :	39
II.3.2. Propriétés physicochimique.....	40
II.4. Alcools phénoliques	40
II .5. Tanins ou Polyphénols complexes.....	40
II.5.1. Tanins hydrolysables	41
II.5.2. Tanins condensés.....	42
II.6. Composés polyphénoliques flavonoïdiques	42
II.6. 1.Flavonoïdes.....	42
II.6.1.1. Principes types des flavonoïdes	43
II.6.1.1.a Anthocyanes ou anthocyanosides	46
II.8. Rôle et intérêt des composés phénoliques	46
II.8.1. Chez les végétaux	46
II.8.2. Chez les humains	47

II.8.3. Activités biologiques des composés phénoliques	47
II.8.3.1. Activité antioxydante.....	47
II.9. Conclusion.....	51

Références Bibliographiques

Chapitre III :Méthodes de l'extraction des composés phénoliques et Des acides phénoliques

III. Méthodes d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques des légumes et les fruits	61
III.1. Techniques conventionnelles d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques	61
III.1.1. Macération.....	61
III.1.2. Extraction par reflux et par Soxhlet	62
III.1.3. Extraction par méthodes d'extraction conventionnelles successives	63
III.2. Techniques vertes d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques	63
III.2.1. Extraction assistée par ultrasons (US).....	63
III.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (MO).....	64
III.2.3. Extraction en phase solide.....	65
III.2.4. Extraction accélérée par solvant.....	65
III.3. Conclusion.....	66

Référence Bibliographique

Partie 2 : Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Extraction, dosage et évaluation de l'activité biologique de la fraction isolée (Acide syringique) ...	71
I Matériel et Méthodes	73
I.1. Produits chimiques.....	73
I.1.1. Matériel végétal	73
I.1.2. Appareils.....	73
I.2.Méthode d'analyse	74
I.2.1. Chromatographies	74
I.2.2. Spectroscopie ultraviolet-visible (UV-visible)	74
I.2.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	74
I.2.4. Point de Fusion (PF)	75
I.4.Réacteur des Ultrasons (US).....	75
I.5. Divers.....	75
I.5.1. Programme Chem Draw Ultra	75
I.6. Optimisation des paramètres d'extraction des acides phénoliques & (fractionnement et isolement de l'acide syringique).....	75
I.6.1. Extraction par macération	76

I.6.2. Extraction au Soxhlet.....	76
I.6.3. Extraction assistée par ultrason (US).....	77
I.6. 4.Extraction assistée par micro-ondes (MO).....	77
I.7. Dosage des composés phénoliques	78
I.7.1. Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu.....	79
I.7.2. Dosage des flavonoïdes par la méthode d'AlCl ₃	79
I.8. Screening phytochimique.....	80
I.8.1. Recherche des tanins.....	80
I.8.2. Recherche des anthocyanes.....	80
I.8. Étude de la stabilité de la fraction isolée (Acide syringique) par la Formation de complexe d'inclusion (AS/ β -CD)	81
I.8.1. Généralité sur les Cyclodextrine (CDs)	81
I.8.2. Propriétés des cyclodexterines.....	82
I.8.3. Complexe d'inclusion	83
I.8.4. Application des CDs	83
I.8.5. Formation de complexe d'inclusion (AS/ β -CD).....	84
I.9. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de la fraction isolée d'acide Syringique (AS), Extrait (A), Extrait (B) et Extrait (C) libre et en complexe.....	84
I.9.1. Activités antibactériennes	84
I.9.2. Activités antioxydante	85
I.9.3. Analyse statistique	86
Référence Bibliographique	

Chpaitre II : Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion :.....	90
II.1. Procèdes d'extraction & le rendement d'extraction	90
II.1.1. Étude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques	90
II.1.1.1. Détermination du rendement	90
II.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin Ciocalteu.....	95
II.2.1. Teneur en composés phénoliques totaux	95
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	99
II.3. Séparation, fractionnement et isolement des composés.....	100
II.3.1. Séparation de l'acide syringique par de différents solvants	100
II.4. Étude de la stabilité de la polyphénol et la fraction isolée (Acide syringique) par la formation de complexe d'inclusion (AS : β -CD)	102
II.4.1. Formation du complexe d'inclusion (AS : β -CD) 1 :1	102
II.5. Résultats des tests biologiques.....	103

II.5.1. Activité antioxydante.....	103
II.5.1.1. Expression des résultats.....	103
II.5.1.1.a. Calcul des pourcentages d'inhibition.....	103
II.5.2. Activité antimicrobienne :	106
II.6. Conclusion.....	107

Références Bibliographiques

Conclusion générale



Introduction Générale



Les polyphénols sont les bons antioxydants présents dans les fruits et légumes. Parmi les polyphénols (flavonoïdes, stilbènes, lignanes, tanins, coumarines et acides phénoliques), les acides phénoliques sont des constituants majeurs du règne végétal, qui partage des caractéristiques structurales similaires ainsi que des groupes fonctionnels [1].

Le potentiel antioxydant des composés naturels confère ses activités thérapeutiques pour une grande variété de maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, les maladies du foie, le diabète et les troubles neurodégénératifs [2-5]. Il y a eu un intérêt public et scientifique accru pour l'utilisation d'antioxydants naturels au lieu d'agents synthétiques [6-8]. La diversité structurale des antioxydants confère certaines propriétés telles que les agents réducteurs, les chélateurs de métaux, les piègeurs de radicaux libres, les modulateurs enzymatiques et les régulateurs de diverses protéines et facteurs de transcription [9].

L'acide syringique est présent dans de nombreux fruits et/ou légumes tel que : les olives, les dattes, les citrouilles, le miel et certaines épices [10], le palmier acai [11]. On le trouve à de plus fortes concentrations dans les baies bleues comme les myrtilles ou les raisins rouges [12] et d'autres plantes.

Ces légumes et fruits que nous avons choisis sont très riches en acides phénoliques en particulier l'acide syringique. La courge (*Cucurbita moschata*) possède plusieurs propriétés physiologiques bénéfiques ; d'une activité immunologique et d'autres activités pharmacologiques telles que les propriétés protectrices du foie, anti-cancérogènes, anti-microbiennes, anti-oxydantes et anti-inflammatoires [13].

Le radis (*Raphanus sativus*. L.) est un légume très facile et rapide à cultiver, par le biais duquel on initie souvent les enfants au jardinage. Connue pour ses courtes périodes de

plantation [14]. La partie la plus consommée est la racine. Les racines gonflées et les feuilles vertes sont consommées de différentes façons : cuites, crues, marinées et séchées [15,16]. Le radis (*Raphanus sativus*. L.) est riche en fibres, le radis facilite le transit intestinal. Comme les autres légumes crucifères, le radis contribue à la prévention du cancer, notamment de l'estomac et du colon [16], et aussi utilisé comme anti-diabétiques [17]. Appliqués comme cataplasme sur les articulations douloureuses, ils augmentent le flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines [17].

La datte *Deglet-Nour* (*Phoenix dactylifera*) est le fruit du palmier dattier, produit dans les régions sahariens et considérés comme un aliment de grande importance pour la population habitant ces régions [18-20]. La variété *Deglet Nour* pour sa haute qualité nutritionnelle et son appréciation à travers le monde est la plus commercialisée à l'échelle nationale et internationale.

L'acide syringique présente des propriétés utiles dans le domaine pharmaceutiques telles qu'antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire, anticancéreux et antidiabétique [21]. Parallèlement à l'utilisation clinique, il a une plus grande importance dans le domaine industriel. Le présent mémoire met à jour les propriétés thérapeutiques de l'acide syringique et fournit ses sources, sa chimie, sa biosynthèse, son mécanisme d'action moléculaire dans diverses maladies.

L'extraction de l'acide syringique consiste à séparer les composés phytochimiques d'un organisme végétal à l'aide de solvants sélectifs et selon des procédures standards [22], L'extraction des produits naturels remontent aux civilisations antiques. Aujourd'hui, il n'existe pas un seul processus de production dans les industries pharmaceutiques de l'alimentation, de la pharmacie, des cosmétiques et de la synthèse organique qui ne fassent pas appel à des procédés d'extraction [23].

D'après la littérature, il existe beaucoup de travaux basés sur les techniques de l'extraction solide-liquide et de l'indentification ont été développées ces dernières années, nous citons parmi les techniques qui ont été figuré : l'extraction conventionnelle par solvant (Macération classique) [24], sonication [25], l'extraction accélérée par solvants [26,27], l'extraction assistée par ultrasons [28,29], l'extraction conventionnelle par reflux et par Soxhlet [30,31], l'extraction assistée par micro-ondes comme source de chauffage de la solution solvant-matrice [32,33], l'extraction par fluide pressurisé [34] l'extraction par eau sous-critique [35], l'extraction par CO₂ supercritique [36] et l'extraction assistée par champ électrique pulsé [37] étaient l'extraction sans et/ou à faible ce sont des méthodes moins coûteux et respectueux de l'environnement, une efficacité élevée pendant l'extraction, réduire

le temps et un rendement acceptable [38]. Certains auteurs se sont intéressés aux méthodes d'extraction par des techniques dites conventionnelles et non conventionnelles basées sur des nouvelles technologies d'extraction dites vertes. Ces techniques sont utilisées pour intensifier l'opération d'extraction et améliorer le rendement.

Les objectifs exposés le choix des méthodes de l'extraction et de l'isolement de l'acide syringique, afin de choisir le meilleur procédé qui rend l'extraction plus efficace, au moindre coût, au moindre risque, et avec de bons rendements. Cependant, les acides phénoliques en particulier l'acide syringique (AS) souffrent d'une très faible solubilité dans la phase aqueuse ; de plus, ce composé est oxydable et sensible aux agressions du milieu extérieur tel que : (la lumière, le pH, la température, la nature de solvant, la présence d'enzyme, d'ions métalliques...etc.) ce qui rend leur utilisation difficile et limitée pour cette raison, nous avons étudié la stabilité par l'ajout d'un stabilisant.

Parmi les stabilisants qui existent d'après la littérature, nous avons choisi la β -cyclodextrine (β -CD), c'est une molécule naturelle, hydrosoluble [39], biocompatible [40], biodégradable [41] et non toxique permettant ainsi leurs utilisations dans des domaines allant de la pharmaceutique [42] à la médecine [43] et l'agriculture [44]. La β -CD est déjà largement utilisée dans le milieu pharmaceutique, principalement comme adjuvant de solubilisation pour augmenter la stabilité améliorée et/ou la solubilité [45,46] ensuite elle peut protéger de la photodégradation de certains principes actifs [47].

Ce travail s'articule sur deux grandes parties : Nous aborderons dans la première partie une étude bibliographique qui est subdivisée en trois chapitres : Nous présentons dans le premier chapitre une description botanique, et phytochimique de la courge (*Cucurbita moschata*), la datte *Deglet-Nour* (*Phoenix dactylifera*) et le Radis (*Raphanus sativus L.*), ainsi que les données justifiant le choix porté à l'étude de ces légumes et fruits. Le deuxième chapitre comporte un bref aperçu sur l'étude bibliographique : polyphénols et acides phénoliques, structures et propriétés. Dans le troisième chapitre, nous présentons une étude bibliographique sur les méthodes de l'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques. La deuxième partie est consacrée aux résultats expérimentaux et à l'exposition de l'ensemble des discussions. Elle sera subdivisée en deux chapitres : Le premier chapitre, regroupe les méthodes de l'extraction et/ou l'isolement, le dosage des composés phénoliques et la formation de complexe d'inclusion entre la fraction isolée l'acide syringique (AS/ β -CD) & l'étude de la stabilité de la fraction isolée (AS) et l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'acide syringique et leur complexe. À la fin du travail, une discussion générale confronte les résultats obtenus avec ceux de la littérature envisageable du procédé

Introduction Générale

proposé sont rassemblées dans le deuxième chapitre. Nous terminerons par une conclusion à ce travail.

Références Bibliographique

- [1]. Robbins R.J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:2866–2887.
- [2]. Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Ehlenfeldt M., Kalt W., Krewer G., C.M. Mainland, (1998) . Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species, *J Agr Food Chem*. 46: 2686–2693.
- [3]. Kayahara H., Miao Z., Fujiwara G. (1999). Synthesis and biological activities of ferulic acid derivatives, *Anticancer Res*. 19: 3763–3768.
- [4]. Kim H.K., Jeong T.S., Lee M.K., Park Y.B., Choi M.S. (2003). Lipid lowering efficacy of hesperidin metabolites in high-cholesterol fed rats, *Clin. Chim. Acta*. 327:129–137.
- [5]. Soobrattee M.A., Neergheen V.S., Luximonramma A., Aruoma O.I., Bahorun T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions, *Mutat. Res*. 579 (2005) 200–213.
- [6]. Ito N., Fukushima S., Hasegawa A., Shibata M., Ogiso T. (1983). Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats, *J. Natl. Cancer Inst*. 70:343–347.
- [7]. Würtzen G. (1990). Shortcomings of current strategy for toxicity testing of food chemicals: antioxidants, *Food Chem.Toxicol*. 28: 743–745.
- [8]. Osawa T., Namiki M., Kawakishi S. (1990). Role of dietary antioxidants in protection against oxidative damage, *BasicLife Sci*. 52: 139–153.
- [9]. Cheemanapalli S., Mopuri R., Golla R., Anuradha C.M., Chitta S .K. (2018). Syringic acid (SA)- A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance , *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 108,. 547-557.
- [10]. Pacheco-Palencia L.A., Mertens-Talcott S., Talcott S.T. (2008). Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Acai (*Euterpe oleracea* Mart.), *J Agric Food Chem*. 56: 4631–4636.
- [11]. John M. P. (2008). Grapes and Human Health: A Perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16): 6777-6784
- [12]. Kiran P., Denni M., Daniel M. (2014). Antidiabetic principles, phospholipids and fixed oil of kodo millet (*Paspalum scrobiculatum* Linn.), *Ind J Appl Res*. 4: 13–15.
- [13]. De Escalada Pla M.F., Carmen A.C., Gerschenson L.N., Rojas A M. (2009). Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) mesocarp tissue as a food matrix for supplying iron in a food product. *Journal of Food Engineering* 92: 361–369.

Références Bibliographique

- [14]. Blažević I., Mastelić J. (2009). Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). *Food Chem* 113(1), 96–102
- [15]. Curtis I.S. (2003). The noble radish: past, present and future. *Trends in Plant Science* 8, 305–307
- [16]. Lee O.N., Park H.Y. (2017). Assessment of genetic diversity in cultivated radishes (*Raphanus sativus*.L) by agronomic traits and SSR markers. *Sci Horti* 223, 19-30.
- [17]. Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*. 41-54. 2^o édition, Lavoisier, Paris.
- [18]. Hannachi S., Khitri D., Benkhalifa A., Brac de Perrière R.A. (1998). Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. 225
- [19]. MA/DSAEE. (2001). *Statistiques agricoles : Superficies et productions*. Ministère de l’agriculture et du développement rural. Série A, 5-6.
- [20]. FAO. (2004). La production de palmier-dattier est confrontée à de graves difficultés: faibles rendements liés à l'insuffisance de la recherche, propagation de parasites et problèmes de commercialisation. Rome Italy.
- [21]. Cotoras M., Vivanco H., Melo R., Aguirre M., Silva E., Mendoza L. (2014). In *Vitro* and in *Vivo* Evaluation of the Antioxidant and Prooxidant Activity of Phenolic Compounds Obtained from Grape (*Vitis vinifera*) Pomace, *Molecules*. 19, 21154–21167.
- [22]. Hegde P.S., Anitha B., Chandra T.S. (2005). In *vivo* effect of whole grain flour of finger millet (*Eleusine coracana*) and kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*) on rat dermal wound healing, *Ind J Exp Biol*. 43 254–258.
- [23]. Chemat F., Rombaut N., Sicaire A.G., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A.S., Abert-Vian M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry* 34, 540–560.
- [24]. Goulas V., Manganaris G.A. (2012). Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*. 131, 39-47.
- [25]. Wang L., Weller C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17, 300-312.
- [26]. D. Grigonis P.R., Venskutonis B., Sivik M., Sandahl and Eskilsson C.S. (2005). Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3) 223-233.

Références Bibliographique

- [27]. Reighard T.S., Olesik S.V. (2006). Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26 (2&3), 1-39.
- [28]. Ma Y., Chen J., Liu D., Ye X. (2008). Effect of ultrasonic treatment on the total phenolic and antioxidant activity of extracts from citrus peel. *Journal of Food Sciences*. 73, 115-120
- [29]. Ma Y., Chen J., Liu D., Ye X. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16, 57-62.
- [30]. Handa S.S. (2008). Khanuja Suman Preet Singh, Longo Gennaro, Rakesh Dev Dutt. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International centre for science and high technology, Trieste, 21-25.
- [31]. Jones W.P., Kinghorn A.D. (2005) Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker SD, Latif Z, Gray AI (eds) Natural Products Isolation,. *Methods in Biotechnology*. Humana Press, Totowa, 20, 323-351.
- [32]. Inoue T., Tsubaki S., Ogawa B., Onishi K., Azuma J.I. (2010). Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*. 123, 542-547.
- [33]. Jawad A., Langrish, T.A.G. (2012). Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction. *Journal of Food Engineering* . 109, 162-174.
- [34]. Gourguillon L., Destandau É., Lobstein A., Lesellier E. (2016). Comparaison de différentes méthodes d'extraction d'acides dicaféoylquiniques à partir d'une plante halophile. *Comptes Rendus Chimie*, 19(9), 1-9.
- [35]. Prasad d.K. N., Hao J., Shi J., Liu T., Li J., Wei X.Y. (2010). Antioxidant and anticancer activities of high pressure-assisted extract of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10, 4, 413- 419.
- [36]. He J.Z., Shao P., Liu J.H., Ru Q.M. (2012). Supercritical carbon dioxide extraction of flavonoids from Pomelo (*Citrus grandis*.L.) Osbeck) peel and their antioxidant activity. *International Journal of Molecular Sciences*. 13, 13065-13078.
- [37]. Luengo E., Álvarez I., Raso J. (2013). Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. *Innovative Food Science Emerging Technologies*. 17, 79-84.

Références Bibliographique

- [38]. Al Jitan S., Alkhoori S.A., Yousef L.F. (2018). Phenolic Acids from Plants: Extraction and Application to Human Health, *Studies in Natural Products Chemistry*, 58, 389-417.
- [39]. Pagington J.S. (1987), β -Cyclodextrin: The success of molecular inclusion. *Chem. Britain* 455-458.
- [40]. M-C., Da Silva H.N., Da Silva R.D. C., Alves Leal Cruz S.K., Sagoe Amoah S.M. D. Lima S., M-V. Lia Fook. (2019), *Materials*. 12(11), 1807 – 1827.
- [41]. Chen X., J-H. (2020). Biodegradable and bioabsorbable sensors based on two-dimensional materials, *Ahn. J. Mater. Chem. B.*, 8, 1082 – 1092.
- [42]. Anderson J.W., Nicolosi R.J., Borzelleca J.F. (2005). Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food Chem. Toxicol.*, 43(2), 187 – 201.
- [43]. Zhang J., Xia W., Liu P., Cheng Q., ahirouT.T, Gu W., Bo L. Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications. *Marine drugs*. 2010, 8, 1962 – 1987
- [44]. Balogh L., Polyak A., Mathe D. (2008). Absorption, uptake and tissue affinity of high-molecular-weight hyaluronan after oral administration in rats and dogs. *J. Agric. Food Chem.* 56 (22), 10582 – 10593.
- [45]. Zidane S., Maiza A., Bouleghlem H., Fenet B., Chevalier Y. (2019). Inclusion complex of Tramadol in β -cyclodextrin enhances fluorescence by preventing self-quenching *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem*, 93, 253 – 264.
- [46]. Bouleghlem H., Aouf N-E., Zidane S., Cherifi H. (2020), Preparation, Characterization, and Biological Study of a New Inclusion Complex of 1, 3, 4, 6-Tetra-O-acetyl-2-deoxy-2-[benzyliden (amino)]-beta-D-glucosamine and beta-Cyclodextrin. *Ind J. Heterocycl. Chem.* 30(2), 171 – 179.
- [47]. Popielec A., Loftsson T. (2017). Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. *Int J Pharm.* 15 ;531(2):532–42.



Partie I
Étude Bibliographique



Chapitre I
Données Botaniques

1

Courge musquée
(Cucurbita moschata)



2

Datte Deglet-Nour
(Phoenix dactylifera)



3

Radis
(Raphanus sativus L.)



Nous présentons dans ce chapitre une description botanique, et phytochimique de la courge (*Cucurbita moschata*), la datte Deglet-Nour (*Phoenix dactylifera*) et le Radis (*Raphanus sativus* L.).

I. Introduction

Dans la communauté scientifique, certains légumes et fruits, ont suscité ces dernières décennies un intérêt croissant en raison de leurs précieuses propriétés biologiques. Ce sont des composés chimiques ayant une activité pharmacologique et thérapeutique. Ils sont généralement utilisés dans la découverte et la conception de médicaments. Les données disponibles indiquent que ces légumes et fruits ont des effets bénéfiques sur la santé humaine, notamment en ce qui concerne leur activité biologique.

Parmi les légumes et fruits associés à cet effet protecteur, les courges musquée (*Cucurbita Moschata*), les dattes Deglet-Nour (*Phoenix dactylifera*) et les radis (*Raphanus sativus*L) jouent un rôle important, elles sont une source de plusieurs molécules fonctionnelles et contiennent des substances dotées d'activités anti-oxydantes [1], anti-bactériennes[2] et anti-inflammatoires [3]...etc., qui protègent l'organisme des maladies dégénératives, pouvant réduire le risque de certains cancers et renforcent les défenses immunitaires... etc.

I.1.Courge (*Cucurbita Moschata*)

La courge est un fruit issu d'une plante herbacée, annuelle à longue tige très vigoureuse, rampante, qui s'accroche par des vrilles ramifiées à tout support. Ses feuilles sont grandes, cordiformes, à nervation palmée, formant cinq lobes arrondis avec de grandes fleurs (5 à 10 cm) pentamères, unisexuées, de couleur jaunepale [4]. Le fruit est une grosse baie volumineuse avec une chaire épaisse de couleur jaune orangé [5], renfermant de nombreuses graines dans une pulpe spongieuse. Les recherches actuelles ont montré que la courge est une bonne source d'antioxydants naturels et efficaces tels que les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, etc.), vitamines et caroténoïdes, pouvant intervenir dans le bon maintien de la santé grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires, anticancérigènes et antimutagènes [3].

La présence de nombreuses variétés et espèces du genre *Cucurbita*, nous a conduits à choisir une variété d'espèce (*Cucurbita moschata*), pour réaliser cette présente étude. (Figure.I.1).



Figure I. 1. Fruit de Courge (*Cucurbita moschata*)

I.1.1. Données botaniques sur la courge (*Cucurbita moschata*) (qui a fait l'objet de cette étude)

La courge musquée (*Cucurbita moschata*) appartient à la famille des cucurbitacées, sous-famille des *Cucurbitoideae*, tribu des *Cucurbiteae* [6]. Elle comporte 12 à 14 espèces, toutes originaires d'Amérique du nord (sud des États Unis), du Sud d'Amérique centrale et de l'Amérique du Sud (Nord, Pérou et du Mexique) [7]. Elle est largement cultivée dans tous les pays chauds et tempérés. C'est un genre d'une assez grande importance économique, *Cucurbitamoschata* comprend en effet la plupart des espèces cultivées sous le nom de courge [8], il s'élargit nettement au contact du fruit. Le fruit est souvent aplati et côtelé, ou bien cylindrique et allongé. Ce sont, en général, des variétés creuses. Les feuilles sont vertes marbrées de blanc, entières ou avec des lobes peu prononcés et présentent des zones décolorées argentées sur les nervures, ce qui les protègent contre le soleil.



Figure I. 2. Courge musquée en fleurs et *Cucurbita moschata* en fruits

Ce groupe est subdivisé en deux catégories :

- Les courges en forme de poire plus au moins allongées jusqu'à un mètre de long (*Butternut*). Les graines se trouvent dans la partie renflée ;
- Les courges en forme de potiron, très côtelées et légèrement aplaties, dont la chair est d'une couleur orange saturée (*courge musquée*) [9].

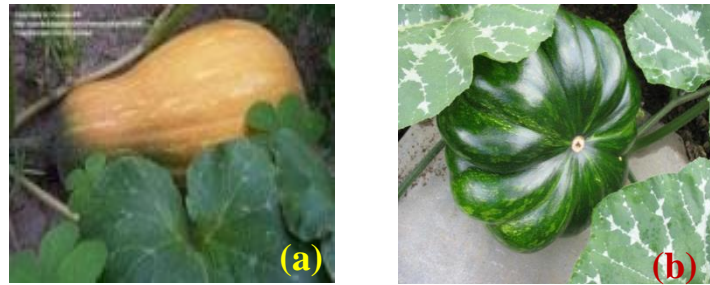


Figure I. 3. Courge en forme de poire (A) et Courge en forme de potiron (B)

I.1.2. Classification botanique et phylogénétique de la courge [10] :

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Violales*

Famille : *Cucurbitaceae*

Sous famille : *Cucurbitoidae*

Tribu : *Cucurbiteae*

Genre : *Cucurbita*

Nom binominal : *Cucurbita moschata*

Pour distinguer entre les espèces des courges, des critères d'identification ont été établis, voir la forme et la couleur des feuilles, pédoncule et graines (nombre et couleur) [11]. Certaines espèces de courges sont identifiées et cultivées en Algérie en se basant sur les critères (pédoncule, feuille et graines). En plus, leur culture est favorisée par les conditions climatiques et la nature des sols.

I.1.3. Composition chimique

L'utilisation des solvants à polarité différente, suivie par des étapes de fractionnements et l'emploi de différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits de légume. De nombreuses études chimiques ont révélé que le fruit de *Cucurbita moschata* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, ...etc.

I.1.3.1. Polyphénols et les acides polyphénoliques

Les légumes sont connus pour produire un grand nombre de composés à faible poids moléculaire dont la structure ne fut que récemment déterminée ; et ceci malgré leur exploitation et leur utilisation ancestrale, comme médicaments ou aliments [12]. Parmi ces

molécules, on a les polyphénols et acides phénoliques, qui sont un groupe de composés phytochimiques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les produits végétaux naturels [13]. L'expression est utilisée pour toute substance chimique possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (OH) [14,15].

I.1.3.2. Place des polyphénols dans la courge

Jusqu'à présent, la plupart des études réalisées sur la courge ont été consacrées à l'analyse des caroténoïdes, qui sont responsables de la couleur de ce fruit, mais peu de recherches ont été menées sur le profil phénolique. Plusieurs auteurs ont rapporté que la courge est une source très riche en polyphénols [14-19]. Parmi ces composées, les acides hydroxycinnamiques (acide *trans*-ferulique et *trans*-sinapique) et les flavonoïdes (quercétine, lutéoline et apigénine sous leurs formes glycosides) sont les plus représentés [15,19]. Le contenu en polyphénols varie selon la variété et la maturité du fruit. Le taux des flavonoïdes varie de 1 à 852 mg/kg dans les différents types de courge en fonction des facteurs génétiques de la plante et des conditions environnementales [20].

I.1.3.3. Différents types de polyphénols

Il existe plusieurs des composés phénoliques répertoriés en différentes classes dont les plus représentatives sont celles des acides phénoliques et des flavonoïdes [21].

- **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques les plus courants ne sont pas présents dans les courges à l'état libre tel que l'acide gallique, mais plutôt sous forme d'esters libre comme l'acide syringique et sous forme liée au glucose (acide quiniq ue) [13,22]. L'acide caféique est l'acide phénolique le plus abondant et existe principalement sous forme d'ester quinique (acide chlorogénique) que l'on retrouve principalement dans les myrtilles, les courges, les kiwis, les prunes, les pommes et le café [23-25].

- **Stilbenes**

Les stilbenes sont synthétisés par l'addition de 1 à 3 molécules de malonyl-CoA aux acides cinnamiques, qui dérivent de la voie de biosynthèse des phénylpropanes. La forme monoméristilbéne est, par définition, le 1,2-diphényléthène. Les stilbènes, quant à eux, représentent les dérivés hydroxylés ou autres du stilbéne et sont fréquemment retrouvés dans les plantes. Le regroupement des stilbènes avec les bibenzyles, qui ont aussi un squelette C6-C2-C6, forme la famille des stilbéoïdes [13], [26,27].

- **Lignanes**

Ces composés de haut poids moléculaire contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémi-cellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (Co-polymérisation) de trois alcools phénylpropéniques [28]. Leur synthèse est contrôlée enzymatiquement et donne des différentes liaisons entre les carbones des chaînes propane. Lorsque les unités phénylpropane sont liées par des liaisons C-C au niveau des positions 8 et 8', le composé est considéré comme unelignane, alors que si ces derniers sont liés autrement que par les liaisons C-C 8- 8', il s'agit d'un néolignane [29]. Ainsi, on trouve des néolignanes.etc [29,30]. Le **tableau.I.1.** Représente la composition de la courge.

Tableau I-1. Composition de la courge dans 100g [34]

Composition	Quantité
Eau (g)	91,5
Protéines (g)	1
Lipides	Traces
Glucides totaux (g)	6,5
Cendres (g)	0,8
Energie (kcal)	25

I.1.4. Utilisation

Les courges sont consommées généralement cuites à l'exception des vraies courges (*Cucurbita moschata*) qui peuvent être ingérées crues, leurs graines (rôties ou salées) et fleurs sont également comestibles. Dans toutes les anciennes civilisations, avant l'emploi de la poterie, les courges sont utilisées pour la fabrication des vases, récipients et cuillères ainsi pour les instruments de musique [9]. Dans le domaine agroalimentaire, de nombreux produits et préparations à base de courge sont commercialisés tels que les confitures, sirops et gelées et aussi utilisées comme additif dans divers produits destinés pour notre alimentation [31-33].

Sur le plan thérapeutique, plusieurs études ont montré que la courge présente de nombreuses propriétés biologiques : activité anti-diabétique, anti-oxydante, anti-bactérienne, anti-inflammatoires, anantihypertensive, anti-tumorale, immunomodulation, anti-hypocholestérolémiant, et activité anti-parasitaire intestinale [1-3], [35-36].

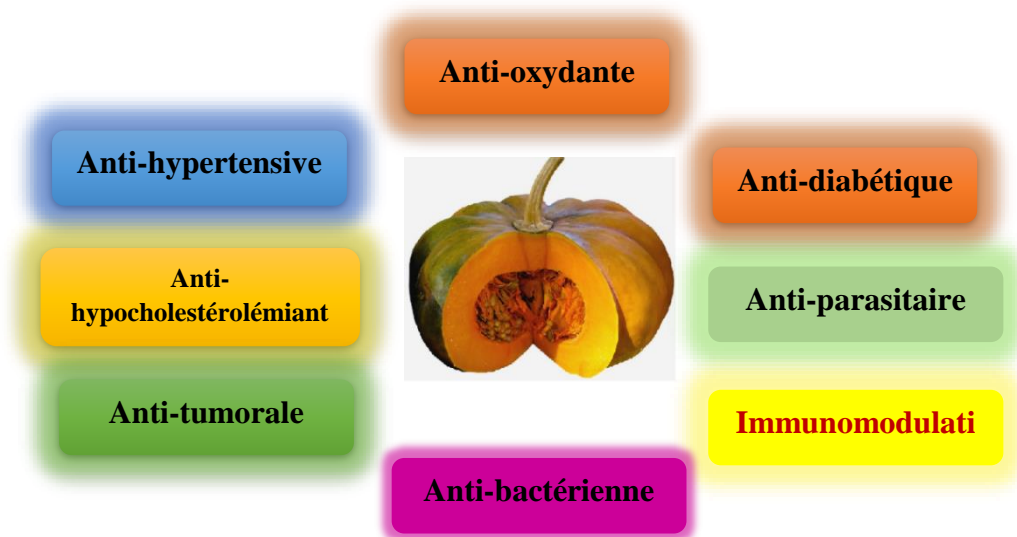


Figure I.4. Différentes utilisations de la courge dans le domaine thérapeutique et biologique

I.2. Dattes Deglet-Nour (*Phoenix dactylifera*)

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* par Linné en 1753. *Phoenix* dérivé de *phoinix*, nom du dattier chez les grecs de l'antiquité qui le considéraient comme un arbre des phéniciens ; *dactylifera* vient du latin *dactylus*, dérivant du grec *dactylos*, signifiant doigt (en raison de la forme du fruit), associé au mot latin *fero*, porté, en référence aux fruits.

La datte, fruit du palmier dattier, est une baie de forme allongée, oblongue ou arrondie. Elle est composée d'un noyau, ayant une consistance dure, entouré de chair. La partie comestible dite chair ou pulpe est constituée de :

- Un péricarpe ou enveloppe cellulosique fine dénommée peau ;
- Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue ;
- Un endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau [37] (Figure I.5).

Les dimensions de la datte sont très variables, de 2 à 8 cm de longueur et d'un poids de 2 à 8 grammes selon les variétés. Sa couleur va de blanc jaunâtre au noir passant par les couleurs ambre, rouges, brunes plus en moins foncées [38].

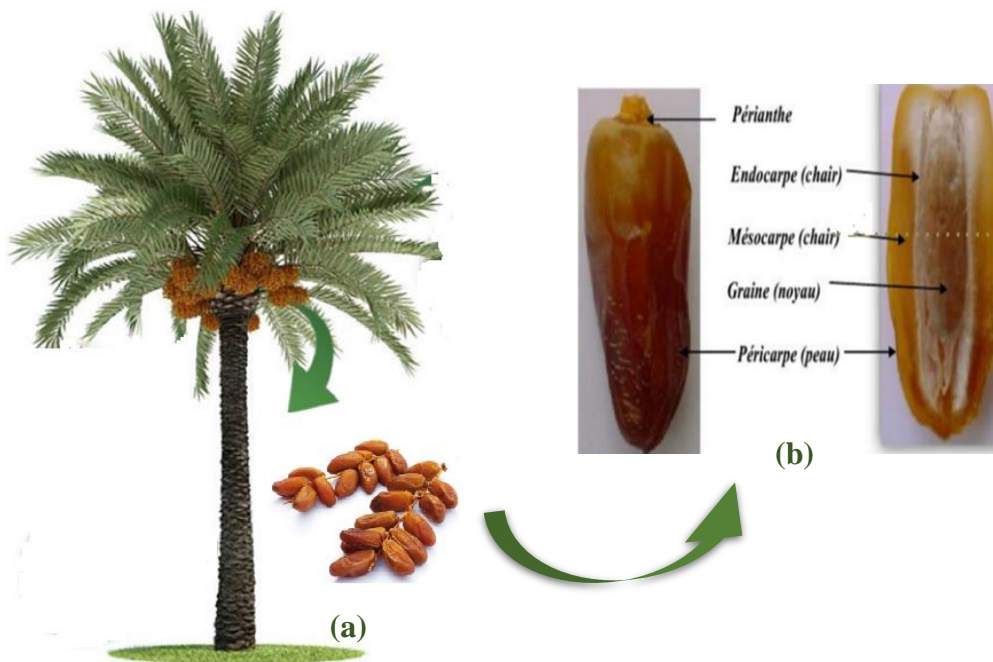


Figure I. 5. Plante *Phoenix dactylifera* L. (a) et datte entière (à gauche) et coupe longitudinale (à droite) (b)

I.2.1. Données botaniques sur la datte Deglet-Nour (*Phoenix dactylifera*)

La plante *Phoenix dactylifera* L. fait partie de la classe des Monocotylédones, d'une famille de plantes tropicales (*Palmoeou Arecaceae*), la mieux connue sur le plan systématique. Elle est représentée par 200 genres et 2700 espèces réparties en six sousfamilles. La sous famille des *Coryphoidées* [39].

I.2.1.1. Systématique du *phœnix dactyliféra* L

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous [38] [40,41] :

Groupe : *Spadiciflores*

Embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Monocotylédones*

Ordre : *Palmale*

Famille : *Palmacées*

Sous famille : *Coryphoidées*

Tribu : *Phoenicées*

Genre : *Phoenix*

Espèce : *Phoenix dactyliféra* L.

I.2.2. Variétés de dattes

Les variétés de dattes sont très nombreuses, seulement quelques-unes ont une importance commerciale. Elles se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions [38]. En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes [42].

I.2.3. Classification

La consistance de la datte est variable, ils sont répartis en trois catégories [37] :

- **Les dattes molles** : taux d'humidité supérieur ou égal à 30%, elles sont à base de sucres invertis (fructose, glucose) tel que Ghars...etc.



- **Les dattes demi-molles** : de 20 à 30% d'humidité, elles occupent une position intermédiaire à l'exception de la *Deglet-Nour*, datte à base de saccharose par excellence [43].



- **Les dattes sèches** : dures, avec moins de 20% d'humidité, riche en saccharose. Elles ont une texture farineuse telle que Meche-Degla, Degla Beida.....etc.



I.2.4. Composition biochimique

I.2.4.1. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe" : Constituants majeurs

I.2.4.1.a. Eau :

La teneur en eau est en fonction des variétés, du stade de maturation et du climat. Elle varie entre 8 et 30 % du poids de la chair fraîche avec une moyenne d'environ 19 % [44] (Tableau.I.2).

I.2.4.1.b. Sucres :

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement trois types : saccharose, fructose et glucose [44,45]. Ceci n'exclut

pas la présence d'autres sucres en faible proportionnels que : le galactose, la xylose et le sorbitol [46,47]. Lateneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 70 et 90 % du poids de la matière sèche (Tableau.I.2).

Tableau I- 2. Teneur en eau et en sucres de quelques variétés de dattes (en %)

Variété	Consistance	Teneur en eau	Sucres totaux*
Deglet-Nour	Dattedemi-molle	22.60	71.37
Mech-Degla	Datte sèche	13.70	80.07
Ghars	Datte molle	25.40	85.28

*Constituant par rapport à la matière sèche %

I.2.5. Composition phytochimique

Les métabolites secondaires font partie intégrante de l'intégrité structurelle et cellulaire d'un fruit [48] et ont gagné en importance pour leur potentiel de prévention du cancer, de prévention des maladies liées à l'alimentation et de minimisation des risques cardiovasculaires associés. Les dattes au stade Tamr se composent d'un péricarpe très fin contenant des pigments, d'un mésocarpe épais incolore et d'un endocarpe fin entourant une seule graine. De plus, les dattes sont une source de minéraux, notamment de potassium (864 mg/100 g), de calcium (70,7 mg/100 g), de sodium (32,9 mg/100 g), de fer (0,3-6,03 mg/100 g), de zinc (0,5 mg/100 g) et magnésium (64,2 mg/100 g) [49,50]. Ces micronutriments sont essentiels pour des fonctions physiologiques telles que la respiration (Na^+), le fonctionnement du système immunitaire (Zn) et la fatigue physique (Fe)[51]. Des analyses phytochimiques sur *Phoenixdactylifera* ont révélé la présence de divers composés phytochimiques, particulièrement des acides phénoliques, des flavonoïdes, des tanins, des anthocyanes et des caroténoïdes [52]. Les constituants actifs de la datte *Phoenix dactylifera* sont des composés volatils (alcools, esters, aldéhydes, lactones, cétones et terpénoïdes) [53,54], des acides phénoliques (dérivés d'acide cinnamique, acide caféique, acide vanillique protocatéchuïque) et des flavonoïdes (proanthocyanidines, glycosides de flavonoïdes et anthocyanes) [49] [55,56]. Le chapitre suivant résume les trois principaux composés phytochimiques caractérisés pour les dattes : les polyphénols, les caroténoïdes et les tanins.

I.2.5.1. Composés phénoliques

Les dattes sont une riche source de composés phénoliques qui varient selon les différentes variétés. Ils présentent généralement une diminution des composés phénoliques avec la maturation, mais une augmentation en réponse au stress comme les ecchymoses et les infections fongiques [57]. Les cultivars de palmier dattier présentent des niveaux et des profils

distincts des acides polyphénoliques tels que gallique, syringique, protocatéchique, *p*-hydroxybenzoïque, vanillique, caféique, syringique, *p*-coumarique, férulique, acide *O*-coumarique, acide 3-caféoylquinique et acide 3-*O*-caféoylshikimique [58-60]. Les polyphénols et les acides polyphénoliques caractéristiques des dattes sont en outre subdivisés en deux classes primaires d'acides hydroxybenzoïques et d'acides hydroxycinnamiques.

I.2.5.2.1. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés directement de l'acide benzoïque et les variations structurelles sont le résultat d'hydroxylations et de méthoxylations du cycle aromatique. Les acides hydroxybenzoïques les plus courants identifiés dans les dattes comprennent les acides *p*-hydroxybenzoïque, vanillique, syringique, protocatéchique et gallique. Les trois premiers acides sont des constituants de la lignine et on suppose généralement que les plantes dépourvues de lignine sont dépourvues de ces acides [48]. Les acides benzoïques sont souvent présents sous forme liée, ce qui les rend insolubles, car ils sont souvent liés de manière covalente à des composants structurels de la paroi cellulaire tels que la lignine et la cellulose [61]. De plus, les acides hydroxybenzoïques constituent le plus souvent des tanins hydrolysables ou des molécules simples en se combinant avec des sucres et des acides organiques [58]. Les acides *p*-hydroxybenzoïque et vanillique sont présents dans de nombreux fruits et se retrouvent en simples combinaisons avec le glucose dans les fruits rouges [62]. L'acide protocatéchique a également été détecté dans les dattes ainsi que dans un certain nombre de fruits rouges sous forme de glucosides [63,64].

I.2.5.2.2. Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques sont dérivés de l'acide cinnamique et sont présents sous des formes combinées de quatre molécules de base : les acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique. Les coumarines sont également dérivées des acides hydroxycinnamiques. Il existe de nombreuses coumarines connues dans la nature, et ce sont essentiellement des lactones dérivées d'acides *O*-hydroxycinnamiques par cyclisation et cyclisation entre le groupe *O*-hydroxy et carboxyle [48]. Les formes libres des acides hydroxycinnamiques sont présentes dans les fruits, y compris les dattes [51],[65] et existent sous la forme de deux types courants de dérivés solubles : une liaison ester entre le groupe carboxylique de l'acide phénolique et le groupement (OH) d'un composé organique, comme l'acide chlorogénique, ou une liaison avec les groupements phénoliques de la molécule comme l'acide *p*-coumarique-*O*-glucoside.

I.2.6. Utilisation

L'utilisation de dattes ou de concoctions de dattes dans l'application du traitement des maladies et des troubles découle de l'utilisation traditionnelle. La consommation quotidienne de 3 à 4 dattes est administrée pour augmenter la mémoire [66, 67]. Le café à partir de graines de dattes est un café à base de plantes consommé en Turquie à des fins d'amélioration de la mémoire [68]. À Maurice, une décoction d'une tasse de feuilles de dattes consommées pendant une semaine pour réduire l'hyperglycémie [69]. Les problèmes oculaires au Maroc sont traités par un mélange de khôl et de plantes médicinales dont *Piper nigrum*, *Phoenix dactylifera*, *Foeniculumvulgare* et *Neriumoleander* [70]. La section suivante met l'accent sur la littérature actuelle concernant les dattes au stade Tamr en examinant l'activité anti-inflammatoire [71,72], les activités anti-angiogéniques [73], anticancéreux [74], antioxydantes et antibactériennes [75-79].

I.3. Radis (*Raphanus sativus* L.)

I.3.1. Présentation

Le radis, est une plante annuelle ou bisannuelle de la famille des moutardes, cultivée pour sa grande racine pivotante succulente. Le radis commun est probablement d'origine asiatique ou méditerranéenne et est cultivé dans le monde entier. *Raphanus raphanistrum* L. est l'ancêtre plus que probable de l'espèce polymorphique *Raphanus sativus* [80]. Les romains disposaient de trois noms différents pour désigner le gros radis : armoracia, radix et *Raphanusarmoracia* dérive du grec. Mis à part l'espagnol *Remolacha* qui a pris le sens de betteraves, tous ses descendants sont des noms locaux qui désignent de gros radis. En dehors de l'Italien *ramolaccio* [81]. Le radis fait partie, de la famille des crucifères. Aujourd'hui cette famille est appelée Brassicacées, nom qui vient de brassica, c'est-à-dire du chou. Cela signifie que ses fleurs ont quatre pétales disposés en croix, forme typique de cette famille [80].

I.3.2. Origine et répartition du *Raphanus sativus* L.

L'aire de diversité maximale du radis se situe entre l'est de la méditerranée et la mer caspienne, qui est probablement le centre d'origine de cette espèce. Le radis était déjà cultivé dans les temps anciens dans la méditerranée, de la s'est diffusé en chine avant J-C et au japon après J-C. Sa variabilité diminue graduellement de la mer caspienne jusqu'à la chine, et encore plus vers le japon, c'est aussi une espèce cultivée depuis les temps anciens dans les oasis du Sahara et au Mali. Le radis peut maintenant se trouver comme plante cultivée à travers le

monde sous de nombreuses formes différentes, allant de petites plantes annuelles à des bisannuelles à grosses racines charnues [80].

I.3.2.1. Données botaniques sur le radis (*Raphanus sativus* L.)

Les radis cultivés sont considérés comme des plantes annuelles. Cependant, les grosses variétés tardives devraient plutôt être classées en bisannuelles. Les graines sont rougeâtres, arrondies ou un peu allongées, avec des faces ordinairement un peu aplaties. Les feuilles sont de forme obovales et peuvent être sinueuses, crênelées, dentées ou dentelées ; les feuilles situées à la périphérie sont à limbes entiers, les feuilles centrales peuvent être fortement découpées en lobes. Les tiges florales de 50 à 80 cm sont rameuses, dressées et creuses [82]. Les fleurs du radis, typique de celle des Brassicaceae sont constituées de 4 sépales, 4 pétales (blanc rosés), de 6 étamines et d'un ovaire formé de 2 carpelles, elles sont disposées en une panicule lâche aux extrémités des tiges ou hampes florales [83] (Figure.I.7)



Figure I. 6. Plante de radis (*raphanus sativus* L.) aspect des feuilles, des fleurs et des fruits

I.3.2.2. Systématique de *Raphanus sativus* L.

Selon Cronquist [84]. La classification du radis est la suivante :

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Dilleniidae*

Ordre : *Capparales*

Famille : *Brassicaceae*

Genre : *Raphanus*

Espèce : *Sativus*

I.3.3. Différentes variétés du radis

Il existe plusieurs variétés du radis : [85]

- **Le demi-long rouge à bout blanc** : Le plus courant. On distingue 2 aspects : à petit bout blanc et à grand bout blanc ;
- **Le rond rouge** : Moins cultivé, risque d'éclatement plus important, feuillage plus court ;
- **D'autres types sont parfois cultivés** : rond rouge à bout blanc (National), rond rose, cylindrique rose (Gaudry) ;
- **Radis d'hiver** : Radis noir très allongé et assez volumineux.

I.3.4. Valeur nutritionnelle

Parmi les constituants majeurs du radis, les glucides qui apportent l'essentiel des calories. Ils ont constitué en majorité par des sucres simples (glucose et fructose). Les protéines et les lipides (graisses) n'étant présents qu'à l'état de traces dans le radis, ce qui les place parmi les aliments les moins énergétiques. Les radis présentent aussi une haute densité en minéraux et oligo-éléments, cela leur confère d'intéressantes propriétés reminéralisantes ; il est considéré également comme une bonne source de vitamine C [86]. Le **tableau.I.3.** Représente les quantités de ces différents constituants dans 100g de radis et 100 calories :

Tableau I-3. Eléments nutritifs de *Raphanus sativus* L.[86]

	Quantité
Énergie	15 kcal/100 g de radis
Protéines et lipides	Des traces/100 g de radis
Glucides	2.5 à 3.5 g/100 g de radis
Potassium	1620 mg/100 cal
Calcium	133 mg /100 cal
Magnésium	47 mg / 100 cal
Fer	5.3 mg / 100 cal
Vitamine C	23 mg / 100 cal

*cal : calories

I.3.4.1. Principes actifs de *Raphanus sativus* L.

D'après les recherches qui ont été réalisés sur la composition chimique du radis, il a été démontré que le radis est très riche en principes actifs et en composés médicinaux importants. Quelques principes actifs trouvés dans le radis sont cités dans le tableau suivant (**Tableau.I.4**) :

Tableau I- 4.Principes actifs de *Raphanus sativus*L.

Principe actif	Référence
Acides phénoliques	[87]
Alcaloïdes et flavonoïdes	[88]
Anthocyanines	[89]
Glucosinolates	[90]
Isothiocyanates	[91]
Nitriles	[92]

I.3.5. Activités biologiques

La composition chimique varie en principes actifs cités précédemment, joue un rôle principal dans les activités biologiques de cette plante, parmi ces activités :

I.3.5.1. Activité antioxydante

Le radis renferme différents types d'antioxydants, composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres et préviendraient le développement de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement. Le radis rouge contient des anthocyanines, principalement les pelargodines, tandis que le radis blanc renferme du Kaempférol (un flavonol). Les différentes variétés de radis contiennent aussi la peroxydase, une enzyme antioxydante. Ces composés ont démontré *in vitro* et chez l'animal des effets prometteurs pour la prévention du cancer et du vieillissement [93,94].

I.3.5.2. Autres activités biologiques

A l'instar des activités biologiques du radis cité précédemment, d'autres activités ont été décrit par plusieurs auteurs, et ils sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau I-5. Activités biologiques de *Raphanus sativus*L.

Activité biologique	Référence
Antimicrobienne	[95]
Antiviral	[96]
Laxative	[97]
Anti-inflammatoire	[98]
Anticancer	[99]
Antidiabetic	[100]
Antimutagenic	[101]

I.3.6. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons passé à l'étude bibliographique et les données botaniques sur les fruits et légumes qui a fait l'objet de ce travail. Les fruits et les légumes sont utilisés depuis la préhistoire par l'homme pour des besoins nutritionnels et thérapeutiques et sont la source majeure de drogues à cause de leur richesse en métabolites secondaires. Notre choix s'est dirigé vers la *Cucurbita moschata*, la *Phoenix dactylifera* et la *Raphanus sativus* L.) qui fait partie de la famille des plantes médicinales, elle est connue pour ses propriétés thérapeutiques et biologiques. Sur la base de ces travaux et dans le domaine de recherche des produits (fruits et/ou légumes) plus riche en composés polyphénols (acide syringique), la citrouille contient une plus grande quantité de polyphénols totaux, avec 152.95 mg GAE/100g, et la datte enferme aussi une grande quantité de polyphénols, avec 99,3 mg de GAE/100g (polyphénols totaux), et le radis contient une moyenne quantité de polyphénols, avec 38.4mg de GAE/100g [102].

Références Bibliographiques

- [1]. Bastian C. (2006). Extraction, concentration et caractérisation des composés polyphénoliques du café vert. Thèse de doctorat, spécialité : chimie analytique. Haute école valaisanne), 49.
- [2]. Archibalt L., Phillips L., Monnet D., Mac Govan J.E., Tenover J.r.F. R., Gaynes b. (1997). Antimicrobial resistance in isolates from in patients and outpatients in the United States.Increasing importance of the intensive care unit.*Clinic. Infect. Dis*, 24: 211-215.
- [3]. Marek E., Radzanowska J., Danilcenko H., Jariene E., etCerniauskiene J. (2008). Quality of Pumpkin Cultivars in Relation to Sensory Characteristics.*Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*.36 (1): 73-79.
- [4]. Wichtl M., et Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques. EMI/Tec . Doc, Paris : 163–165.
- [5]. IswaldiIhsan., Ana María., Gómez-Caravaca., JesúsLozano-Sánchez., David Arráez-Román., Antonio Segura-Carretero., Alberto Fernández-Gutiérrez .(2013). Profiling of phenolic and other polar compounds in zucchini (*Cucurbitapepo*L) by reverse-phase high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Food Res. Int*,50 : 77-84.
- [6]. Priyanka Dash., Goutam Ghosh. (2016). Proteolytic and antioxidant activity of protein fractions of seeds of *Cucurbita moschata*.*Food Biosci*, 18: 1-8.
- [7]. Genevois C., Flores S. M., de Escaladapla. (2014). Effect of iron and ascorbic acid addition on dry infusion process and final color of pumpkin tissue. *LWT- Food sci. technol. V* 58: 563-570.
- [8]. QianZ.G. (2013). Cellulase-assisted extraction of polysaccharides from *Cucurbita moschata*and their antibacterial activity. *Carbohydr. Polym*,30:432-434.
- [9]. Polèse J.M. (2006). La culture des courges. Edition Artemis,10-76.
- [10]. Vanier P. (2007). La citrouille au fil du temps, Usages culinaires, Conservation, Jardinage biologique, Ecologie et environnement.
- [11]. Gagnon J., Riopel-Meunier J., et Riverain M. (2007). Encyclopédie libre: Courge.
- [12]. Garcia-Perez M.E. (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. Université Laval.
- [13]. Vauzour D. (2014). Effect of flavonoids on learning, memory and neurocognitive performance: relevance and potential implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *J. Sci. Food Agric*,94: 1042- 56.
- [14]. Bloor S.J. (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids.*Meth. Enzymol*, 335 :3-14.

Références Bibliographiques

- [15]. Bennetau-Pelissero C. (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cah.Nutr. Diet*, 49 : 151-159.
- [16]. Marin A., Ferreres F., Tomas-Barberan F. A., Gil M. I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.). *J.Agric. Food Chem.*, 52: 3861–3869.
- [17]. Materska M., Perucka I. (2005). Antioxidant Activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annum*L.). *J. Agric. Food Chem*, 53: 1750-1756.
- [18]. Wahyuni y., Ana-Rosa B., Enny S., Raoul J.B., Arnaud G.B. (2011). Metabolite biodiversity in pupmkin (*Cucurbita sp.*) fruits of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. *Phytochem*, 72 : 1358- 1370.
- [19]. Materska M. (2014). Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annum*L.). *J. Funct. Foods*, 7: 269–277.
- [20]. Lee Y., Howard L. R., Villalon B. (1995). Flavonoid and ascorbic acid content and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) cultivars. IFT Abstract, 55, 79.
- [21]. Robards K., Prenzler P.D., Tucke G., Swatsitang P., Glover W. (1995). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem*, 66: 401–436.
- [22]. Herrmann K. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 28: 315–347.
- [23]. Macheix J.J., Fleuriet A. (1998). Phenolic acids in fruits. In: Rice-Evans C.A, Packer L., eds. *Flavonoids in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, 35-59.
- [24]. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79(5): 727 – 747.
- [25]. Grigoras C.G. (2012). Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie detransformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse à l'Université d'Orléans.
- [26]. Shibusaki S., Samejima M., Doi S. (2004). Effects of stilbenes from bark of *Piceaglehnii*(Sieb.et Zucc) and their related compounds against feeding behaviour of *Reticulitermessperatus*(Kolbe). *J. Wood Sc*, 50: 439–444.
- [27]. Stevanovic T., Perrin D. (2009). Chimie du bois. Nancy, 241 : Presses polytechniques et universitaires romandes.
- [28]. Nkhili E. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de l'Université Cadi Ayyad, Mrrakach.

Références Bibliographiques

- [29]. Moss G.P. (2000). Nomenclature of lignans and neolignans. *Pure Appl. Chem.* 72, 1493-1523.
- [30]. AktasEdaToprak., Hasan Yildiz. (2011). Effects of electropulsation treatment on chlorophyll and carotenoid extraction yield from spinach and tomato. *J. Food Eng.* 106 : 339–346.
- [31]. Nawirska-Olszanska A., Anita B., Anna S.Ł., Alicja Z. K. (2014). Characteristics of organic acids in the fruit of different pumpkin species. *Food Chem*, 148 : 415–419.
- [32]. Nawirska A., Figiel A., Kucharska A.Z., Sokol-tetowska A., etBiesiada A. (2009). Drying kinetics and quality parameters of pumpkin slices dehydrated using different methods. *Journal of food engineering*, 94:14-20.
- [33]. Tamer C.E., Inceday B., Yonel S.P., Yonak S., etUtkuopur O. (2010). Evaluation of several quality criteria of low calorie pumpkin dessert. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1):76-80.
- [34]. Adrian J., Potus J., et Frangne R. (1995). La science alimentaire de A à Z. 2eme Ed. Tec et Doc. Lavoisier, 477- 482.
- [35]. Caili F., Huan S., et Quanhong L. (2006). A review on pharmacological Activities and Utilisation Technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61:73-80.
- [36]. Luo X.J., Peng J., Li Y.J. (2011). Recent advances in the study on capsaicinoids and capsaïcinoïdes. *Eur. J. Pharmacol.* 650 1–7.
- [37]. Espiard E. (2002). Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. Lavoisier, Paris, 147-155.
- [38]. Djerbi M. (1994). Précis de phéniculture, F.A.O, Rome, 23-191 .
- [39]. Riedacker A. (1990). Physiologie des arbres et arbustes en zone aride, Ed .J. Libbey, Paris, 323-327.
- [40]. Kwaasi A. (2003). Date palm and sandstorm-borne allergens. *ClinExp Allergy*, 33:419-426.
- [41]. Feldman M. (1976). Taxonomie classification and names of wild, cul and moderne cultivated wheats. *Evolution of plants*. Longman, London, 120-128.
- [42]. Hannachi S., Khitri D., Benkhalifa A., et Brac de Perrière R.A. (1998). Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Ed. Anep. Rouiba, Alger, 225 .
- [43]. Cook J. A., and Furr J.R. (1952). Sugars in the fruits of soft, semi-dry and dry commercial date varieties. *Date Growers Inst. Rept*, 29. 3-4.
- [44]. Estanove P. (1990). Note technique: Valorisation de la datte. In Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. *Ed. ciheam*, 301-318.

Références Bibliographiques

- [45]. Acourene s., Tama M., (1997). Physicochemical characterization of principal the date cultivars of the area of Zibans. *Rech. Agro*, Vol. 1, 59-66.
- [46]. Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- [47]. Siboukeur O. (1997). Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. *Memoire de Magister, INA. El-Harrach, Alger*, 106-112.
- [48]. Macheix J.J., and Fleuriet A.(1990). *Fruit phenolics*. CRC Press. Cambridge, UK.
- [49]. Al-Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M., Shahidi F.(2005). Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenixdactylifera L.*) varieties grown in Oman. *J Agric Food Chem*, 53,7592-7599.
- [50]. Al-Farsi M.A., and Lee., C.Y. (2008). Nutritional and functional properties of dates: a review. *Crit Rev Food Scinutr*, 48, 877-887.
- [51]. Vayalil P.K.(2012). Date fruits (*PhoenixdactyliferaL.*): an emerging medicinal food. *Crit Rev Food SciNutr*, 52, 249-271.
- [52]. Oni S.O., Adeosun A.M., Ladokun O.A., Ighodaro O.M., Oyedele M.O.(2015). Nutritional and phytochemical profile of Niger cultivated date palm (*Phoenixdactilyfera L.*). *J Food Nutr Sci*. 3, 114-118.
- [53]. Guido F., Behija S.E., Manel I., Nesrine Z., Ali F., Mohamed H., Nouredine H.A., Lotfi, A.(2011). Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) fruits at three maturation stages. *Food Chem*. 127, 1744-1754.
- [54]. El Arem A., Saafi E.B., Flamini G., Issaoui M., Ferchichi A., Hammami M., Helall A.N., Achour L.(2012). Volatile and nonvolatile chemical composition of some date fruits (*Phoenixdactylifera L.*) harvested at different stages of maturity. *Int J Food Sci Tech*. 47, 549-555.
- [55]. Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P.(2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem*. 89, 411-420.
- [56]. Hong Y.J., Tomas-Barberan F.A., Kader A.A., Mitchell A.E.(2006). The flavonoid glycosides and procyanidin composition of *Deglet-Noordates (Phoenix dactylifera)*.*J Agric Food Chem*. 54, 2405-2411.

Références Bibliographiques

- [57]. El-Hadrami A., Daayf F., El-Hadrami I. (2011). Secondary metabolites of date palm, in: Jain S.M., Al-Khayri J.M., Johnson D.V., (Eds.) Date Palm Biotechnology. Springer, Netherlands, 653-674.
- [58]. Harborne J. B., and Baxter H. (1993). Phytochemical dictionary. A Handbook Of Bioactive Compounds From Plants. Taylor & Francis Limited, Michigan, USA.
- [59]. Duke J.A. (2001). Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and other Economic Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [60]. Duke J. (1992). Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. Chemicals and their Biological Activities in: *Phyllanthusemblica L.* (Euphorbiaceae). Emblic, Myrobalan.
- [61]. Acosta-Estrada B.A., Gutiérrez-Urbe J.A., Serna-Saldívar S.O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.* 152, 46-55.
- [62]. Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66, 401-436.
- [63]. Waterhouse A.L., Ignelzi S., Shirley J.R. (2000). A comparison of methods for quantifying oligomeric proanthocyanidins from grape seed extracts. *Am. J. Enol. Vitic.* 51, 383-389.
- [64]. Hong Y.J., Tomas-Barberan F.A., Kader A.A., Mitchell A.E. (2006). The flavonoid glycosides and procyanidin composition of degletnoor dates (*Phoenix dactylifera*). *J Agric Food Chem.* 54, 2405-2411.
- [65]. Amira E.A., Behija S.E., Beligh M., Lamia L., Manel I., Mohamed H., Lotfi A. (2012). Effects of the ripening stage on phenolic profile, phytochemical composition and antioxidant activity of date palm fruit. *J Agric Food Chem.* 60, 10896-10902.
- [66]. Khalid H.S., El-Kamali H.H., Elmanan A.A. (2007). Trade of Sudanese natural medicinals and their role in human and wildlife health care. *Cropwatch Newsletter.* 10, 1-15.
- [67]. Daoud R.T.E. (2008). Studies on folkloric medicinal plants used by Palestinians in the Qalqilia district. An-Najah National University.
- [68]. Sekeroglu N., Senol F.S., Orhan I.E., Gulpinar A.R., Kartal M., Sener B. (2012). In vitro prospective effects of various traditional herbal coffees consumed in Anatolia linked to neurodegeneration. *Food Res. Int.* 45, 197-203.
- [69]. Mootosamy A., and Mahomoodally M.F. (2014). Ethnomedicinal application of native remedies used against diabetes and related complications in Mauritius. *J Ethnopharmacol.* 151, 413-444.

Références Bibliographiques

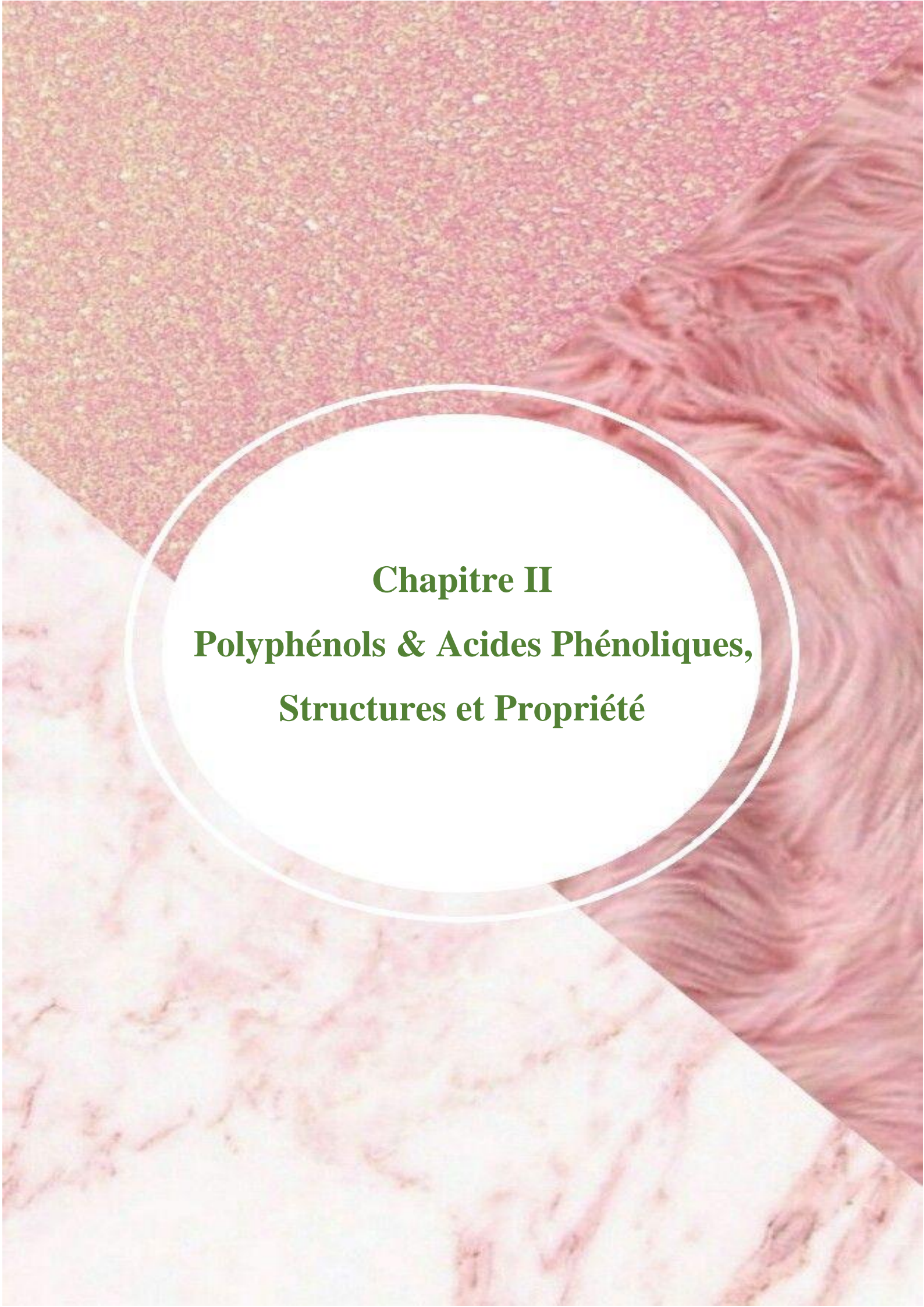
- [70]. Teixidor-Toneu I., Martin G.J., Ouhammou A., Puri R.K., Hawkins J.A.(2016). An ethnomedicinal survey of a Tashelhit-speaking community in the High Atlas, Morocco. *J Ethnopharmacol.* 188, 96-110.
- [71]. Shabani M., Zangiabadi N., Asadi-Shekaari M.(2013). Evidence for positive effects of date extract that attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic rat model of neuropathic pain. *Neurosci Med.* 4, 16–22.
- [72]. Ferjani M. H., Haouas Z., Zakhama A., Achour L.(2014). Hepatoprotective activity of date fruit extracts against dichloroacetic acid-induced liver damage in rats. *J Funct Foods.* 9, 119-130.
- [73]. Jaradat N.A., Shawahna R., Eid A.M., Al-Ramahi R., Asma M.K., Zaid A.N.(2016). Herbal remedies use by breast cancer patients in the West Bank of Palestine. *J Ethnopharmacol*, 178, 1-8.
- [74]. Khan F., Ahmed F., Pushparaj P.N., Abuzenadah A., Kumosani T. Barbour E., Al-Qahtani M., Gauthaman K.(2016). Ajwa date (*Phoenix dactylifera L.*) extract inhibits human breast adenocarcinoma (MCF7) cells in vitro by inducing apoptosis and cell cycle arrest. *Plosone.*11,.e0158963.
- [75] Daas Amieur S., Alloui-lombarkia O., bouhdjila F., Ayachi A., Hambaba L (2014) : étude de l'implication des composés phénolique des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne. *Phytothérapie* ,12(2) ,135-142
- [76]. El- Sohaimy S.A., Abdelwahab A.E., Brennan C.S., Aboul-enein A.M. (2015). Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian date palm (*Phoenix dactylifera L.*) fruits. *Aust J Basic Appl Sci*, 9, 141-147.
- [77]. Saha S., and Barnabas J. (2015). Enrichment of antimicrobial activity of *Phoenix dactylifera* fruit, using probiotics. *Int J Green Herb Chem*, 4, 9-20.
- [78]. Bammou M., Sellam K., Benlyas M., Alem C., Filali-Zegzouti Y.(2016). Evaluation of antioxidant, antihemolytic and antibacterial potential of six Moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera L.*) varieties. *J King Saud Uni-Sci.* 28, 136-142.
- [79]. Samad M.A., Hashim S.H., Simarani K., Yaacob J.S.(2016). Antibacterial properties and effects of fruit chilling and extract storage on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of four date palm (*Phoenix dactylifera*) cultivars. *Molecules.* 21, 419-433.
- [80]. Shipper R .R .(2004). *Raphanussativus L.*,(Internet) Fiche de protabase. Grubben G.J.H., Denton O.A. (Editeurs). *Prota (Plant Ressources of tropical Africa/Ressources végétales de l’Afrique tropical)*, wageningen, pays bas.

Références Bibliographiques

- [81]. Chauvet Michel.(2007). Petite flore méditerranéenne. Nos légumes et leurs cousins sauvages. Sommières, Romain Editions, 96-100.
- [82]. Schippers R.R. (2004). *Raphanussativus* L., Fiche de Protabase, Grubben, G.J.H., et Denton O.A. (Editeurs). Prota (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l’Afrique tropicale), Pays Bas
- [83]. M C., Gregor S.E. (1976). Insect pollination of crops plants. US department of agriculture, Agriculture Handbook Wo 496, Washington, 411.
- [84]. Cronqui, A. (1968). The evolution and classification of flowering plants. The evolution and classification of flowering plants.
- [85]. Mazollier C. (2009). Refbio maraichage PACA-variétés radis.
- [86]. Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. (2011). Nomenclature, taxonomie, synonymie, correspondances. Contribution : membres du réseau Tela Botanica. Bdnff v4.02.
- [87]. Stöhr H., Herrmann K. (1975). On the phenolic acids of vegetables. III. Hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids of root vegetables. *Z LebensmUntersForsch* 159(4), 218–224.
- [88]. Sham T.T., Yuen A.C. Y., N.g., Y.F., Chan C.O., Mok D.K.W., Chan S.W .(2013). A review of the phytochemistry and pharmacological activities of *Raphani Semen*.*Evid Based Complement Alternat Med* Article ID,636194.
- [89]. Gao R.C., Jing P., Ruan S.Y., Zhang Y.F., Zhao S.J., Cai Z., Qian B.J. (2014). Removal of off-flavours from radish (*Raphanus sativus*. L.) anthocyanin-rich pigments using chitosan and its mechanism(s).*Food Chem*.146, 423–428.
- [90]. Visentin M., Tava A., Iori R., Palmieri S. (1992). Isolation and identification of trans-4-(methylthio)-3-butenyl glucosinolate from radish roots (*Raphanus sativus* . L.). *J Agric Food Chem*40(9), 1687–1691.
- [91]. Elivra B., Tatiana B. (2012). Investigations of thioglycosides *Raphanussativus*.*Adv Res Sci Areas* 3(7), 1424–1425.
- [92]. San Juan M.E.C., Jumala R.S., Niasca K.H.G. (2012). Phytochemical screening, isolation and structure elucidation of the radish (*Raphanus sativus* Linn.) bulb ethanolic extract using gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). *Univ Immaculate Conception ResJ* 18(1), 237-247.
- [93]. Aoumeur H. (2012). L’effet stressant du plomb sur la croissance du radis (*Raphanus sativus* L.) réponses physiologiques, biochimiques et efficacité potentielle de phytoremédiation. Mémoire de magistère université oranalgérie.

Références Bibliographiques

- [94]. Mansfeld. S. (2011). Database of agriculture and Horticultural crops. *Raphanus sativus*. Mansfeld. IPK-gatersleben.
- [95]. Janjua S., Shahid M., Fakhir I.A. (2013). Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of root peel extract of *Raphanus sativus* L. varniger. *Adv Med Plant Res* 1(1), 1–7.
- [96]. Prahoveanu E., Eşanu V. (1987). Immunomodulation with natural products. I. Effect of an aqueous extract of *Raphanussativusniger* on experimental influenza infection in mice. *Virologie*, 38(2), 115–120.
- [97]. Dande P., Vaidya A., Arora P. (2014). Laxative activity of *Raphanussativus*L. leaf. *Asian J Pharm Clin Res* 7(2), 120–124.
- [98]. Kim H.J., Fonseca J.M., Choi J.H., Kubota C., Kwon D.Y. (2008). Salt in irrigation water affects the nutritional and visual properties of Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J Agric Food Chem*, 56, 3772–3776
- [99]. Kim K.H., Moon E.J., Kim S.Y., Choi S.U., Lee J.H., Lee K.R. (2014). 4-Methylthio-butanyl derivatives from the seeds of *Raphanussativus* and their biological evaluation on anti-inflammatory and antitumor activities. *J Ethnopharmacol*, 151 (1), 503–508.
- [100]. Shukla S., Chatterji S., Yadav D.K., Watal G. (2011). Antimicrobial efficacy of *Raphanussativus* root juice. *Int J Pharm Pharm.Sci*, 3, 89–92.
- [101]. Salah-Abbès J.B., Abbès S., Ouanes Z., Abdel-Wahhab M.A., Bacha H., Oueslati R. (2009). Isothiocyanate from the Tunisian radish (*Raphanus sativus*) prevents genotoxicity of Zearalenone in vivo and in vitro. *Mutat Res*, 677(1–2), 59–65.
- [102]. Bartosz K, Andrzej S.A, Gramza M. (2020). Antioxidant potential of phytochemicals in pumpkin varieties belonging to Cucurbitamoschata and Cucurbitapepo species Potencial antioxidante de los fitoquímicos en las variedades de calabaza pertenecientes a las especies Cucurbitamoschata y Cucurbita pepo. *Journal of Food*, 18(1), 472–484.



Chapitre II
Polyphénols & Acides Phénoliques,
Structures et Propriété

II. Composés Polyphénols & Acides Phénoliques

II.1. Définition et importance pratique

Les composés phénoliques sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales [1-3] ; ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés [4]. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols [5]. Ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux. Donc la désignation générale composés phénoliques concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques [6]. Le terme phénol englobe approximativement 10000 molécules bioactives identifiées [7,8]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (cycle benzénique) (Figure. II.1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétérosides [9]. Les composés phénoliques sont responsables à la fois de l'arôme, de la couleur et des propriétés antioxydantes des végétaux [10,11].

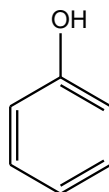


Figure II.1. Structure de base des polyphénols

Les composés phénoliques sont divisés en plusieurs catégories:

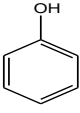
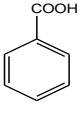
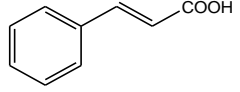
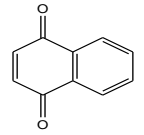
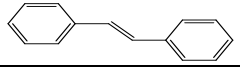
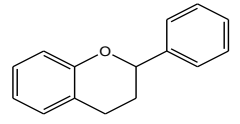
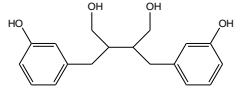
- Les acides phénoliques ;
- Les flavonoïdes ;
- Les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes ;
- Les lignanes avec les isoflavones sont nommé sphyto-oestrogènes [12].

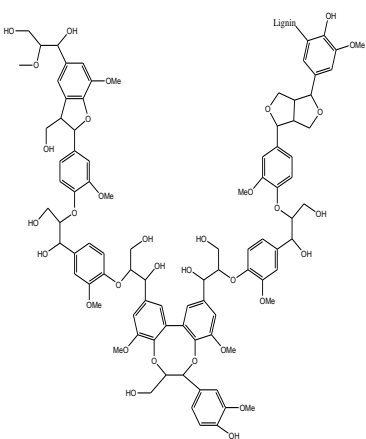
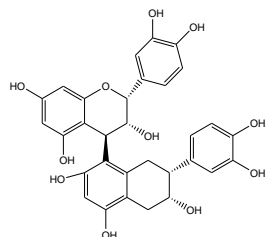
II.2. Principales classes de composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau . II.1) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylat ion et de méthylation,... etc.) [13]. Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines,...etc.) [14-16].

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C₆ aux flavonols en C₁₅ et à des molécules proches.

Tableau II. 1. Principales classes des composés phénoliques [13,15]

Squelette carboné	Classe	Structures de base	Exemple
C ₆	Phénols simples		Catéchol
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques		<i>p</i> -Hydroxybenzoïque
C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinnamique Coumarines		Acides caféique, Férulique Scopolétine, Esculétine
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones		Jugline
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbénes		Resvératrol
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols ; • Anthocyanes ; • Flavanols ; • Flavanones ; • Isoflavonoïdes 		Kaempférol, Quercétine Cyanidine, Pélagonidine Catéchine, Épicatéchine Naringénine Déidzéine
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes		Pinorésinol

<p>$(C_6-C_3)_n$</p>	<p>Lignanes</p>		<p>-----</p>
<p>$(C_{15})_n$</p>	<p>Tanins condensés</p>		<p>-----</p>

Les structures des composés phénoliques s'étendent sur des molécules simples telles que les acides phénoliques aux composés fortement polymérisés comme les proanthocyanidines (Figure.II. 2).

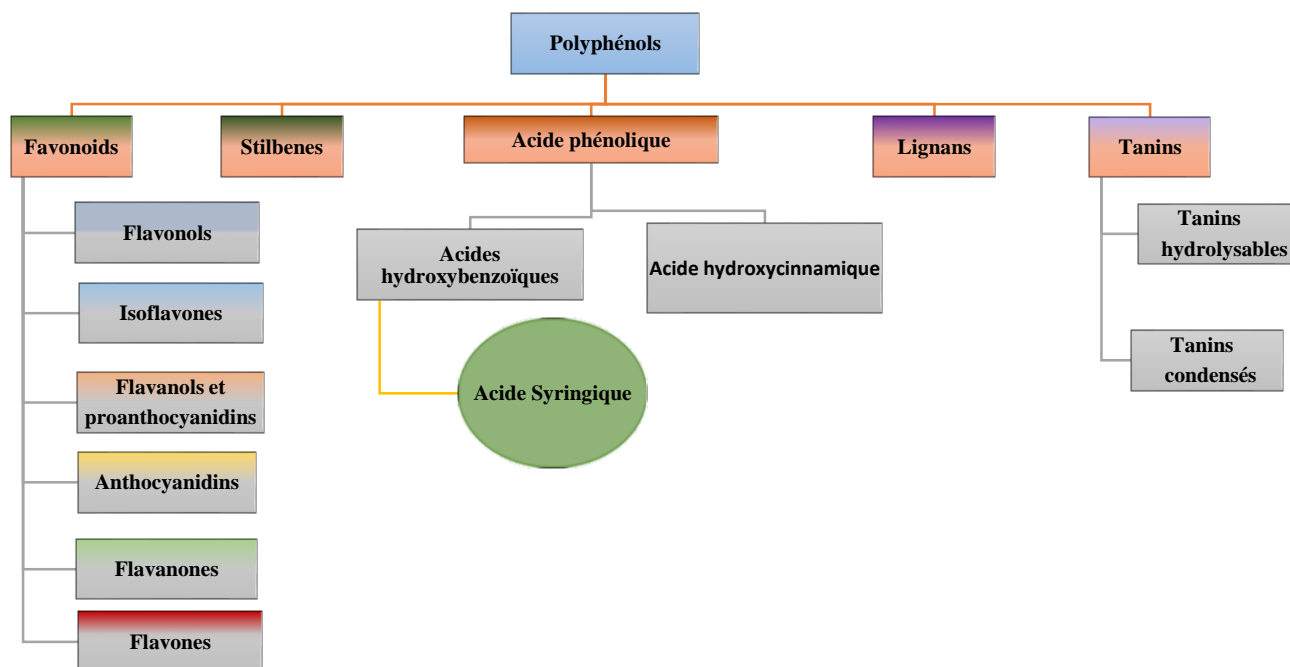


Figure II. 2. Principales classe des polyphénols [17]

II.3. Composés polyphénolique non flavonoidiques

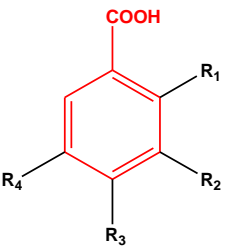
II.3.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique et ils sont représentés par deux sous-classes :

II.3.1.1. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C₆-C₁) :

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆-C₁. Ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes. Les acides hydroxybenzoïques (*p*-hydroxybenzoïques, protocatéchique, vanillique, gallique, syringique, salicyclique, gentisique, etc.) [19-21]. Les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides [22,23] (Tableau. II.2).

Tableau II. 2. Principaux derives de l'acide hydroxybenzoïque [18,19] [23]

Structure	R ₄	R ₃	R ₂	R ₁	Acide Hydroxybenzoïque
	H	H	H	H	Acide benzoïque (non phénolique)
	H	OH	H	H	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide Protocatechique
	H	OH	OCH ₃	H	Acide Vanillique
	OH	OH	OH	H	Acide Gallique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	Acide Syringique
	H	H	H	OH	Acide Salicylique
	OH	H	H	OH	Acide Gentisique

II. 3.1.1.1. Acide syringique (AS)

L'acide syringique est distribué dans une grande variété de produits végétaux (fruits et légumes). Dans le même temps, il possède ses dérivés naturels (Tableau.I.2) [18,19][23]. L'acide syringique est l'un des composés phénoliques abondants présents dans les olives, les dattes, les épices, la citrouille, les raisins [24], le palmier acaï (*Euterpe oleracea*) [25], le miel, le vin rouge, le radis (rouge, noir ou blanc) et vinaigre [26] ...etc. **Figure. II.2.**

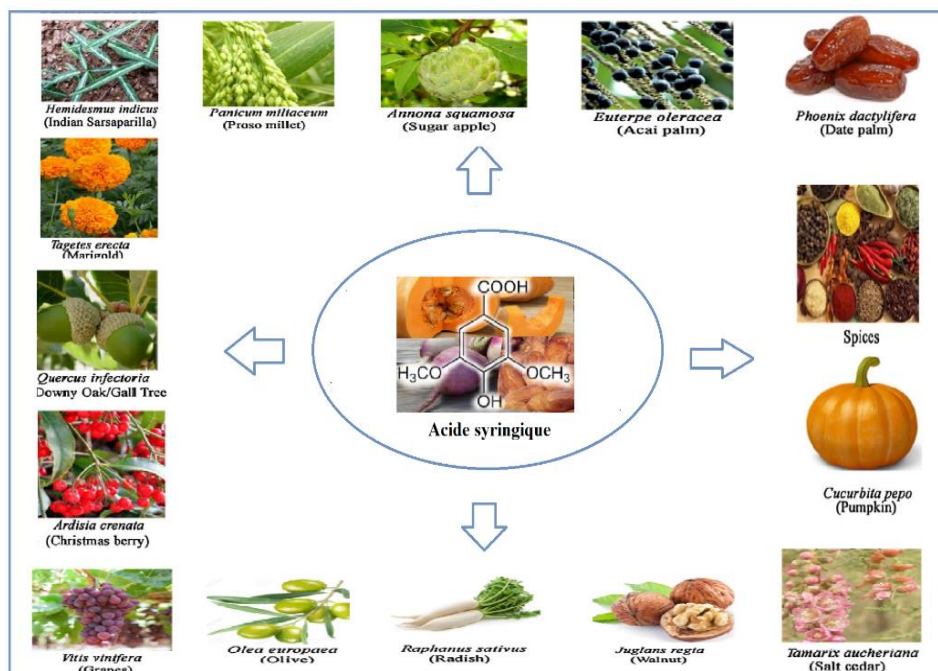


Figure.II. 3. Différentes sources naturelles d'acide syringique [27]

Diverses études ont montré que l'acide syringique présente des propriétés utiles dans le domaine biomédical telles qu'antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire, anti-cancéreux, anti-diabétique et protecteur du cœur, du foie et du cerveau [28]. Il a montré aussi d'effet protecteur dans d'autres pathologies, telle que l'activité neuroprotectrice, activité anti-endotoxique, cardioprotecteurs et hépatoprotecteurs [29]. De plus l'utilisation clinique, de l'acide syringique à une grande importance dans le domaine industriel pharmaceutique [30].

II.3.1.1.1.a. Activité antioxydante de l'acide syringique

L'activité de piégeage des radicaux libres de l'acide syringique et leurs dérivés dépend de la présence d'un certain nombre de fragments hydroxyle attachés au cycle aromatique de la molécule d'acide benzoïque. Il a plus d'activité de piégeage des radicaux libres que l'acide *p*-hydroxybenzoïque en raison de sa présence de deux fragments méthoxy attachés au cycle aromatique en positions 3 et 5 [31].

Rice-Evans ont rapporté que l'activité antioxydante totale des acides phénoliques était exprimée sous la forme de TEAC (*Total Equivalent Antioxidant Capacity*) et les composés phénoliques montrant TEAC dans l'ordre suivant: Acide Gallique > Acide *p*-Coumarique > Acide Férulique > Acide Vanillique > **Acide Syringique** > Acide Caféique > Acide *i*-Coumarique > Acide Protocatéchique > Acide Gentsique > Acide *O*-Coumarique > Acide Salicylique > Acide *p*-Hydroxybenzoïque [32].

II.3.1.1.1.b. Biosynthèse de l'acide syringique

L'acide syringique est synthétisé par une série de réactions enzymatiques via la voie de l'acide shikimique chez les plantes (**Figure. II.4**) [33]. Les composés phénoliques intermédiaires de la voie de l'acide shikimique sont l'acide protocatéchuique, l'acide gallique, l'acide quinique, etc [34].

La voie de l'acide shikimique implique la condensation de l'érythrose-4-phosphate et phosphoénolpyruvate [35]. Une série de réactions enzymatiques conduit à la formation d'acide shikimique, à partir duquel se forment des intermédiaires d'acide chorismique et d'acide préphénique par réaction de transamination [36].

Cependant la phénylalanine et le tryptophane sont des composants essentiels de l'alimentation des animaux, mais les animaux peuvent synthétiser la tyrosine en une seule étape à partir de la phénylalanine [37]. L'acide protocatéchuique et l'acide gallique sont synthétisés à partir de l'acide 3-déshydroshikimique par réaction d'aromatisation directe, bien qu'ils soient également formés à partir d'autres précurseurs tels que l'acide benzoïque et l'acide cinnamique [33]. La phénylalanine est le parent métabolique pour la synthèse de composés polyphénols courants tels que l'acide cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide 5-hydroxyférulique et l'acide sinapique [33]. L'acide syringique, l'acide vanillique et les acides 4-hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque, qui sont généralement dérivés des dérivés correspondants de l'acide cinnamique par les réactions enzymatiques de β -oxydation [35,38]. Le monolignol est le précurseur de la syringyl-lignine (une source de l'acide syringique) [27] [39-42], qui est le composant majeur des parois cellulaires secondaires des plantes.

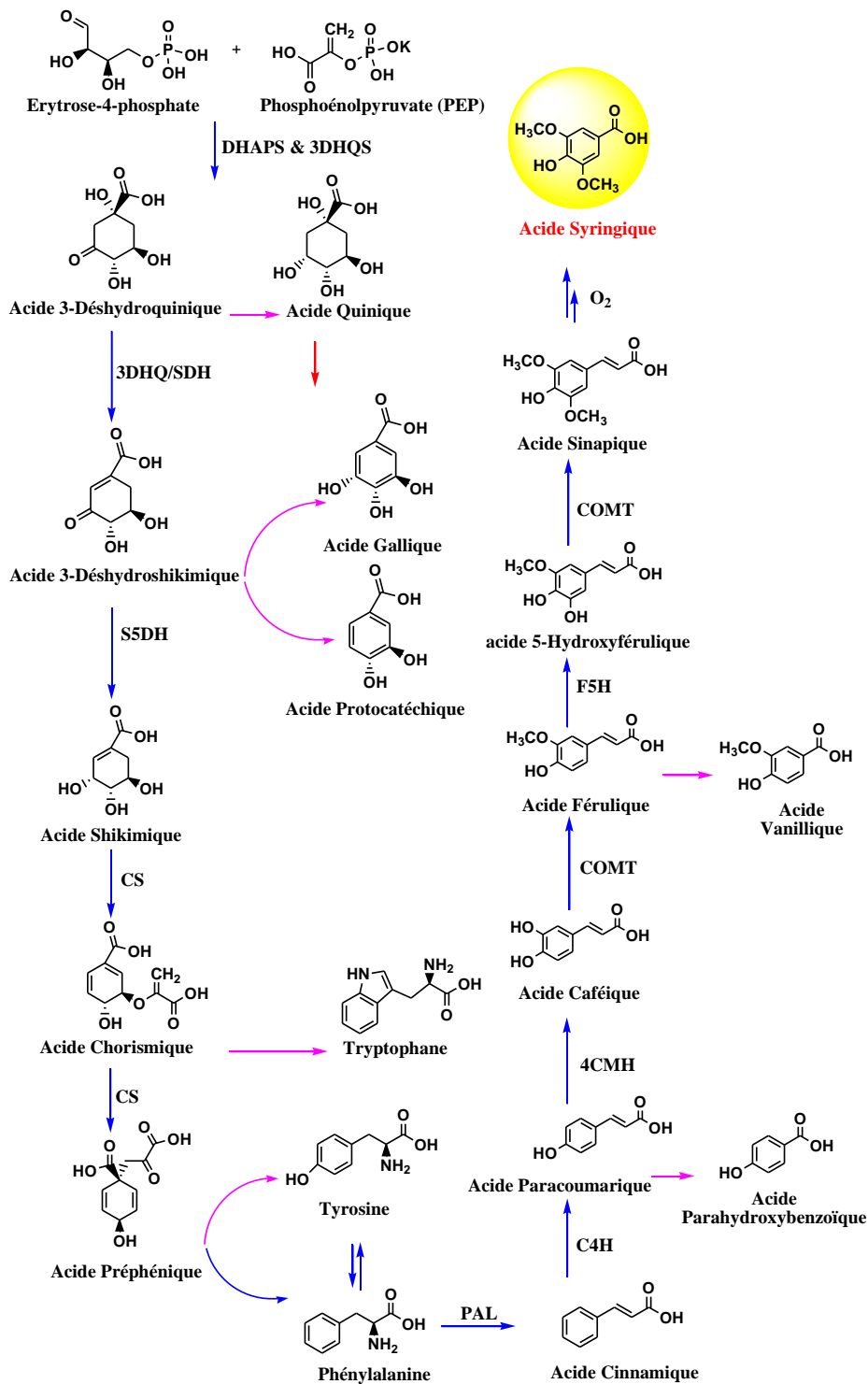


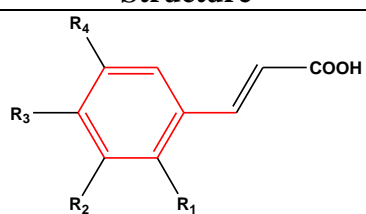
Figure II. 4. Aperçu de la voie de biosynthèse de l'acide syringique chez les plantes [32].

II.3.1.2. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C₆-C₃) :

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆-C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique [19] [43,44]. Les molécules de base de la série hydroxycinnamiques

L'acide *p*-coumarique (et ses isomères, les acides *O*- et *m*-coumariques), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique [45,45] (Tableau.II.3).

Tableau II.3. Principaux acides hydroxycinnamiques [19, 23]

Structure	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Acide Phénolique
	H	H	H	H	Acide cinnamique (non phénolique)
	H	OH	H	H	Acide <i>p</i> -Coumarique
	H	H	OH	OH	Acide Caféique
	H	H	OH	OCH ₃	Acide Férulique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide Sinapique

II.3.2. Propriétés physicochimique

- ✓ Les phénols sont solubles dans les solvants organiques polaires, dans les solutions des bases fortes (NaOH) et de carbonate de Na sous forme de phénates. Les formes hétérosidiques sont solubles dans l'eau ;
- ✓ Tous les phénols sont instables et sont facilement oxydables surtout en milieu alcalin. Ils présentent des propriétés réductrices surtout marqués chez les polyphénols ;
- ✓ Méthodes analytiques : CCM, HPLC...etc.

II.4. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenylethanol) (Figure.II.6) sont les principales molécules de cette classe [46,47].

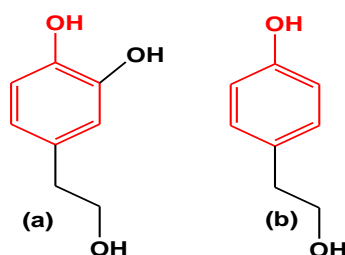


Figure II. 5. Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b)

Les alcools phénoliques sont des composés phytochimiques phénoliques reconnus comme de puissants antioxydants polyphénoliques [48].

II .5. Tanins ou Polyphénols complexes

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes

insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux [48]. On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique (**Figure.I.7**) :

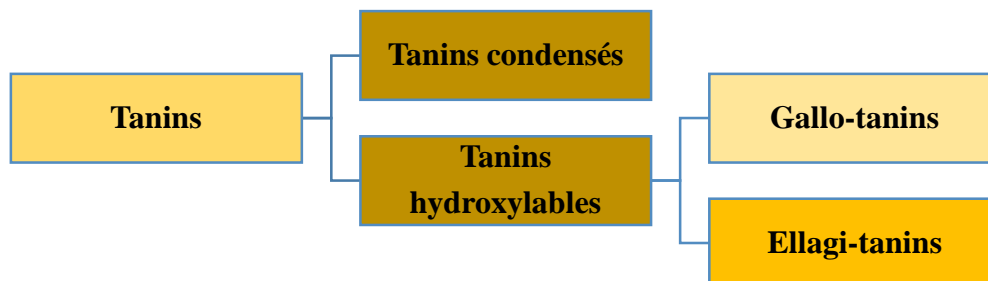


Figure II.6. Classification des tanins

II.5.1. Tanins hydrolysables

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) (Isoterchebuline (a), Terchebuline (b) 4,6-*O*-Isoterchebulinoyl-*D*-glucose (C)) (**Figure. II.8**). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude [49].

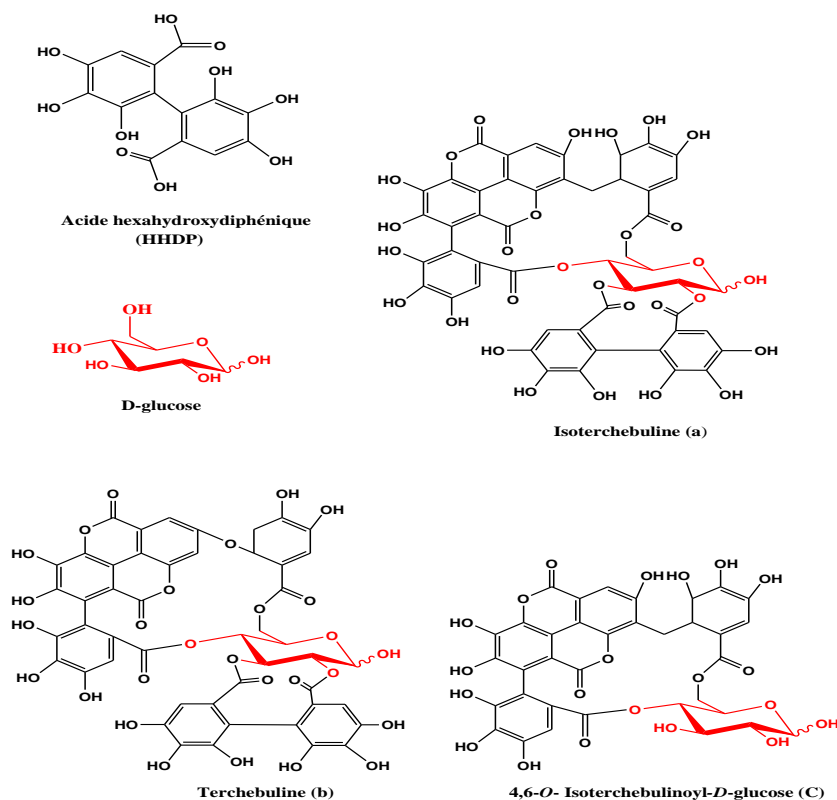


Figure II. 7. Structure de tanins hydrolysables

II.5.2. Tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés, sont des polyphénols de masse molaire élevées. Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de types A [50,51]. La Figure. II.9 ci-dessus représenté le modèle de structure d'un tanin de type B ((a) R : H : Procyaïdine, (b) R : OH : Prodelphinidine).

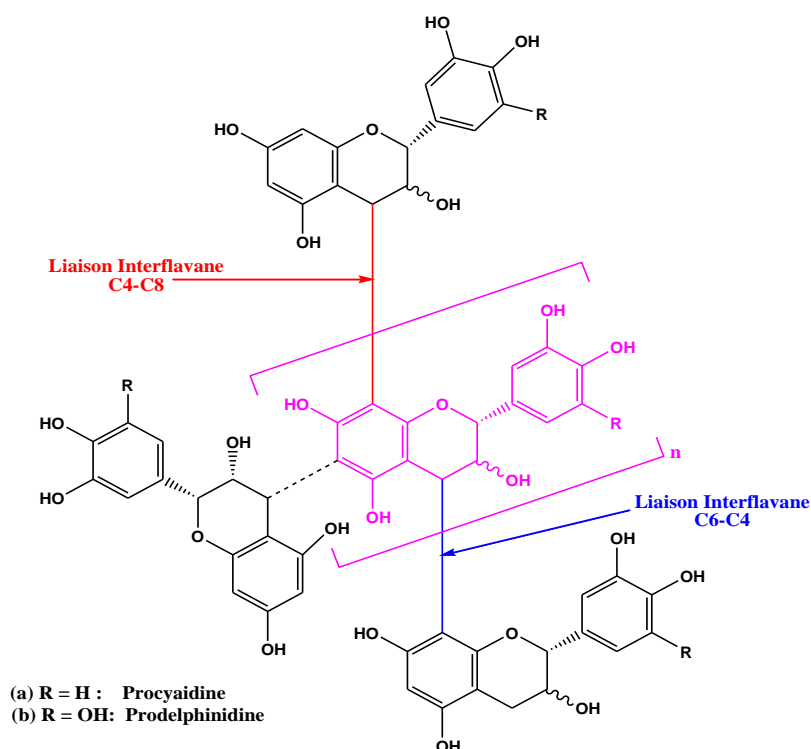


Figure. II. 8. Structure chimique des tannins condensés.

Si R: H ou OH, la structure représente respectivement un procyanidine (a) ou un prodelphinidine (b). La liaison 4 - 6 en pointillés est une alternative de liaison interflavanique. On note la présence d'unité terminale dans une telle structure [52].

II.6. Composés polyphénoliques flavonoïdiques

II.6. 1.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C₆-C₃-C₆, ou la structure de base commune à ce groupe de polyphénols,

est le diphénylpropane : c'est la présence de deux cycles aromatiques (A et B) liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) [53] (Figure.II.5).

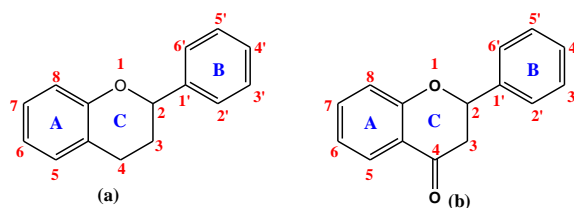


Figure II. 9: Motif flavan (a) et flavon (b) et numérotation systématique

Les substitutions des cycles A et B donnent lieu à des différents composés au sein de chaque classe des flavonoïdes. Ces substitutions peuvent inclure l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation, et de la sulfatation.

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes [54]. Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...). Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavanols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides [55].

II.6.1.1. Principes types des flavonoïdes

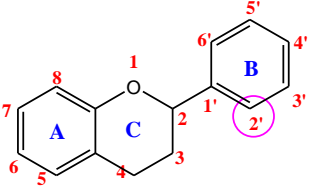
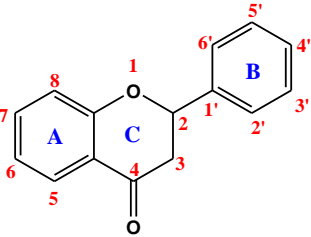
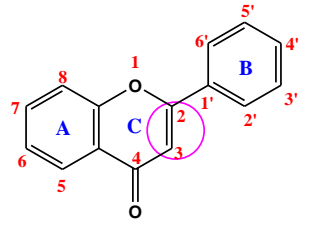
Les flavonoïdes sont divisés en six classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes, auxquels il faut rajouter les néoflavonoïdes, les auronnes et les catéchines). Les propriétés chimiques de ces composés varient suivant leur classe, mais également en fonction de leur degré d'hydroxylation, de leur degré de méthylation, de leur degré de glycosylation et du degré de polymérisation autour de la structure commune C₆-C₃-C₆ [56]. Résultat du métabolisme secondaire des plantes, ces composés sont fréquemment attachés à des sucres (glycosides), ce qui leur confère un caractère plus hydrosoluble.

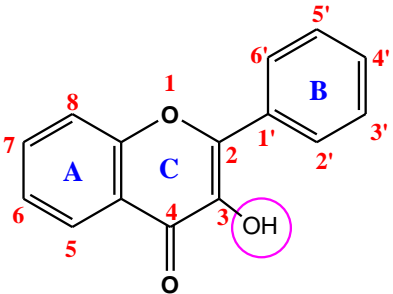
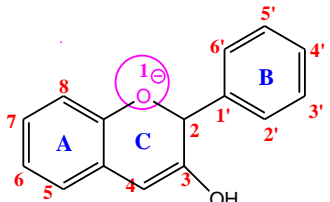
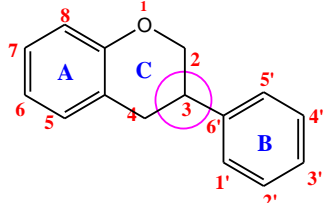
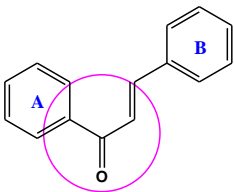
Occasionnellement, on peut les retrouver sous forme d'aglycones.

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs sous-classes réparties en fonction du nombre, de la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles...etc), mais aussi de la position de la liaison entre le noyau B et l'hétérocycle C (position 2 ou 3). La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau [57]. Les classes

phénoliques sont : flavanols, flavanones, flavones, flavonols, anthocyanes et isoflavonoïdes [58] (Tableau. II.4).

Tableau II. 4: Différentes sous-classes des flavonoïdes [59-62]

<p style="text-align: center;">Flavanes</p> 	<p>Les flavan-3-ols constituent la principale sous-classe des flavanes. Ces structures varient des monomères simples catéchines à des structures polymériques comme les anthocyanidines.</p>
<p style="text-align: center;">Flavanone</p> 	<p>Si la position 4 du flavane porte un groupement carbonyle, la molécule est appelée flavanone. La structure est très réactive et subit des réactions d'hydroxylation, de glycosylation et d'O-méthylation. Les agrumes en constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hespéritine dans l'orange.</p>
<p style="text-align: center;">Flavone</p> 	<p>Si la liaison de type C2-C3 dans le squelette d'un flavanone est insaturée, le composé est nommé flavone. Les flavones ont une relation structurelle très étroite avec les flavonols, mais contrairement à ces derniers, ils sont peu distribués. Ce sont des substances de couleur jaunâtre, d'habitude elles n'existent pas sous forme de glucoside.</p> <p>Les principales molécules sont l'apigénine, la lutéoline et la chrysin. Leurs sources alimentaires sont: pomme, céleri, grains de céréale (teneur = 5-100 mg/kg) herbes aromatiques (persil, romarin, thym).</p>

<p>Flavonol</p> 	<p>La substitution du squelette en position 3 par un groupement hydroxyle et d'une double-liaison en C2-C3 nous donne le flavonol. Ces composés représentent la classe la plus répandue des flavonoïdes. Ce sont des pigments jaunes présents notamment dans la pellicule des raisins et dans les feuilles de vigne. Les sources les plus riches sont les oignons (350-1200 mg/kg de matière fraîche), le poireau, le chou et les baies telles que le cassis (115 mg/kg de matière fraîche).</p>
<p>Anthocyanidines</p> 	<p>Les anthocyanidines se caractérisent par la présence d'un atome d'oxygène chargé au niveau du cycle central C. Ils sont impliqués dans la protection des plantes contre la lumière excessive et jouent un rôle important dans l'attraction des insectes pollinisateurs. Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine.</p>
<p>Isoflavanes</p> 	<p>Liaison en position 3 : les isoflavanes sont caractérisés par la liaison du cycle B au C3. Par sa structure, ce composé imite l'hormone stéroïdale « Oestradiol » qui bloque l'ovulation.</p>
<p>Chalcones</p> 	<p>Comparativement aux autres flavonoïdes, les chalcones se caractérisent par la présence d'un noyau pyranique central ouvert. Davidigénine, Asebogénine constituent des exemples de cette sous classe.</p>

Les activités des flavonoïdes et de leurs métabolites dépendent essentiellement du nombre et de la position de leurs groupements fonctionnels (relation structure-activité) [61]. Les éléments structuraux nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante optimale ont pu être établis par plusieurs auteurs [60-62].

II.6.1.1.a Anthocyanes ou anthocyanosides

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de de l'hétérocycle central C. Les anthocyanidines (*aglycones anthocyanes formées lorsque les anthocyanes sont hydrolysées avec de l'acide*) sont responsables aussi de la couleur naturelle de la plante. Ces molécules sont constituées d' un aglycone anthocyanidine et d'un glucose en position 2' (**Figure. II.10**).

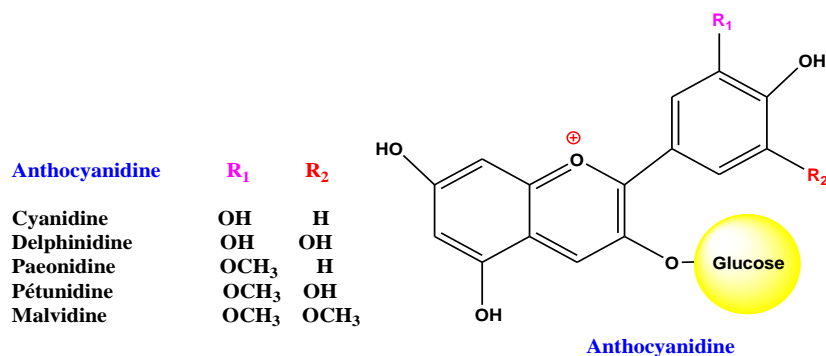


Figure II. 10. Structure générale des principales anthocyanidines

L'aglycone est chargé positivement et la charge portée peut être délocalisée par effet mésomère sur la majeure partie du squelette flavonoïde. Parmi les anthocyanidines qui sont très connus il y a la malvidine, la delphinidine, la pétunidine et la cyanidine. La coloration attribuée aux végétaux dépend de plusieurs éléments, particulièrement le pH et de la nature des substitutions de l'aglycone. En plus de la pigmentation, ces composés sont accumulés dans des différents organes des plantes afin de les protéger contre les attaques de nuisible. Les anthocyanes les plus connues sont la pélagonidine responsable de la coloration rouge ou orange dans certaines plantes. Il y a encore la cyanidine qui donne une couleur rouge ou rose et ensuite la delphinidine responsable de la coloration mauve. Elle aussi donne spécialement la coloration rouge aux fruits et aux feuilles en automne.

II.8. Rôle et intérêt des composés phénoliques

II.8.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume,

qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini [63-67].

II.8.2. Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés anti-oxydantes [69]. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées : veinotonique, anti-tumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, anti-allergique, anti-spasmodique, anti-bactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (caillots dans les artères) [70-71].

II.8.3. Activités biologiques des composés phénoliques

Les polyphénols ont une importance remarquable vue leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle comme antioxydants naturels suscite, de plus en plus, l'intérêt des chercheurs dans la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires, de l'athérosclérose, du diabète et des maladies neurodégénératives [74,75]. De plus, ces métabolites sont doués d'activités antibactériennes [76], antivirales et antiparasitaires [77].

II.8.3.1. Activité antioxydante

Ces dernières années, plusieurs études sont focalisées sur l'extraction et la détermination des composés phénoliques des diverses plantes dans le but d'étudier la relation entre ces composés [78] et leur activité antioxydante [79], d'élucider le mécanisme d'action de ces composés [80] et de les faire introduire par la suite comme additifs dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [74].

- Les acides phénoliques

Les acides phénoliques possèdent un caractère antioxydant pour la plupart des dérivés cinnamiques ou benzoïques [81]. Parmi les plus actifs : les acides, rosmarinique* , gallique, syringique [82,83], caféique, dihydrocaféique et chlorogénique [81]. L'activité antioxydante des acides phénoliques augmente avec le nombre de groupements hydroxyles [84]. Plusieurs éléments sont en faveur de la relation structure-activité des acides phénoliques. Ainsi, les acides hydroxycinnamiques ont toujours une activité antioxydante plus élevée que celle des acides hydroxybenzoïques. Ceci peut être dû au groupement CH=CH-COOH, qui assure une plus grande capacité de donation d'atome d'hydrogène et de stabilisation du radical que le groupement COOH des acides hydroxybenzoïques [84] (Figure. II.11).

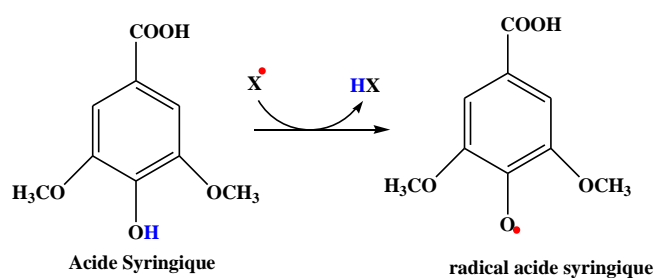


Figure. II. 11. Proposition de réaction du radical X. avec l'acide syringique [18]

II.8.3.2. Activité antibactérienne

Les polyphénols sont connus aussi pour leurs propriétés inhibitrices de la croissance bactérienne [76]. Cependant, les mécanismes d'actions de ces composés sur les microorganismes ne sont pas totalement élucidés. D'après ces auteurs Cowan [85], Daciana-Ciocan et coll [86] et Rodríguez-Vaquero et coll [87], les effets inhibiteurs des composés phénoliques pourraient être expliqués par leur adsorption sur les membranes cellulaires, par leurs interactions avec les enzymes et par privation des substrats et des métaux.

Les acides phénoliques

Les composés phénoliques en général sont connus pour leurs activités biologiques qui sont en relation directe avec la santé de l'être humain). Dans le littérature a été rapporté que les acides phénoliques peuvent exercer des effets antibactériens sur plusieurs souches. Puupponen-Pimiä et coll [87] ont rapporté que les acides hydroxycinnamiques (*p*-coumarique, caféique et férulique) inhibent la croissance de *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*. La

* L'acide rosmarinique est un composé bioactif d'origine végétale, de la famille des polyphénols que l'on trouve dans les plantes lamiaceae. L'acide rosmarinique possède des propriétés pharmacologiques remarquables, notamment anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-virales, anti-carcinogènes.

présence de la chaîne aliphatique confère aux acides hydroxycinnamiques un caractère moins polaire que celui des acides benzoïques. La toxicité des acides phénoliques vis-à-vis des bactéries peut être également liée au nombre de groupements hydroxyles [88]. D'après les résultats d'une étude réalisée par Rodríguez Vaquero et coll [87], l'acide gallique, avec ses trois groupes hydroxyles, exerce une forte activité antibactérienne sur les souches testées (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) comparativement à l'acide syringique qui présente deux groupements méthoxyles [18][83]. Les exemples de quelques composés phénoliques, l'acide phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés dans le **Tableau II.5** et la **Figure II.12**. rassemble les différentes d'applications biomédicales de l'acide syringique.

Tableau II. 5. Activités pharmacologiques et biologiques de certaines classes de composés phénoliques

Polyphénols	Activités pharmacologiques et biologiques	Références
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses, anti-parasitaires, anti-fongiques et anti-oxydantes.	[54-57]
Coumarines	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, anti-parasitaires, analgésiques et anti-œdémateuse	[58-64]
Flavonoïdes	Anti-tumorales, anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, hypotenseurs, diurétiques, anti-parasitaires, vaso, dilatoires, anti-bactériennes, anti-analgésiques, anti-virales, ostéogène, antioxydantes, anti-atherogéniques, anti-thrombotique, anti-allergique.	[46][59] [65-89]
Anthocyanes	Anthocyanes Protectrices capillaroveineux, anti-oxydant.	[90]
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, anti-oxydantes, anti-tumorales, anti-fongiques et anti-inflammatoires.	[91]
Tannins Tannins galliques et catéchiqes Lignanes Saponines Phytostérols	Antioxydants anti-inflammatoires, analgésiques, anti-tumorale, anti-cancérigène,... Agent de protection contre l'hormone dépendant du cancer de colons.	[92-95]

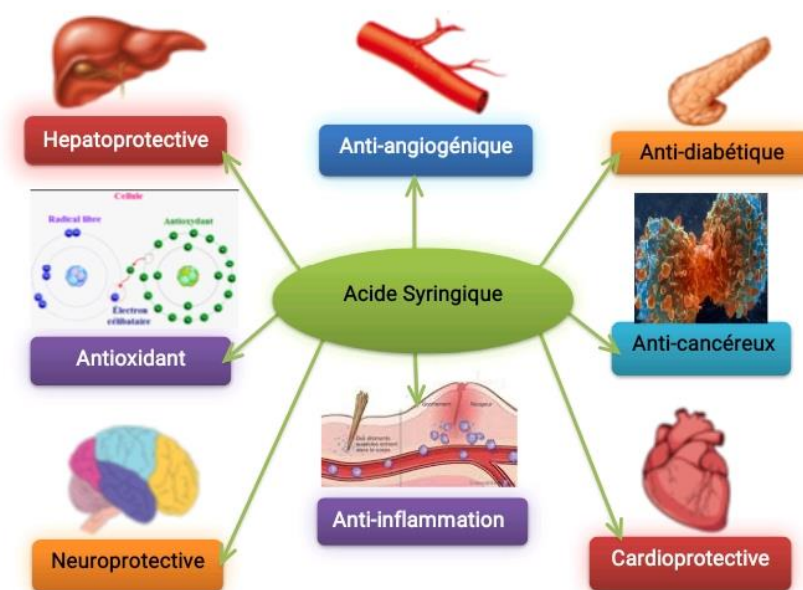


Figure. II. 12. Applications biomédicales de l'acide syringique [29]

II.8.3 Applications industrielles des polyphénols

Les propriétés biologiques des polyphénols rendent ces molécules très intéressantes en vue d'une valorisation en tant qu'ingrédient et additif pour différents produits. Ils trouvent des applications diverses et variées dans différents domaines. De nombreux polyphénols sont utilisés comme principe actif dans des médicaments : acide salicylique extrait du saule et ingrédient basique de l'aspirine, la rutoside (rutine), le glycoside de flavonoïde quercétine (quercétine -3-rutinoside) isolé de plusieurs plantes (eucalyptus, sarrasin, sophora) utilisé dans le traitement destinés aux troubles veineux et capillaires, ou encore l'extrait de Ginkgo (*Ginkgo biloba*) dont le principe actif EGb 761 est riche en composés polyphénoliques et notamment en glycosides de flavonoles (24 % de l'extrait) [96]. On retrouve également sur le marché médical, l'extrait hydro-alcoolique d'écorces et de feuilles du peuplier et d'écorce de frêne, commercialisé sous le nom Phytodolor®, qui sert à traiter l'arthrite et le rhumatisme [97]. Les polyphénols sont également utilisés dans le domaine agroalimentaire comme additif. Cette application est possible en raison de leur pouvoir colorant et leur activité antioxydante. Ils sont utilisés comme conservateurs et ils permettent également une meilleure stabilisation des denrées alimentaires et des pigments de jus [96] [98,99]. Toujours dans le domaine agroalimentaire, les polyphénols sont utilisés comme complément alimentaire. On retrouve les polyphénols également dans le domaine cosmétique où ils sont utilisés pour leur pouvoir

anti vieillissement de la peau. Enfin, les polyphénols du bois et particulièrement les tannins sont à la base de la fabrication de teintures et la formulation de nombreuses colles et adhésifs naturels [100]. De plus, les tannins ont la particularité de lier et précipiter les protéines et ils sont utilisés dans le domaine du tannage du cuir.

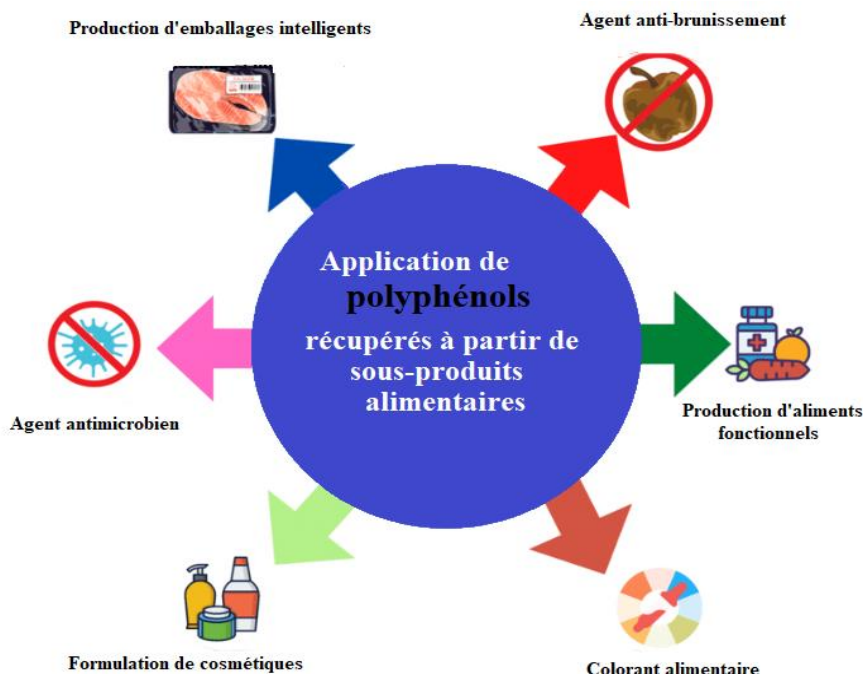


Figure II. 13. Applications industrielles des polyphénols [101]

II.9. Conclusion

En conclusion pour ce chapitre d'étude bibliographique, les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal, prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Tous les flavonoïdes et les acides phénoliques ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes. En plus, nous allons parler de certains métabolites secondaires telles que les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanines, les tanins et de leurs importances dans certains aspects de la vie.

Sur la base de ces études et dans le but de découvrir ces composés bioactifs, il nous a semblé intéressant de présenter les acides polyphénoliques et ce tous l'acide syringique.

Références Bibliographiques

- [1]. Fleuriot A., Jay-Allemand C., Macheix J.J. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*, 121-216.
- [2]. Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- [3]. Auger C., Valérie B., Schini K. (2014). Potentiel des polyphénols pour améliorer la santé vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Journal de Cahiers de nutrition et de diététique*.
- [4]. Dai J., Mumper R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 10(15), 7313-7352.
- [5]. Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységue L., (2011). "Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis". *Angewandte Chemie*, 50 (3), 586–621.
- [6]. Lovkova M.Y., Buzuk G.N., Sokolova S.M., Kliment'eva N. I. (2001). Chemical features of medicinal plants (review). *Applied Biochemistry and Microbiology* , 3(37), 229–237.
- [7]. Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J. (2011). High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical analysis (Chromatographic Science Series), CRC Press, 1st ed, 996p.
- [8]. Doughari J. H. (2012). Phytochemicals : extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. In: *Phytochemicals-A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech, Rijeka.
- [9]. Bennetau - Pelissero C. (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Journal de Cahiers de nutrition et de diététique*.
- [10]. Hua Z., Rong T.(2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *current opinion in food science* , 33-42.
- [11]. Bouayed J., Rammal H., Younnos C.N & Soulimani R. (2007). Positive correlation between peripheral blood granulocyte oxidative status and level of anxiety in mice. *European Journal of Pharmacology*, 564(1-3), 146-149
- [12]. SFA. Société Française des Antioxydants .(2005) .Conte rendu de la conférence polyphenols. (2005). Institut des corps gras. ITERG
- [13]. Hui Y.T., Chi -Tang H., Yu - Kuo C.(2017). Biological actions and molecular effects of resveratrol, pterostilbene, and 3'-hydroxypterostilbene. *Journal of food and drug analysis*, 34 – 47.

Références Bibliographiques

- [14]. Herbert R.B.(1989). The Biosynthesis of secondary metabolites. 2^{ème} édition Chapman and Halle, p 2, 11-115.
- [15].Macheix J.J., Fleriet A., et Christian A .(2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- [16]. Quettez D.C., Gresser B.,Vasseur J.,Dine T.B. (2000). Phenolic compound and antioxidant activities of fagopyrum esculentum moenck (huile sans flor) .Ethnopharmacology, 35 - 42.
- [17]. Oliver S. A. B., Vittorio O.C.,Cirillo G.,Cyrille B .(2016). Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules. formal of the royal society of chemistry .
- [18]. Srinivasulu C., Ramgopal M., Ramanjaneyulu G., Anuradha C. M., & Kumar C. S. (2018). Syringic acid (SA) a review of its occurrence, biosynthesis, pharmacological and industrial importance. Biomedicine & Pharmacotherapy, 108, 547-557.
- [19].Guignard J.L.(1974). Abergé de Biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie: Masson. Paris, 146-155.
- [20].Guignard J.L.(2000) Biochimie végétal 2^{ème} édition Dunod, 188 p.
- [21].Guignard J.L., Dupont F. (2004). Botanique Systématique moléculaire. 13^{Ed} révisée Masson Paris, Pp 116-117.
- [22]. Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales 3^{ème} édition. Tec doc. Paris.
- [23].Macheix J.J., Fleriet A., Christian A .(2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. PPTUR Lausanne.
- [24]. John M., Pezzuto, Grapes and Human Health: A Perspective . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, n° 16, 2008, p. 6777–6784.
- [25]. L.A., Pacheco-Palencia S., Mertens-Talcott S.T., Talcott, Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Acai (*Euterpe oleracea* Mart.), *J Agric Food Chem.* 56 (2008) 4631–4636.
- [26]. Gálvez M.C., Barroso C.G., Pérez-Bustamante J.A. (1994) Analysis of polyphenolic compounds of different vinegar samples.*Zeitschrift für Lebensmittel-untersuchung und -Forschung A*, Volume 199, Number 1, 29–31.
- [27]. Srinivasulu C., Ramgopal ., Ramanjaneyulu G., Anuradha, C.M., Kumar C.S. (2018). Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. Biomedicine & Pharmacotherapy, 108, 547–557.
- [28]. Kiran P., Denni M., Daniel M. (2014). Antidiabetic principles, phospholipids and fixed oil of kodo millet (*Paspalum scrobiculatum* Linn.), *Ind J Appl Res.* 4 13–15.

Références Bibliographiques

- [29]. Karamaæ M., Kosinska A., Pegg R.B. Comparison of radical-scavenging activities of selected phenolic acids, *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 14 (2005) 165–170.
- [30]. Liu Y., Guo X., Lu Z., Xie L. Study on the pharmacokinetics and bioavailability of syringic acid in rabbits, *Zhong Yao Cai.* 26 (2003) 798–801.
- [31]. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. (1996). *Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.* 20(7), 933–956.
- [32]. Pacheco-Palencia LA., Mertens-Talcott S., Talcott ST. (2008). Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Acai (*Euterpe oleracea* Mart, *J Agric Food Chem.* 56,12: 4631-4636.
- [33]. Tohge T., Fernie A.R. (2017) .An Overview of Compounds Derived from the Shikimate and Phenylpropanoid Pathways and Their Medicinal Importance, *Mini Rev Med Chem.* 17 1013–1027.
- [34]. Bose S. K., Francis R.C., Govender M., Bush T., Spark A. (2009). Lignin content versus syringyl to guaiacyl ratio amongst poplars. , 100(4), 1628-1633.
- [35]. Abe T., Masai E., Miyauchi K., Katayama Y., Fukuda M. (2005). A tetrahydrofolate-dependent *O*-demethylase, Lig M., is crucial for catabolism of vanillate and syringate in *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6, *J Bacteriol.* 187 2030–2037.
- [36]. Wagner A., Tobimatsu Y., Phillips L., Flint H., Geddes B., Lu F., Ralph J. (2015). Syringyl lignin production in conifers: Proof of concept in a Pine tracheary element system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(19), 6218-6223.
- [37]. Weng J.K., Akiyama T., Ralph J., Chapple C. (2011). Independent recruitment of an *O*-methyltransferase for syringyl lignin biosynthesis in *Selaginella moellendorffii*. *Plant Cell* 23(7):2708–2724.
- [38]. Notonier S., Werner A.Z., Kuatsjah E., Dumalo L., Abraham P.E., Hatmaker E.A.,... Beckham G. T.(2021). Metabolism of syringyl lignin-derived compounds in *Pseudomonas putida* enables convergent production of 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid . *Metabolic Engineering*, 65 , 111-122
- [39]. Adams E., Miyazaki T., Moon J., Sawada Y.M., Toyooka K., Hirai M., Shin R. (2020). Syringic Acid Alleviates Cesium-Induced Growth Defect in *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 9116-9123.
- [40]. Campos M.L., Yoshida Y., Major I.T., de Oliveira Ferreira D., Weraduwage S.M., Froehlich J.E., Johnson B.F., Kramer D.M., Jander G., Sharkey T.D., et al. Rewiring of jasmonate and phytochrome B., signalling uncouples plant growth-defense tradeo s. *Nat. Commun.*(2016) , 7 , 12570-12582.

Références Bibliographiques

- [41]. Araki T., Umeda S., Kamimura N., Kasai D., Kumano S., Abe T., Kawazu C., Otsuka Y., Nakamura M., Katayama Y., et al. Regulation of vanillate and syringate catabolism by a MarR-type transcriptional regulator DesR in *Sphingobium* sp. SYK-6. *Sci. Rep.* (2019). 9 , 18036-18345.
- [42]. Sharma A., Shahzad B., Rehman A., Bhardwaj R., Landi, M., Zheng B., Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules* (2019). 24, 2452-2462.
- [43]. Richter R. (1993). *Metabolisme des végétales physiologies et biochimie*. PPUR. *Lausanne* 319-322.
- [44]. Psotova J., Lasovsky J., Vicar J. (2003). Metal – chelating Propertys, lectrochemical Behaviour, Scavenging and cytoprtoective Activities of six Natural phenolic. *Biomed. Papers* 147(2), 147 153.
- [45]. Macheix, J.J., Fleriet A., et Christian A. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique*. PPTUR Lausanne.
- [46]. Bastian C. (2006). *Extraction, concentration et caractérisation des composés polyphénoliques du café vert*. Thèse de doctorat, spécialité : chimie analytique. Haute école valaisanne), 49-75.
- [47]. Lamartiniere C.A., Cotroneo M.S., Fritz W.A. Wang J., Mentor-Marcel R., Elgavish A. (2002). Genistein chemoprevention: timing and mechanisms of action in murine mammary and prostate . *Journal of Nutrition* . 132 (3): 552-558.
- [48]. Bouayed J., Bohn T. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. (2010).3 , 228-237.
- [49]. Garcia-Perez M.E.(2008). *Caractérisation de composes phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante*. Thèse de Doctorat, spécialité : science du bois et du foret , Université Laval Québec, 147-155.
- [50]. Conrad J., Vogler B., Klaiber I., Roos G., Walter U.,Et Kraus W. (1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry* 48: 647 – 650 .
- [51]. 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* 33: 423 - 447.
- [52]. Dykes L., Rooney L.W.(2006).Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences* 44: 236 - 241.
- [53]. Ghedira K. (2005). *Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique*. *Phytothérapie*, 04: 162-169.

Références Bibliographiques

- [54]. Crozier A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*. Ed. Goldberg, 27- 48.
- [55]. Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008). Les polyphénols du raisin. Ed : Springer, 6 :75-82.
- [56]. Beecher G.R., Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *J Nutr.* (2003). 133(10):3248S - 3254S.
- [57]. Benavente - García O., Castillo J., Del Baño M.J., Lorente J., Improved Water Solubility of Neohesperidin Dihydrochalcone in Sweetener Blends *J. Agric Food Chem.* (2001) .49 (1):189 - 191.
- [58]. De Rijke E., Out P., Niessen W.M.A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U.A.(2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J.Chromatogr A.* (1112), 31-63.
- [59]. Monica Leopoldini., Nino Russo., Marirosa Toscano. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. 125(2),288–306.
- [60]. Wolfe K.L., Liu R.H. (2008). Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay *J., Agricult. Food Chem . ,* 56, 8404-8411.
- [61]. Fiorucci S. B., Golebiowski J., Cabrol-Bass D., Antonczak S. (2007). DFT study of quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(3), 903-911.
- [62]. Beta T., Nam s., Dexter J.E., et Sapirstein H . D. (2005) . Phenolic content and antioxydants Activity of Pearled wheat and Roller-Milled. Fractions. *Cereal chem.*82 (4), 390- 393.
- [63]. Schofield P., Mbugua D. M., Pell A. N.(2001). Analysis of condensed tannins: A review *Animal Feed Sciences and Technical* : 91: 21 - 40.
- [64]. Ribéreau-Gayon P.(1963).Les acides-phénols de *Vitis vinifera*. *C.R. Acad. Sci.*, 256, 4108.
- [65]. Ribéreau-Gayon P.(1964).Les composés phénoliques du raisin et du vin. Institut National de la Recherche agronomique, Paris.
- [66]. Ribéreau-Gayon P.(1965).Identification d'esters des acides cinnamiques et de l'acide tartrique dans les limbes et les baies de *V., vinifera*. *C.R. Acad. Sci.*, 260, 341.
- [67]. Ribéreau-Gayon P.(1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- [68]. Ribéreau-Gayon P., et MILHÉ J.C.(1969). Les flavanes du raisin. *C.R., Acad. Sci.*, 268 D, 1813-1824.

Références Bibliographiques

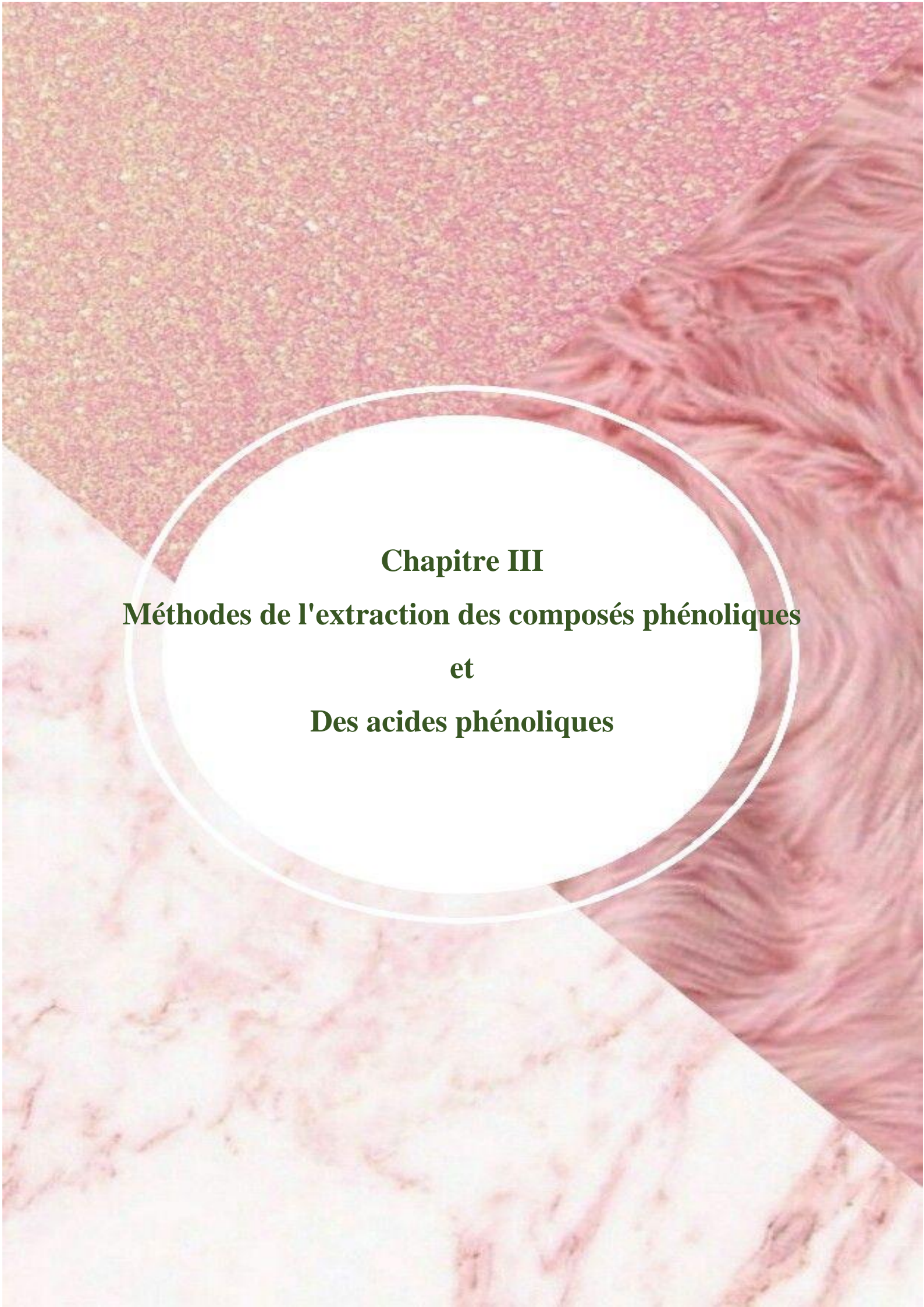
- [69]. Raimundo N., Shadel G. S.(2009). A“radical”mitochondrial view of autophagy related pathology. *Aging Journal* 1: 354 - 356.
- [70]. Shon H.Y., Son K. H., Kwon C. S., Kang S. S. (2004). Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants: *Morus alba Echinosophara koreesis Nakai*. *Phytomedecine*, 11: 666 - 672.
- [71]. Bruneton J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier, 278 - 279.
- [72]. Masquelier J., Dumon M., et Dumas J.(1979). Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique* 1, 101-104
- [73]. Chira K ., Suh J.H., Teissède . P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, 75-82.
- [74]. Siddhuraju P. (2007). Antioxidant activity of phenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated Tamarindus indica seed coat. *LWT* 40, pp: 982-990.
- [75]. Karou D., Dicko M. H.,Simpore J., Traore A. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4, 823-828.
- [76]. Aron P. M., Kennedy J. A. (2008). Flavan-3ols: Nature, occurrence and biological activity. *Mol.Nutr.Food Res.*, 52, 79-104.
- [77]. Jang H.D., Chang K.S., Huang Y.S., Hsu C.L., Lee S.H., Su M.S.(2007). Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chemistry*, 103, 749-756.
- [78]. Deseo M.A., Elkins A., Rochfort S.,Kitchen B. (2020). Antioxidant Activity and Polyphenol Composition of Sugarcane Molasses Extract. *Food Chemistry*, 314,126180.
- [79]. Yang J., Guo J., Yuan J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT* 41, pp: 1060-1066.
- [80]. Berset C. (2006). Antioxydants phénoliques-Structures, propriétés, sources végétales. In « Les polyphénols en agroalimentaire. Ed.: Lavoisier, ISBN 2-7430-0805-9, 1-27.
- [81]. Cikman O., Soylemez O., Ozkan O.F., Kiraz H.A., Sayar I., Ademoglu S., Taysi S., Karaayvaz M. (2015). Antioxidant Activity of Syringic Acid Prevents Oxidative Stress in L-arginine–Induced Acute Pancreatitis: An Experimental Study on Rats. *International Surgery*, 100(5), 891–896.

Références Bibliographiques

- [82]. Gimeno O., Fernandez L.A., Carbajo M., Beltran F., Rivas J. (2008). Photocatalytic ozonation of phenolic wastewaters: Syringic acid, tyrosol and gallic acid, *Journal of Environmental Science and Health Part A*. 43 43 61–69.
- [83]. Balasundram N., Kalyana S., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- [84]. Cowan M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology REVIEWS*, pp: 564-582.
- [85]. Daciana C. I., Băra I. (2007). Plant products as antimicrobial agents. *Sectiunea Genetică și Biologie Moleculară*, Tom VIII, 151-156.
- [86]. Rodríguez Vaquero M. J., Alberto M. R., de Narda M. M. C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18, 93-101.
- [87]. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A. and Oksman-Caldentey K.M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 494-507.
- [88]. Shi C., Sun Y., Zheng Z., Zhang X., Song K., Jia Z., Chen Y., Yang M., Liu X., Dong R., Xia X. (2016). Antimicrobial activity of syringic acid against *Cronobacter sakazakii* and its effect on cell membrane, *Food Chemistry*. 197: 100-106.
- [89]. Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L. et Estepa A.(2005).The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhadovirus (VHSV). *Antiviral Research*. 66(12): 9-136.
- [90]. Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M., Takahara Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry* 33: 557-561.
- [91]. Kubata BK., Nagamune K., Murakami N, Merkel P., Kabututua Z., Martin SK., Kalulug TM., Mustakuk H., Hoshida M., Ohnishi-kameyama M., Kinoshita T., Duszenko M., Uradea Y., (2005). Kola acuminate proanthocyanidins: a class of anti-trypanosomal compounds effective against trypanosome brucei. *International Journal for Parasitology* 35: 91- 103.
- [92]. Kim J Y., Lim H J., Lee D Y., Kim D H., Jeon R., Ryu J H., 2009. In vitro anti inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargessii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19: 937 -940.
- [93]. Nebeling L.(2002). Phytochemicals, the color of a Healthy Diet. *Pediatric Basics. J Ped Nutr Dev*.98: 2-9.

Références Bibliographiques

- [94]. Chanwitheesuk A., Teerawutgulrag A., Rakariyatham N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food chemistry*.92:491-497.
- [95]. Fujiki H., (2005). Green tea: Health benefits as cancer preventive for humans. *The Chemical Record*. 5(3): 119-132.
- [96]. Royer , M. , Ben Amor , A. , Boucher , M.-A. (2016). Les extractibles forestiers. *Biosourcé*, 3 , 1-18 .
- [97]. Cushnie , T. T. , Lamb , A. J . (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 38 , 99-10
- [98]. Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 174-181
- [99]. Rezaire A. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat - école doctorale pluridisciplinaire: Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques - spécialité Phytochimie - Université des Antilles et de la Guyane.
- [100]. Pizzi A. (2006). Recent developments in eco-efficient bio-based adhesives for wood bonding: Opportunities and issues. *J. Adhes. Sci. Technol.* 20, 829-846.
- [101]. Ebrahimi P., Lante A. (2022). Environmentally Friendly Techniques for the Recovery of Polyphenols from Food By-Products and Their Impact on Polyphenol Oxidase: A Critical Review. *Applied Sciences*, 12(4), 1923-1935.

The background features a white circle centered on a page with a pink and white marbled pattern. The text is centered within the circle.

Chapitre III
Méthodes de l'extraction des composés phénoliques
et
Des acides phénoliques

III. Méthodes d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques des légumes et les fruits

L'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques à partir de matières végétales est un processus très difficile en raison de la diversité et de la complexité des composés phénoliques et les acides phénoliques présents dans les matières végétales [1]. L'oxydation et l'isomérisation lors de l'extraction peuvent affecter le rendement de l'extraction. Par conséquent, des précautions doivent être prises lors de la manipulation pour éviter les modifications chimiques pouvant survenir lors de l'extraction en raison de la forte activité enzymatique des échantillons naturels [2]. Les techniques d'extraction employées dans l'extraction des molécules bioactives peuvent être classées en deux catégories:

- Les techniques conventionnelles qui sont basées sur la solubilité d'un soluté dans un solvant. Ces techniques utilisent souvent une grande quantité de solvant pour extraire le soluté désiré. Les techniques conventionnelles se résument en extraction par macération, soxhlet, reflux ou la combinaison de ces techniques.
- Les techniques vertes qui donnent plus d'efficacité, moins de temps et utilisent des matières premières renouvelables, par conséquent moins de pollution. Les techniques vertes se résument essentiellement en extraction assistée par ultrasons, extraction assistée par micro-ondes, extraction accélérée par solvant et extraction par fluide supercritique [3]. Il existe plusieurs techniques utilisées pour l'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques [4].

III.1. Techniques conventionnelles d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques

III.1.1. Macération

La macération est une extraction solide-liquide dans lequel le composé phénolique (soluté) à l'intérieur de la matière végétale est extrait par un solvant spécifique pendant une période de temps bien déterminée. L'efficacité du processus de macération est déterminée par deux facteurs principaux la solubilité et la diffusion. La macération est le choix le plus fréquent des chercheurs vu la simplicité de la mise d'un système d'extraction par macération. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. [3,4] (Figure.III.1).

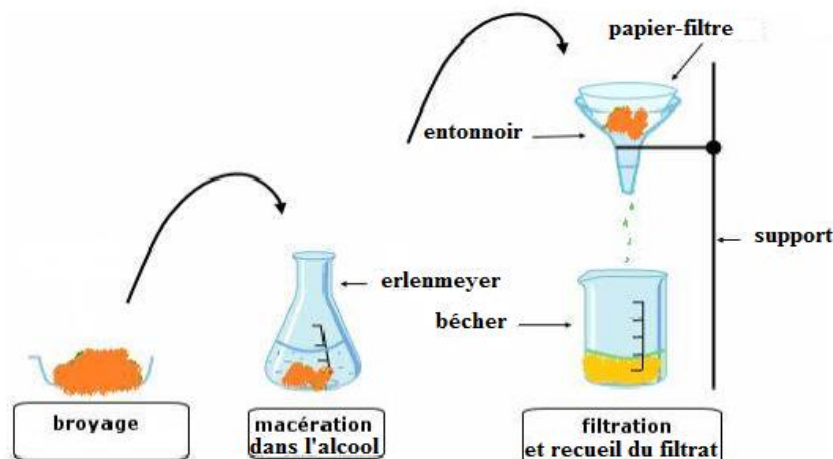


Figure III. 1: Schéma de l'extraction par macération

En plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des composés phénoliques et les acides phénoliques qui sont sensibles aux changements de température.

III.1.2. Extraction par reflux et par Soxhlet

L'extraction par reflux ainsi que par Soxhlet est basée sur un procédé de distillation qui est largement utilisé dans les laboratoires et les industries alimentaires et non alimentaires [4]. Le procédé consiste à chauffer une solution à ébullition puis à renvoyer les vapeurs condensées dans le ballon d'origine. L'extraction par Soxhlet diffère de l'extraction par reflux par le placement de la matière végétale dans une cartouche et non pas dans le ballon. L'extraction au Soxhlet, parfois combinée avec des techniques de percolation et d'immersion, a été communément employée afin d'obtenir un bon rendement d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques [5,6]. Cette méthode est très appréciée car elle permet de faire des extractions en continu tout en restant simple et relativement peu coûteuse. Cependant, les manipulations séquentielles, les longs temps d'extraction et le travail à des températures d'ébullition peuvent constituer des inconvénients (Figure.III.2).

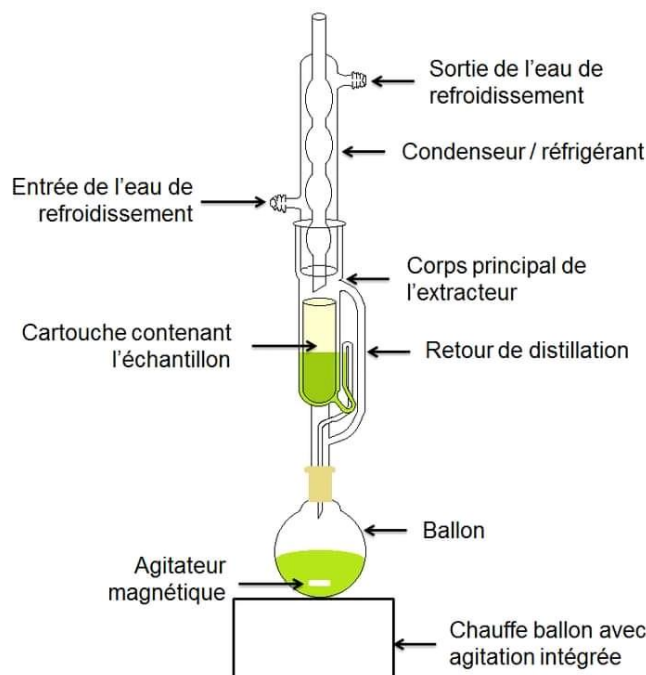


Figure III. 2: Représentation schématique d'un extracteur Soxhlet [4]

III.1.3. Extraction par méthodes d'extraction conventionnelles successives

Cette technique consiste à utiliser deux méthodes d'extraction conventionnelles successivement dans le but d'obtenir des composés phénoliques et les acides phénoliques hautement purifiés [4].

III.2. Techniques vertes d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques

III.2.1. Extraction assistée par ultrasons (US)

L'extraction assistée par ultrasons consiste à traiter sous ultrasons un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant. Le phénomène des ultrasons consiste à créer des bulles de cavitation dans le solvant permettant de dénaturer la paroi de la cellule végétale. Les ultrasons permettent d'accélérer l'extraction et de réduire le ratio solvant/soluté ce qui conduit à un meilleur rendement d'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques [4,5]. Deux types d'équipements à ultrasons sont couramment utilisés dans les laboratoires [7-9]:

- Le premier est le bain à ultrasons qui est couramment utilisé pour la dispersion de solides dans un solvant ou pour le dégazage des solutions ;
- Le second équipement, une sonde à ultrasons, est beaucoup plus puissant en raison d'une intensité ultrasonore délivrée sur une petite surface (pointe de la sonde) par rapport au bain à ultrasons (**Figure.III.3**)

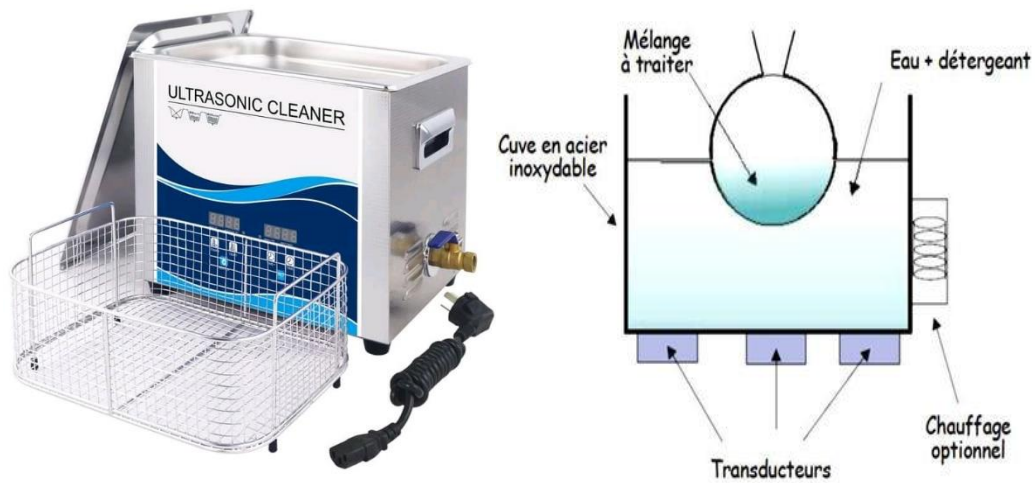


Figure III. 3. Dispositifs à ultrasons : bac et sonde, respectivement [5]

De plus, à l'intersection des deux principes de base, soit celui des ultrasons et celui des extractions, il est possible de considérer l'interaction des ondes ultrasoniques sur les performances d'extraction de composés organiques présents dans les légumes et les fruits. Les ultrasons possèdent plusieurs avantages dont celui de briser les parois cellulaires des organismes végétaux ainsi que celui de provoquer des effets de capillarité dans la matière végétale [10].

III.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (MO)

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques non ionisantes avec une gamme de fréquences de 0,3 à 300 GHz. Les micro-ondes sont capables de pénétrer dans les biomatériaux et de générer de la chaleur en interagissant avec les molécules polaires comme l'eau. L'interaction entre les micro-ondes et les molécules polaires conduit à un sur chauffage interne et une perturbation de la structure cellulaire facilitant la diffusion du composé bioactif à partir de la matrice végétale [4], [11] (Figure.III.4).

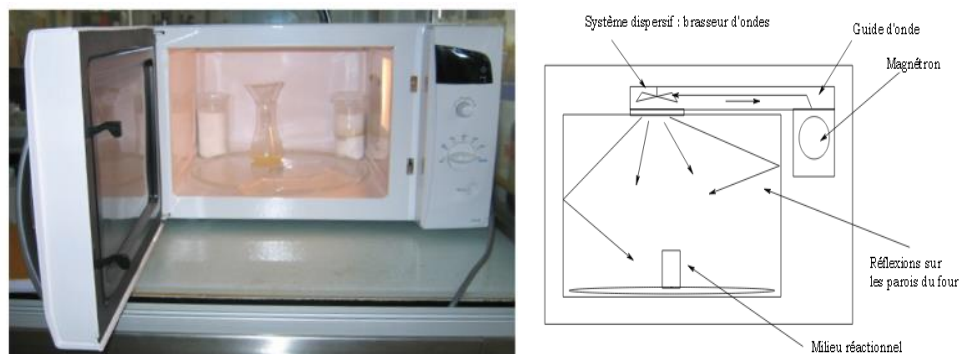


Figure III. 4.Schéma de principe de micro-onde domestique et Dispositifs à microonde

III.2.3. Extraction en phase solide

L'extraction en phase solide constitue aussi une autre option rapide et économique puisqu'elle réduit de manière significative le volume des solvants requis. Elle est employée dans le but d'extraire les composés à partir d'une matrice liquide ou comme complément à l'extraction par solvants [6]. L'extraction en phase solide peut être également employée comme méthode de fractionnement/purification ou pour obtenir la préconcentration des composés. En effet, l'extraction en phase solide a été régulièrement utilisée pour l'extraction sélective d'acides phénoliques [12], jus d'orange [13], jus de canneberge [14] et de pommes [15].

III.2.4. Extraction accélérée par solvant

L'extraction accélérée par solvant (ou extraction par liquide pressurisé) est une technique d'extraction moderne utilisée pour l'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques en utilisant des solvants à haute température et haute pression, mais sans atteindre le point critique [3]. L'extraction accélérée par solvant se caractérise par un temps d'extraction court (15 - 25 minutes) et un volume réduit de solvant utilisé (15 - 45 ml) [4] (Figure.III.5).

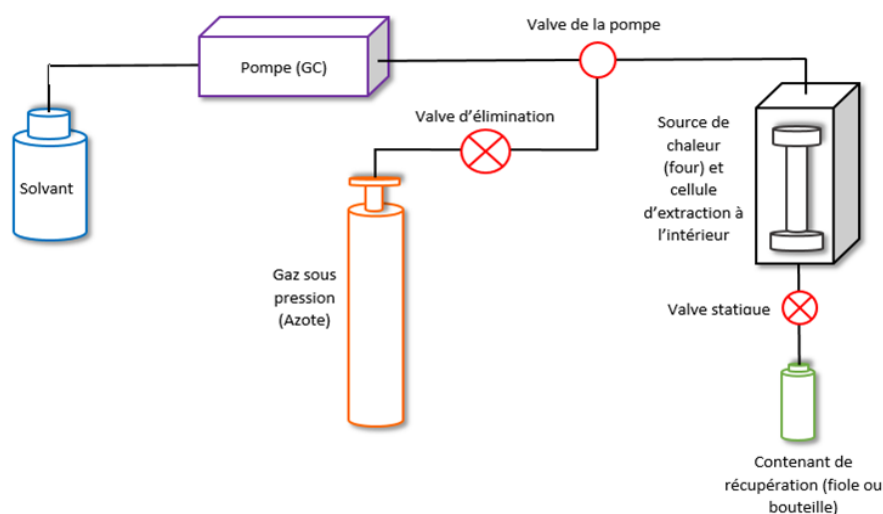


Figure III. 5. Montage de l'extraction par liquide pressurisé [16]

Toutefois, cette technique d'extraction présente comme inconvénient la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui est le solvant d'extraction le plus employé ce qui génère une haute sélectivité d'extraction ne permettant pas de solubiliser les composés phénoliques et les acides phénoliques plus polaires. Dans plusieurs cas, afin d'obtenir de hauts rendements de polyphénols, il est nécessaire d'ajouter des solvants plus polaires ou effectuer des changements chimiques aux composés qui seront extraits afin de diminuer leur polarité [6].

III.3. Conclusion

L'isolement des composés phénoliques et/ou les acides phénoliques des légumes et les fruits par extraction est généralement un processus très difficile compte tenu de la variété de composés qu'il est possible de trouver dans les échantillons naturels. L'obtention de rendements élevés est parfois compliquée et par conséquent des soins doivent être pris pendant la manipulation afin d'éviter les modifications chimiques qui peuvent survenir lors du processus d'extraction en raison de l'activité enzymatique élevée des échantillons naturels. En effet, l'oxydation et l'isomérisation durant l'extraction sont un souci constant [17]. C'est ainsi qu'afin de protéger les composés phénoliques et les acides phénoliques contre les processus de détérioration pendant l'extraction, l'ajout d'antioxydants et le travail dans des conditions d'atmosphère inerte ont été des solutions proposées. La fidélité entre le profil phénolique du produit de départ et celui de l'extrait obtenu est un paramètre important qui doit être pris en considération. Par conséquent, les conditions utilisées devraient être douces afin d'éviter l'oxydation, la dégradation thermique et d'autres changements chimiques et biochimiques dans les échantillons naturels.

« Ce travail est fait dans une vision verte d'où l'utilisation de mélange éthanol/eau comme solvants principales de l'extraction ».

Références Bibliographiques

- [1]. DI Ferdinando M., Brunetti C., Agati G., Tattini M. (2014). Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. *Environmental and experimental botany*, 103 , 107 – 116.
- [2]. Yang J., Ou X., Zhang X., Zhou Z., Ma L. (2017). Effect of different solvents on the measurement of phenolics and the antioxidant activity of Mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) with accelerated solvent extraction. *Journal of Food Science*, 82, 605–612.
- [3]. Ligor M., Ratiu I. A., Kiełbasa A., Al- Suod H. Buszewski B. (2018). Extraction approaches used for the determination of biologically active compounds (cyclitols, polyphenols and saponins) isolated from plant material. *Electrophoresis*, 39(15), 1860-1874.
- [4]. Cheok C. Y., Salman H. A. K., Sulaiman R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59 , 16 – 40.
- [5]. Al-Bandak G., et Oreopoulou V. (2007). Antioxidant properties and composition of *Majorana syriaca* extracts. *European Journal of Lipid science and technology*. 109 (3): 247-255.
- [6]. Escribano-Bailôn et Santos-Buelga.(2003). Polyphenols extraction from foods. In *Methods in polyphenol analysis*. Royal Society of Chemistry. *Thomas Graham House, Science Park, Milton Road, Cambridge*, 1-16.
- [7]. Poux M., Cognet P., Gourdon C. (2010). Génie des procédés durables - Du concept à la concrétisation industrielle: Du concept à la concrétisation industrielle, Environnement et sécurité. Dunod.
- [8]. Hammi K.M., Jdey A., Abdelly C., Majdoub H., ksouri R.(2015).Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds form Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using responsesurface methodology ,*Food Chemistry*, 184, 80-89.
- [9]. Chemat S., Lagha A., AitAmar H., Bartels P. V ., Chemat F., (2004). Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour Fragr J.* 19, 188–195.
- [10]. Lavoie J.M. (2005). Optimisation de l'extraction des triterpènes par ultrasons et identification du contenu moléculaire libre des tissus de bouleau jaune (*Betula alleghaniensis*). Thèse de doctorat. *Université Laval, Québec, Canada*.
- [11]. Takeuchi T., Pereira C., Braga M., Marostica M., Leal P., Meireles M.(2009).Low-pressure solvent extraction (solid–liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound

Références Bibliographiques

assisted) from condimentary plants. *Extracting bioactive compounds for food products*,137-218

[12]. Pinelo M., Laurie V.F et Waterhouse A.L. (2006). A Simple method to separate red wine nonpolymeric and polymeric phénols by solid-phase extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 2839-2844.

[13]. Mouly P.P., Gaydou E.M., Arzouyan C. (1999). Séparation and quantification of orange juices using liquid chromatography of polymethoxylated flavones. *Analysis*. 27 (3): 284-288.

[14]. Ferguson P.J., Kurowska E., Freeman D.J., Chambers A.F., Koropatnick D.J. (2004). A flavonoid fraction from cranberry extract inhibits prolifération of human tumor cell Unes. *Journal of Nutrition*. 134, 1529-1535.

[15]. Ohnishi-Kameyama M., Yanagida A., Kanda T., Nagatal T. (1997). Identification ofcatechin oligomers from apple (*Malus pumila* cv. Fuji) in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and fast-atom bombardment mass spectrometry. *Rapid communications in Mass Spectrometry*. 11, 31-36

[16]. Bruce E., Ritcher, Brian A., Jones, John L., Ezzell, and Nathan L., Porter. (1996). *Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation*. 1033-1039.

[17]. Antolovich M., Prenzler P., Robards K., Ryan D.(2000). Sample préparation in the détermination ofphenolic compounds in fruits. *The Analyst*. 125, 989-1009.



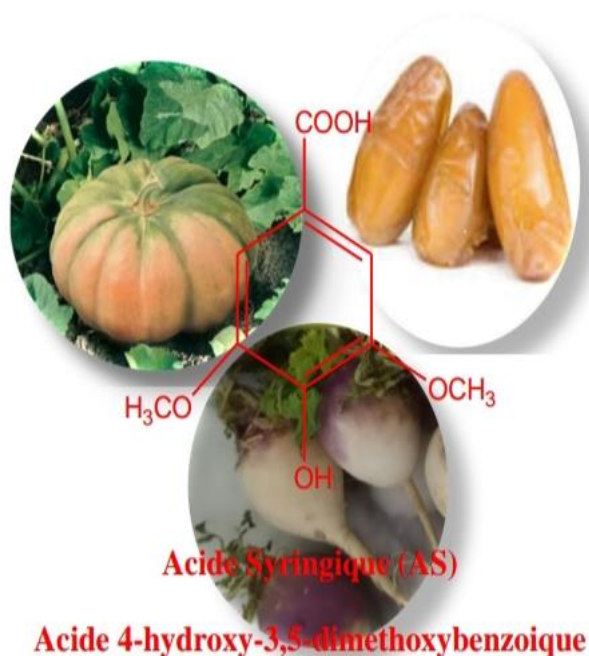
Partie 2 :
Partie Expérimentale



Chapitre I :
Matériel et Méthodes

I. Extraction, dosage et évaluation de l'activité biologique de la fraction isolée (Acide syringique)

L'objectif que nous nous sommes tracés dans ce travail est l'extraction des acides phénolique est en particulier l'acide syringique (AS) et l'étude de pouvoir oxydants à la présence d'agent complexant. À cet effet, ce chapitre sera consacré à la présentation des différents matériaux et produits utilisés pour la réalisation de cette étude ainsi qu'aux différentes techniques de caractérisation. Nous détaillerons pour chacune d'elle le principe de fonctionnement et l'intérêt qu'elle présente pour la détermination des propriétés des échantillons préparer selon des conditions expérimentales bien choisies.



Le résumé de l'extraction schématisé dans l'organigramme suivant (Figure.I.1):

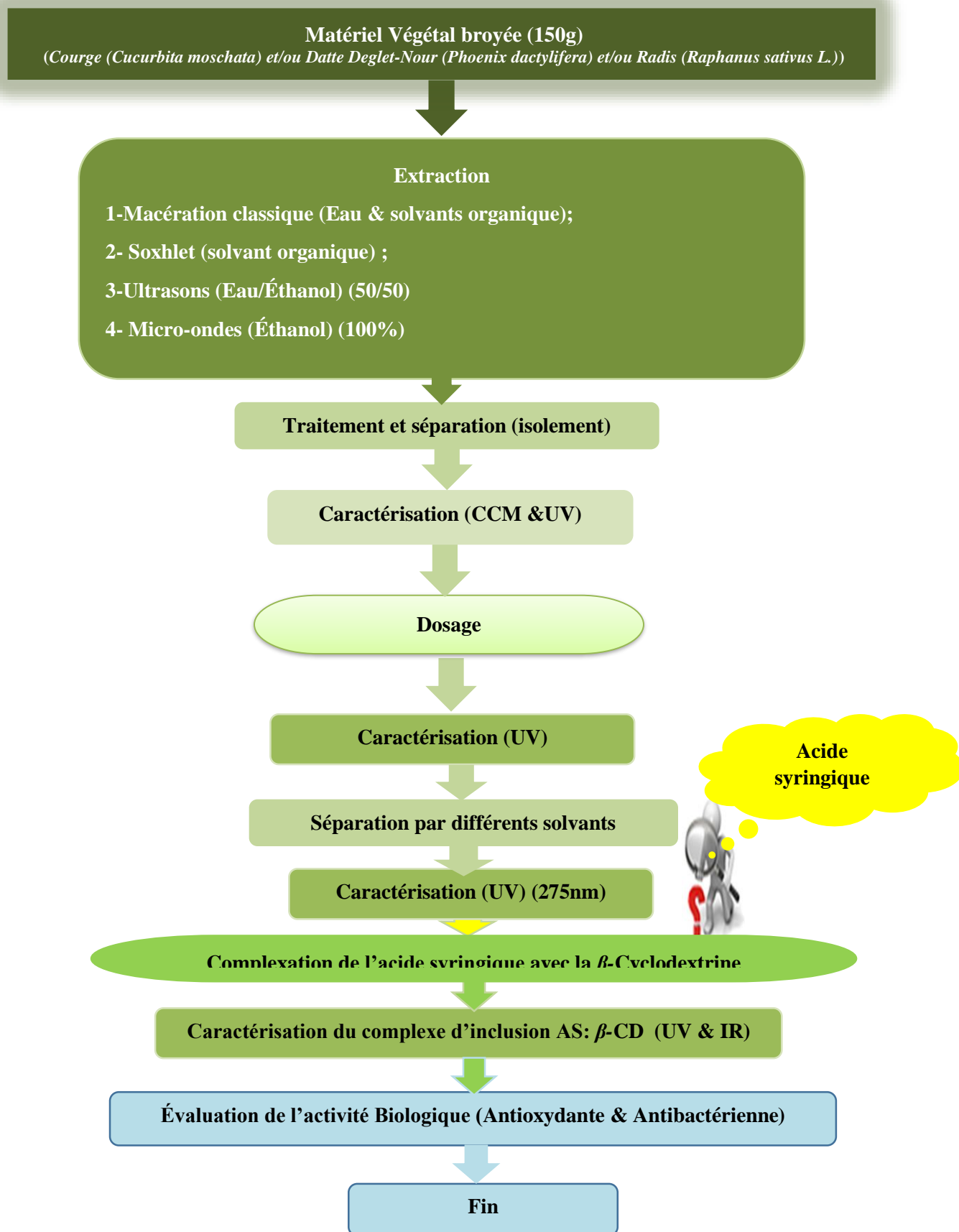


Figure.I.1 : Protocole général de l'extraction, de l'identification et de la caractérisation

I Matériel et Méthodes

I.1. Produits chimiques

Dans ce présent travail, nous avons utilisé : L'eau distillée, réactif de Folin-Ciocalteu 10% (volume/volume) provient de Sigma, Carbonate de sodium 7,5 % (poids/volume) : 7,5 g de carbonate de sodium dissous dans 100 mL d'eau distillée, méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle, éther de pétrole, chlorure d'aluminium, chlorure de fer, Acide sulfurique, Acide chlorhydrique sont obtenus auprès de Panreac, Cheminova, Prolabo, Aldrich, Organics et Janssen. (DPPH) 2-2diphén-1-picrylhydrazyl 0,04 mM, Bouillon nutritif, liquide : 13 g de bouillon en poudre dans un litre d'eau et Gélose Mueller Hinton (MH). Les étalons phénoliques (acide gallique) proviennent de Merck (Allemagne).

I.1.1. Matériel végétal

Les produits choisis ont été achetées du marché local de M'sila, pour l'extraction des acides phénolique est précision, l'acide syringique à titre de comparaison sont :

- La Courge (*Cucurbita moschata*) ;



- La datte *Deglet-Nour* (*Phoenix dactylifera*) ;



- Le Radis (*Raphanus sativus L.*).



I.1.2. Appareils

- Étuve à température réglable ;
- Balance de précision ;
- Bain thermostaté (70°C) ;
- Centrifugeuse de paillasse.

I.2.Méthode d'analyse

L'analyse des composés phénoliques et les acides phénoliques restent une étape importante, cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques.

I.2.1. Chromatographies

L'avancement des réactions est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (*Merk 60 F₂₅₄*) en utilisant des systèmes d'éluant appropriés. Les composés sont faiblement colorés, les taches peuvent être invisibles sur la plaque. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ($\lambda = 254$ nm et $\lambda = 356$ nm) (Lampe ultraviolette 254 / 365 nm) et par trempage dans des révélateurs spécifiques, un mélange acide (H₂SO₄/MeOH/H₂O : 10/45/45) pour les acides phénoliques ou une solution chlorure de fer(III) (préparée à partir de 2mL FeCl₃ dissout dans 450 mL d'eau et 50 mL d'acide sulfurique concentré), puis par chauffage pour la détection des acides phénoliques et/ou l'utilisation d'un révélateur de Folin Ciocalteu.

La CCM est une méthode permettant de contrôler la pureté d'une substance, de séparer les constituants d'un mélange et éventuellement de les identifier.

I.2.2. Spectroscopie ultraviolet-visible (UV-visible)

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode d'analyse des composés phénoliques et les acides phénoliques couramment utilisée dans les laboratoires. Elle est basée sur la capacité des molécules à absorber les radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. Le domaine UV-visible s'étend environ de 10 à 800 nm avec l'UV lointain entre 10 et 200 nm, le proche UV entre 200 et 400 nm et le visible entre 400 et 800 nm. L'appareil spectrophotométrie UV-Visible utilisé dans ce travail est de la référence SHIMADZU série UV-1800. Les échantillons à analyser ont été solubilisés dans l'éthanol absolu. Le domaine de scanner est entre (200-400nm), au sien du laboratoire d'électrochimie à l'université Mohamed BOUDIAF- M'sila.

I.2.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie IR est une technique d'analyse permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans un échantillon et d'en caractériser les groupements moléculaires afin d'obtenir de nombreuses informations sur la conformation et les éventuelles interactions. Dans le cas de molécules biologiques, elle permet de détecter des variations spectrales liées à différents constituants macromoléculaires comme les acides nucléiques, les

lipides, les glucides ou encore les protéines présentes dans le spécimen étudié, de façon qualitative et quantitative. Les principales applications de la spectroscopie IRTF en caractérisation des extraits phénoliques ont conduit à l'utilisation de cette technique pour identifier les différents groupes de phénols tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins condensés et les tannins hydrolysés.etc. Le nombre important de publications relatives aux applications de la spectroscopie IR montre l'intérêt de cette approche au niveau structural.

I.2.4. Point de Fusion (PF)

Le point de fusion est mesuré en utilisant un banc de Köfler de type WME. La détermination du point de fusion d'un composé permet d'assurer sa pureté.

I.3.Appareil Micro-ondes (MO)

L'extraction des acides phénoliques et la formation du complexe d'inclusion (β -CD/AS) est soumise aux irradiations au four à micro-onde domestique modifié de type LG-MH6565CPS de puissance de 200 à 1000 W.

I.4.Réacteur des Ultrasons (US)

Un bain à ultrasons (1000 W, modèle BT90H) de la compagnie Power Corporation ultrasons de Freeport en Illinois (USA) en combiné avec un générateur d'ultrasons de 170 kHz (Power Corporation Ultrasons) a été utilisé pour l'extraction des composés phénoliques et les acides phénoliques et la formation du complexe d'inclusion. Généralement le réacteur des ultrasons est notée par US ou représentée schématiquement par quatre parenthèses «))))».

I.5. Divers

I.5.1. Programme Chem Draw Ultra

Les structures chimiques ont été dessinés par le programme ChemDraw Prime 19.0 , ChemDraw Professional ChemOffice Professional 2D, 3D.

I.6. Optimisation des paramètres d'extraction des acides phénoliques & (fractionnement et isolement de l'acide syringique)

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'utilisation de plusieurs techniques d'extraction (la Macération, Soxhlet, l'Ultrason et le Microonde), a fin d'extraire certains des acides phénoliques ainsi qu'au dosage des composés phénoliques totaux, les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins en utilisant le réactif du Folin Ciocalteu et le trichlorure d'aluminium respectivement.

I.6.1. Extraction par macération

Pour extraire les acides phénoliques de (*Cucurbita moschata* et/ou *Phoenix dactylifera* et/ou *Raphanus sativus.L.*) par macération, nous avons opté pour le protocole décrit dans la littérature [1], en y apportant quelques modifications : 150g du matériel végétal broyé est immergé à température ambiante pendant 12h (deux fois) dans 375mL de solutions aqueuses des solvants : éthanol, acétate d'éthyle, acétone, méthanol à l'état pur et ces mêmes solvants à 70% et eau à froid et à chaud, le mélange est broyé suivi d'une agitation pendant une heure et demie (**Figure.I.2**). Après filtration sous vide, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 t/min à température ambiante, ce dernier est filtré sur papier filtre, la solution est concentrée sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif type rotavapor à une température de 50 -60°C, jusqu'à avoir des volumes d'extraits d'environ 2 ml, le produit est récupéré sous forme d'huile jaune pâle, le produit désiré est conservé à l'abri de la lumière pour les analyses ultérieures.



Figure I. 2 : Extraction par macération

I.6.2. Extraction au Soxhlet

L'extraction au Soxhlet a été réalisée selon le protocole décrit dans la littérature avec quelque modification [2]. Cette méthode consiste à extraire les constituants d'un solide par simple contact avec un solvant à l'aide d'un extracteur de type Soxhlet.

Presque 150g du matériel végétal broyée sont déposés dans la cartouche du Soxhlet (*utilisation du papier filtre comme cartouche*). Le ballon est rempli de 300mL de solvant organique, puis surmonté par un réfrigérant (**Figure I. 3**). Le solvant vaporisé du ballon est condensé par la suite traverse par percolation le lit de solide pour donner une solution qui s'écoule périodiquement dans le ballon par un siphon. La solution contenue dans le ballon s'enrichit de plus en plus en solutés au fur à mesure que l'extraction progresse. Aussi, l'extraction au Soxhlet est faite par l'utilisation de différents solvants de polarité croissante. L'acétate d'éthyle, l'acétone, et enfin le méthanol. On obtient trois extraits végétaux en

fonction du solvant utilisé (acétate d'éthyle, acétone et méthanol). Les extraits sont concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression à température 50°C dans un rotavapeur, les extraits obtenus. Ensuite, ils ont été séchés à l'étuve à 50°C et conservé à l'abri de la lumière pour les analyses ultérieures.



Figure I. 3 : Extraction au Soxhlet (Montage de Soxhlet)

I.6.3. Extraction assistée par ultrason (US)

Pour extraire les acides phénoliques du matériel végétal broyé (*Cucurbita moschata* et/ou *Phoenix dactylifera* et/ou *Raphanus sativus.L.*) assistée par ultrason a été extraite dans un appareil à ultrason dont un échantillon de 150g du matériel végétal broyé a été extrait avec 300 mL d'un mélange éthanol/eau (9/1). Trois paramètres d'extraction ont été examinés dans l'ordre suivant: temps d'extraction (10 - 45 min) et la température d'extraction (30 - 60 °C). L'extrait a été filtré à l'aide d'un papier filtre, le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression à température 50°C dans un rotavapeur, le produit obtenu a été séché à l'aide d'une étuve à 50°C, puis et conservé à l'abri de la lumière pour les analyses ultérieures (Figure.I.4).



Figure.I.4 : Extraction assistée par ultrason

I.6. 4.Extraction assistée par micro-ondes (MO)

L'extraction assistée par micro-ondes est réalisée dans des conduits identiques à l'US. Elle est accélérée par l'utilisation de micro-ondes domestique. Ainsi 150 g de matériel végétal broyé (*Cucurbita moschata* et/ou *Phoenix dactylifera* et/ou *Raphanus sativus.L.*) sont introduites dans la chambre d'extraction avec 50 mL d'éthanol 80%. L'extraction dure 180s et est répétée 3 x fois sous puissances de 350 W. Le produit obtenu a été récupéré par 50ml d'éthanol/ méthanol (v/v) a ensuite été filtrés et le filtrat a été centrifugé à 4000 tr/min pendant 5 min. Le filtrat restant a été évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à 50°C, ensuit a été conservé à l'abri de la lumière pour les analyses ultérieures (Figure.I.5).



Figure I. 5 : Extraction assistée par micro-onde

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 :

$$\text{Rendement} = (\text{PE} / \text{PM}) \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

PE : Poids d'extrait brut ; **PM** : Poids du matériel végétal broyé.

I.7. Dosage des composés phénoliques

La quantification des composés phénoliques est le plus souvent réalisée par absorptiomètre dans le visible ou par chromatographie en phase liquide (HPLC) avec une détection spectrométrique dans l'ultraviolet. La méthode absorptiomètre est facile à mettre en œuvre. En revanche, la chromatographie en phase liquide est sensible et spécifique, mais

demande un appareillage coûteux et se heurte à l'absence de composés commerciaux de référence pour les identifications.

I.7.1. Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin Ciocalteu [3]. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit dans le littérature [4] en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 μl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 mL de réactif Folin Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 μl d'une solution de carbonate de sodium à 4.25 % (m/v) (4.25g de Na_2CO_3 , dans 100mL de l'eau distillée). Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

Tableau.I.1.

Tableau.I.1. Dosage des polyphénols totaux

Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de l'acide gallique	0	10	20	40	60	80	100
Volume de l'extrait (μl)	0	200	200	200	200	200	200
Volume de Folin Ciocalteu (μl)	0	100	100	100	100	100	100
Volume de Na_2CO_3 (μl)	0	800	800	800	800	800	800

Composés phénoliques + Réactif de Folin (Mo^{6+} W^{6+}) \rightarrow Réactif réduit de Folin ($\lambda_{\text{max}} = 690 - 710 \text{ nm}$) (Figure.I.6)

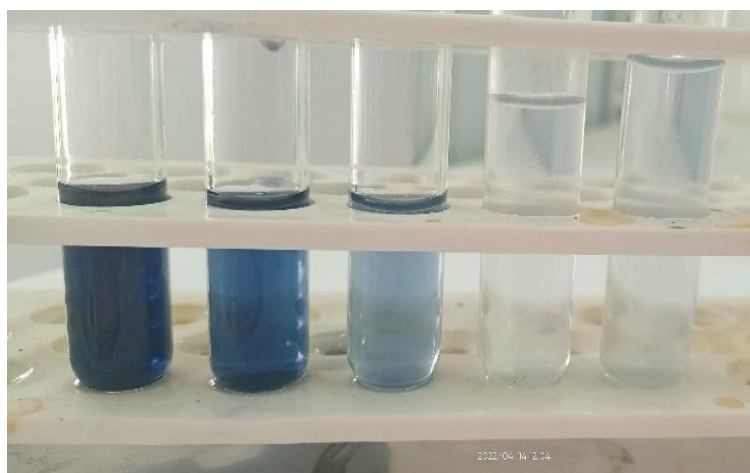


Figure.I.6 : Test positif de Folin

I.7.2. Dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) avec lequel ils forment des complexes aluminium-flavonoïdes. La méthode adoptée pour le dosage des flavonoïdes est celle décrite dans la littérature [5]. Un volume 1mL de chaque extrait convenablement dilué dans un mélange éthanol/eau est ajouté à 1mL d' AlCl_3 à 2% (2g d' AlCl_3 dans 100 mL d'eau distillée). Ensuite, la solution est bien homogénéisée et l'absorbance a été mesurée immédiatement à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible [5].

I.8. Screening phytochimique

I.8.1. Recherche des tanins

Méthode 1.

En milieu acide fort (HCl 35%), les tanins précipitent plus ou moins rapidement, en fonction de leur état de condensation (les composés les moins condensés restent en solution). Cet indice renseigne sur la structure et le niveau de polymérisation des composés phénoliques [6].

Méthode 2.

Quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5 % dans l'éthanol (solution préparée extemporanément) sont ajoutées à quelques ml de décocté aqueux à 5 % ; une coloration bleue - noirâtre se développe en présence de tanins galliques. La coloration est brune-verte en présence de tanins catéchiques [7] on a la réaction de Stiasny* .

I.8.2. Recherche des anthocyanes

Quelques gouttes d'ammoniaque NH_4OH 10% (10g dans 100mL) sont ajoutées à 0,5 mL d'extrait aqueux. La réaction donne une coloration bleu foncé en présence d'anthocyane [8].

Dans ce travail, nous avons étudié la stabilité de la fraction isolée d'acide Syringique (AS) par la β -Cyclodextrine (β -CD)(AS : β -CD)

* Réaction de Stiasny : En présence du réactif de Stiasny, les tanins condensés précipitent. 0,5 g de matériel végétal est additionné à 5mL d'acétate d'ammonium (5 M) et 3 à 4 gouttes d'une solution de FeCl_3 à 2 %, une coloration bleue noire se développe confirmant ainsi l'existence de tanins galliques.

I.8. Étude de la stabilité de la fraction isolée (Acide syringique) par la Formation de complexe d'inclusion (AS/ β -CD)

Les acides phénoliques sont des molécules associées par des liaisons hydrogène, et donc peu volatiles. Ils sont généralement des principes solubles dans les solvants organiques polaires. Ce sont des substances peu stables, facilement oxydables, sensibles aux températures élevées et aux pH excessifs, et qui ont tendance à s'isomériser sous l'influence des rayons ultraviolets. [9].

La lumière, le pH, la température, la nature du solvant, la présence d'enzyme, d'ions métalliques et d'oxydants ont été décrits comme des paramètres influençant la stabilité des polyphénols [10]. L'acide syringique est facilement oxydable et leur transformation est possible aussi, qui rendant leurs utilisations limitées et difficiles.

I.8.1. Généralité sur les Cyclodextrine (CDs)

Les CD sont des malto-oligosaccharides cycliques [11,12], naturels et non réducteurs de formule moléculaire $(C_6H_{10}O_5)_n$, généralement constitués de 6 à 12 unités α -D-glucopyranose dans la conformation chaise $4C-1$ liées par des liaisons α -(1 \rightarrow 4). Les trois cyclodextrines les plus courantes contiennent 6, 7 et 8 unités glycosides et sont nommées respectivement α -, β - et γ -cyclodextrines (Figure. I.7). Il existe de nombreuses nomenclatures pour ces composés : ainsi la β -cyclodextrine peut être appelée β -Dextrine de Schardinger [13,14], cyclomaltoheptaose, cycloheptaglucone, cycloheptamylose ou encore cyclo- α -(1 \rightarrow 4)-glucoheptoside pour nommer.

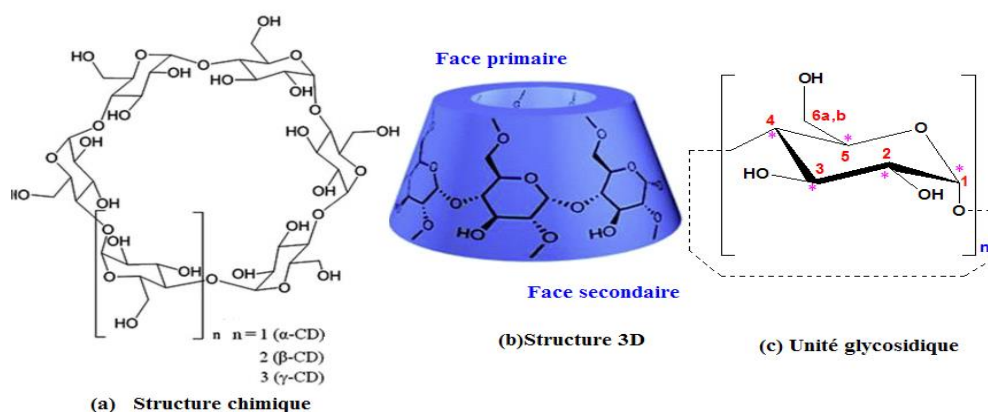


Figure.I.7 : Représentation schématique des CDs (a) Structure chimique et (b) Structure 3D du CD (c) unité glycosidique

Les groupements hydroxyles secondaires portés par les carbones C-2 et C-3 se situent sur le côté le plus large du cône appelé face secondaire tandis que les hydroxyles primaires en C-6 se trouvent du côté le plus étroit (face primaire). La libre rotation des hydroxyles primaires

diminue le diamètre effectif de la cavité du côté où ils se trouvent alors que les hydroxyles secondaires sont en position plus figée. L'intérieur de la cavité est constitué par des atomes d'hydrogène portés par les carbones C-3 et C-5 ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique, ce qui lui confère un caractère apolaire [13,14].

I.8.2. Propriétés des cyclodextrines

La structure des cônes est formée autour d'un squelette carboné construit à partir d'unités de glucose liées entre elles par des atomes d'oxygène glycosidique. Du fait des positions spatiales des différents groupes constitutifs des cyclodextrines, cette charpente crée des cavités moléculaires aux propriétés très primitives. Cette cavité d'un diamètre d'environ 0,57 à 0,95 nm (**Figure.I.8**) leur permet de contenir de nombreux composés organiques pour former des complexes d'inclusion à l'état solide ou en solution [16,17].

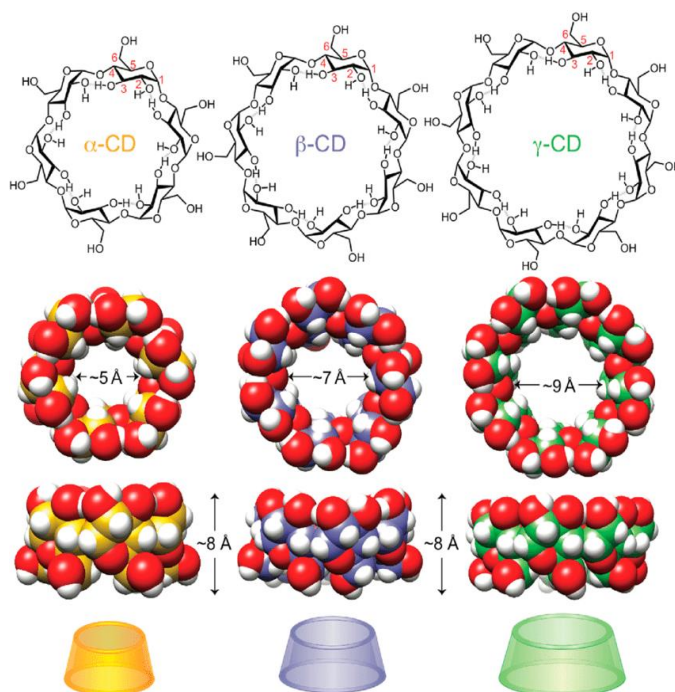


Figure.I.8 : Structure tridimensionnelle des différentes cyclodextrines [17]

Tableau I.2 : Caractéristiques des cyclodextrines naturelles [18, 19]

Caractéristiques	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre d'unités répétitives de glucose	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse moléculaire (kg/mol)	972	1135	1279
Solubilité (H ₂ O, 25°C), mol/l	0.1211	0.0163	0.0168
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100mL)	14.5	1.85	23.2
Température de fusion (°C)	275	280	275

I.8.3. Complexe d'inclusion

Les CDs forment des complexes d'inclusion avec un grand nombre de molécules. La formation des complexes d'inclusion peut se produire aussi bien en solution qu'à l'état solide (Figure.I.9).

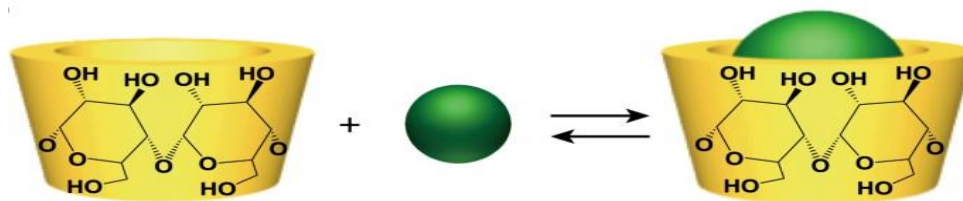


Figure.I.9 : Schéma général (3D) de la formation d'un complexe d'inclusion (1:1) entre une molécule hôte CD et une molécule invitée [20].

En solution, la cavité de CD est occupée par des molécules d'eau. Les molécules d'eau sont donc facilement remplacées par des molécules moins polaires. Des complexes de structure et stœchiométrie plus compliqués 2/1, 1/2 et 2/2 peuvent également être obtenus (Figure.I.10) [19].

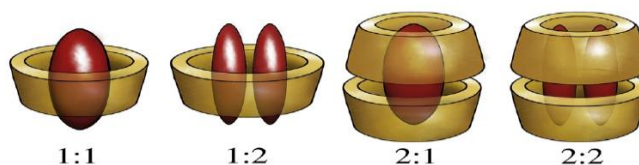


Figure.I.10 : Représentation (3D) des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion [17]

Les complexes d'inclusion formés entre les CDs et les molécules invitées confèrent aux complexes des propriétés physicochimiques et biologiques distinctes des propriétés physicochimiques et biologiques qui séparent les CDs des molécules contenues [18].

I.8.4. Application des CDs

Dans les années 1940, cinquante ans après la découverte des CDs seule une cinquantaine de publications était recensée. Aujourd'hui, l'utilisation et l'étude des CDs sont observées puisque plus de treize mille travaux sur les CDs ont été publiés. Compte tenu de leurs propriétés, les cyclodextrines trouvent des applications essentiellement dans l'industrie pharmaceutique (solubilisation, stabilisation, augmentation de la biodisponibilité de principes actifs) [22-24], et alimentaire (encapsulation des arômes) [25], mais également en agriculture

et dans l'industrie textile, cosmétique ou chimique. Elles peuvent être utilisées dans les méthodes séparatives (séparation d'isomères et d'énantiomères) et dans les réactions catalytiques grâce à leur faculté à mimer les enzymes [26, 27].

I.8.5. Formation de complexe d'inclusion (β -CD)

La préparation du complexe d'inclusion entre la β -CD et de la fraction isolé (Acide syringique) (invité) avec le coefficient stœchiométrie (1/1), a été réalisée par deux méthodes. Formation du complexe d'inclusion par l'irradiation via micro-onde et l'activation par les ultrasons. Une quantité de mélange éthanol/eau (90/10) est ajouté à une quantité de β -CD ($M = 1135 \text{ g/mol}$, $m = 520\text{mg}$, $n = 0.45\text{mmol}$) ($15\mu\text{M}$) et une quantité d'invité correspondant à un rapport molaire (1/1), le produit brut est purifié par cristallisation dans le mélange 1/1 de AcOEt : Ether de pétrole, le mélange est laissé à l'air libre, jusqu'à l'apparition d'un précipité, ce dernier est filtré, puis séché sous vide, le produit est récupéré sous forme d'une poudre blanche.

I.9. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de la fraction isolée d'acide Syringique (AS), Extrait (A), Extrait (B) et Extrait (C) libre et en complexe

I.9.1. Activités antibactériennes

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'acide syringique isolé de chaque produit et leur complexe d'inclusion, nous avons utilisé trois bactéries (une à Gram positif et deux à Gram négatif). Ces souches ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Université Mohamed Boudiaf -M'sila, et ont été transférées dans 3mL d'un milieu nutritif dans un tube à essais de 22 mL, puis une suspension dans de l'eau physiologique a été préparée. La culture obtenue a été diluée afin de donner une concentration approximative de 10^6 à 10^8 UFC / mL (0,5 Mc Farland standard) en conformité avec les recommandations par CLSI (2020) [28].

Les souches de références *S. aureus* ATCC 22923 (Gram positive), *E. coli* ATCC22922 et *P. aeruginosa* ATCC27853 (Gram négative).

L'activité antibactérienne de l'acide syringique (AS) isolé de chaque produit et leur complexe d'inclusion libre et/ou liés au β -CD est évaluée par la méthode de diffusion de disque. L'obtention de l'inoculum final s'effectue de la manière suivante : Chaque culture bactérienne est ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies bien isolées. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, quelques colonies sont transférées à l'aide d'une anse de platine dans un tube à essai contenant de l'eau physiologique. Les densités optiques sont ajustées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625

nm. La densité optique doit être comprise entre 0,08 et 0,1 l'équivalent de 10^8 UFC/mL. L'inoculum ainsi préparé est dilué au 1/100^{ème} dans de l'eau physiologique. La densité optique finale obtenue de l'inoculum doit être équivalente à 10^6 UFC/mL. Les boîtes de pétri contenant le milieu Muller Hinton (MH) gélosé sont ensemencées par inondation [29]. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre préparés en extemporané sont stérilisés par autoclavage, puis imprégnés l'acide syringique isolé de chaque produit et leur complexe d'inclusion à tester dissous dans l'eau distillée (15µL pour chaque disque) car un problème de solubilité des dérivés libres a eu lieu. Les disques sont placés aseptiquement sur la gélose préalablement inoculée. Les boîtes sont laissées une heure à température ambiante, ensuite retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition a été mesuré en millimètres disque (inclus).

L'activité antibactérienne est déterminée par mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques. L'absence de croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque, dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre [30]. Tous les tests ont été répétés trois fois pour minimiser l'erreur.

I.9.2. Activités antioxydante

Évaluation de l'activité de l'acide syringique isolé de chaque produit et leur complexe d'inclusion

La méthode a été choisie pour leur facilité de mise en œuvre et leur fiabilité pour l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide syringique isolé et ses complexes d'inclusion. Il s'agit du test au 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH*).

La méthode utilisée a été décrite par Molyneux [31]. Une quantité de 4mg de poudre de DPPH* a été dissoute dans 100 mL de méthanol et la solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière pendant 12 h. Chaque tube à essai contient 0,8mL d'une solution méthanolique des substances testées à différentes concentrations (100,200,400,600,1000, 1200, 1400, 1600, 1800 et 2000 µg/mL), la solution de DPPH* (3.2mL) a été rajoutée. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 30 minutes au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée.

Mesure de l'activité antioxydante par le test DPPH

Le test DPPH repose sur la théorie qu'un donneur d'hydrogène est un antioxydant. Le radical DPPH* (*radical libre*), de coloration violette et qui présente une bande d'absorption caractéristique à 517 nm, accepte l'hydrogène qui est cédé par l'antioxydant pour former le

DPPH (*forme réduite*). L'effet de l'antioxydant est proportionnel à la disparition du radical DPPH[•] et à la décoloration de la solution du violet au jaune [31] (Figure.I.2).

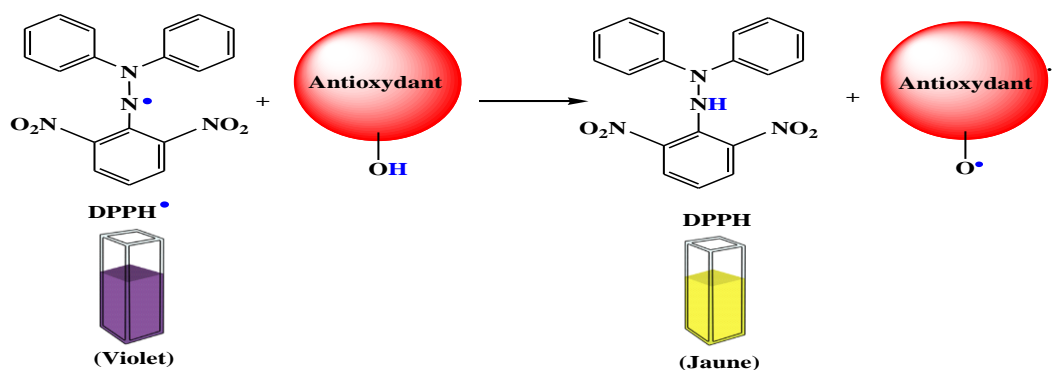


Figure.I.11 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant [31]

Le pourcentage d'inhibition ($I\%$) ou bien (*l'activité antioxydante*) du radical libre DPPH[•] est calculé selon la formule suivante.

$$I\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

Avec :

$I\%$: Le pourcentage d'inhibition ;

A_0 : Absorbance du radical (DPPH[•]) ($t = 0$ min) ;

A : Absorbance de l'échantillon contenant une dose de l'acide syringique isolé et ses complexes d'inclusion testé ($t = 30$ min);

CI_{50} : La concentration des échantillons synthétisés provoquant 50% d'inhibition du radical (DPPH[•]), est déterminée graphiquement par la régression linéaire à partir du graphe des pourcentages d'inhibition ($I\%$) en fonction de concentrations (C) des échantillons.

I.9.3. Analyse statistique

Les données expérimentales obtenues du dosage et de l'évaluation des activités biologiques ont été exprimées par une moyenne et plus ou moins l'écart type. Le coefficient de corrélation des différentes propriétés a été déterminé en utilisant les programmes Origine 9 et l'Excel 2010 (*Histogramme*).

Référence Bibliographique

- [1]. Romani A., Pinelli P., Cantini C., Cimato A., Heimler D. (2006). Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus L.*). *J. Food Chem.* 95. 221-225.
- [2]. Vongsak B. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products.* 44 : 566 - 571.
- [3]. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* (299), 152-178.
- [4] Blouin J., Llorca L., Montreau F.R., Dufour J.H.(1972). Étude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *Connaissance de la vigne et du vin*, 6, 405-413.
- [5]. Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J C., Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung.* (1996). 46 (11): 1086-1089.
- [6]. Ribéreau Gayon, P., Stonestreet E. (1966). Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie analytique*, 48(4). 188-196.
- [7]. Karumi Y., Onyeyile P.A., Ogugbuaja V.O .(2004). Identification of active principles of *M.balsamina* (Bals am Apple) leaf extract. *J Med Sci.* 4(3) : 179 - 182 .
- [8]. Rizk A. M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar. I. a chemical survey of sixty plants. *Fitoterapia. Includes references. Summary in Italian.* 53, 35-44.
- [9]. Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.* 3^{ème} Ed Tec et Doc. Paris, 101-120.
- [10]. Anthoni J. (2007). Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoïdes. Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine-France. 4-21.
- [11]. Saenger W., Jacob J., Geüller K., Steiner T., Hoffmann D., Sanbe H., Koizumi K., Smith S.M., Takaha T. (1998). Structures of the Common Cyclodextrins and Their Larger Analogues-Beyond the Doughnut. *Chem. Rev.* 98:1787-1802
- [12]. Stominska L., Szostek A., Girzeskowiak A. (2002). Studies on enzymatic continuous production of cyclodextrins in an ultrafiltration membrane bioreactor. *Carbohydrate Polymers.* 50: 423-428.

Référence Bibliographique

- [13]. Makedonopoulou S., Mavridis I.M. (2001). The dimeric complex of cyclomaltoheptaose with 1,14-tetradecanedioic acid. Comparison with related complexes. *Carbohydrate Research*. 335(3): 213-220
- [14]. Szejtli J. (1988). Cyclodextrin Technology. Davies, J.E.D (Ed) Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. 450-455.
- [15]. Szejtli J. (2004). Past, Present, and Future of Cyclodextrin Research. *Pure and Applied Chemistry* 76(10):1825-1845.
- [16]. Armspach D., Gattuso G., Königer R., Stoddart J.F. (1999). Cyclodextrins. In: Bioorganic Chemistry : Carbohydrates. Hecht, S.M. (Ed.), Oxford University Press, Oxford. 458-488.
- [17]. Baiping R., Binbo J., Rundong H., Mingzhen Z., Hong Ch., Jie M., Yan S., Lingyun J., Jie . HP- β -cyclodextrin as an inhibitor of amyloid- β aggregation and toxicity. *Physical Chemistry Chemical Physics* .(2016). 18 (30) , 20476-20485.
- [18]. Challa R., Ahuja A., Ali J., Khar R.K. (2005). Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. *APPS Pharmscitech*. 6: E329-E357.
- [19]. Cal K., Centkowska K. (2008). Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 68: 467-478.
- [20]. Marques H.M.C. (2010), A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flav. Frag.J.* 25(5): 313-326.
- [21]. Landy D., Tetart F., Truant E., Blach P., Fourmentin S., Surpateanu G., (2007). Computational insights about the dynamic behavior for the inclusion process of deprotonated and neutral aspirin in β -cyclodextrin. *Incl J. Phenom. Macro*. 57(1-4) : 409-413
- [22]. Szejtli J. (1998). Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chem. Rev*. 98: 1743-1753.
- [23]. Bouleghlem H., Aouf N.E., Zidane S., Cherifi H. (2020). Preparation, Characterization, and Biological Study of a New Inclusion Complex of 1, 3, 4, 6-Tetra-*O*-acetyl-2- deoxy-2-[benzyliden (amino)]-beta-D-glucosamine and beta-Cyclodextrin. *Ind. J. Heterocycl. Chem*. 30(2), 171-179.
- [24]. Zidane S., Maiza A., Bouleghlem H., Fenet B., Chevalier Y. (2019). Inclusion complex of Tramadol in β -cyclodextrin enhances fluorescence by preventing self-quenching. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem* . 93(3-4), 253-264.
- [25]. Del Valle E.M.M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. 39: 1033-1046

Référence Bibliographique

- [26] .Szente L., Szejtli J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science & Technology*. 15: 137-142.
- [27]. Schneiderman E., Stalcup A.M. (2000). Cyclodextrins: a versatile tool in separation science. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 745: 83-102.
- [28]. P-A., Wayne. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: *Nineteenth Informational Supplement*. Wayne Pennsylvania, USA. 30th ed. 2020.
- [29]. Drobniowski F.S.R. Gerdes S., Hoffner. (2007). Antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis (EUCAST document E.DEF 8.1)) Report of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). *Clin Microbiol Infect*. 13(12), 1144-1156.
- [30]. J-N., Joffin G. (2006). Leyral. Microbiologie Technique. Dictionnaire des techniques. *A.S.M Washington*. Tome I. 4th Ed 967-971.
- [31]. Molyneux P. (2003). The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin. *Sci J. Techno*. 26(2), 211-219.



Chpaitre II
Résultats et Discussion

II. Résultats et discussions :

II.1. Procèdes d'extraction & le rendement d'extraction

II.1.1. Étude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans de la matière végétale. Elle est influencée par sa nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes.

Dans ce travail, nous avons utilisé quatre méthodes d'extraction : Extraction par macération classique (eau, éthanol absolu, éthanol aqueux, méthanol, acétone et acétate d'éthyle), extraction par Soxhlet (éthanol absolu, éthanol aqueux, méthanol, et acétate d'éthyle) et extraction assistée par ultrasons (éthanol absolu, éthanol aqueux) et assistée par micro-onde (éthanol absolu, éthanol aqueux).

L'étude comparative de ces quatre méthodes d'extraction se porte normalement sur :

- Le rendement d'extraction des composés phénoliques;
- Le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux ;
- Séparation et/ou isolément par différents solvants ;
- L'étude de la stabilité de la fraction isolée l'acide Syringique (AS) par la β -Cyclodextrine (β -CD)(AS : β -CD) (1:1);
- L'activité biologique (antibactérienne et antioxydant).

II.1.1.1. Détermination du rendement

Dans cette étude, le rendement (l'extrait, obtenu après évaporation, contenant les composés phénoliques et les flavonoïdes) a été déterminé par rapport à 150 g de la matière végétale broyée (la Courge musquée *Cucurbita moschata*, la date *deglet Nour Phoenix dactylifera* et le radis *Raphanus sativus* L.).

Le poids de l'extrait est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation). Les résultats de cette manipulation sont représentés dans les **tableaux II,1,2 et 3** et les **figures II.1, 2 et 3**.

Tableau.II.1 : Poids d'extrait et rendement correspondant des quatre méthodes d'extraction à partir de la courge musquée (*Cucurbita moschata*)

Modes de l'extraction	Solvants	Rendement %*
Macération classique	Eau	8,01
	Acétate d'éthyle	7.25
	Méthanol	17.52
	Acétone	2.5
	Éthanol aqueux*	35.2
Soxhlet	Méthanol	5.6
	Éthanol absolu	25.00
	Éthanol aqueux*	7.3
Ultrasons	Éthanol aqueux*	63.20
	Éthanol absolu	55.20
Micro-ondes	Éthanol aqueux*	50.20

*Éthanol aqueux (EtOH/H₂O) ; * Ces rendements sont exprimés en pourcentage de la matière fraîche.

La comparaison des rendements des quatre modes est donnée sur l'histogramme ci-dessous (**Figure.II.1**).

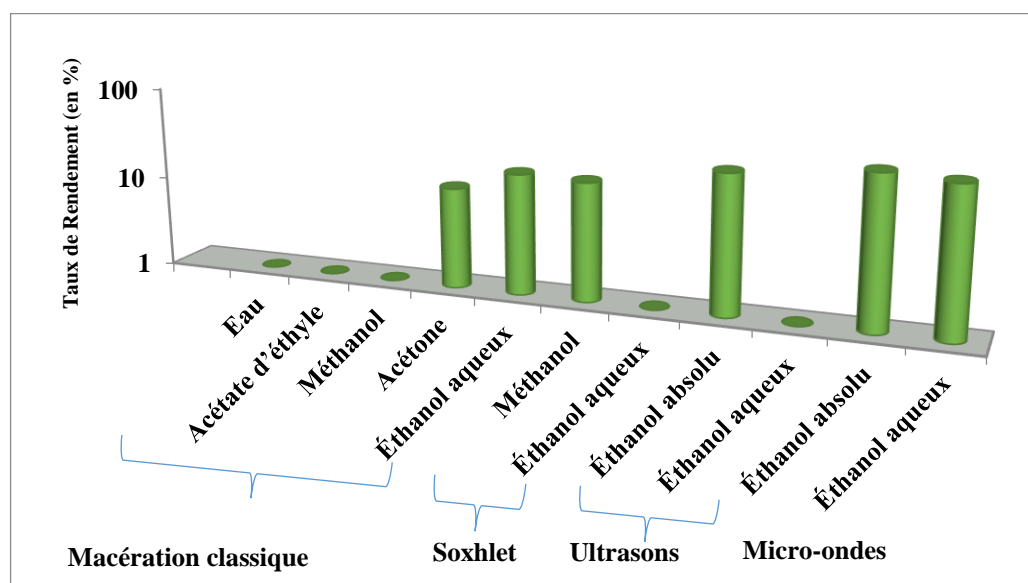


Figure.II.1 : Histogramme illustrant le taux de rendement en extraits de courge musquée *Cucurbita moschata* (en pourcentage de poids frais)

Tableau.II.2 : Poids d'extrait et rendement correspondant des quatre méthodes d'extraction à partir de la Dates Deglet Nour (*Phoenix dactylifera*)

Modes de l'extraction	Solvants	Rendement %*
Macération classique	Eau	9,6
	Acétate d'éthyle	14,6
	Méthanol	9,06
	Acétone	12,5
	Éthanol aqueux*	20,5
Soxhlet	Méthanol	19,3
	Éthanol absolu	32, 3
	Éthanol aqueux*	32,2
Ultrasons	Éthanol aqueux*	75,48
	Éthanol absolu	42,85
Micro-ondes	Éthanol aqueux*	38,6

*Éthanol aqueux (EtOH/H₂O) ; * Ces rendements sont exprimés en pourcentage de la matière fraîche.

La comparaison des rendements des quatre modes est donnée sur l'histogramme ci-dessous (Figure.II.2).

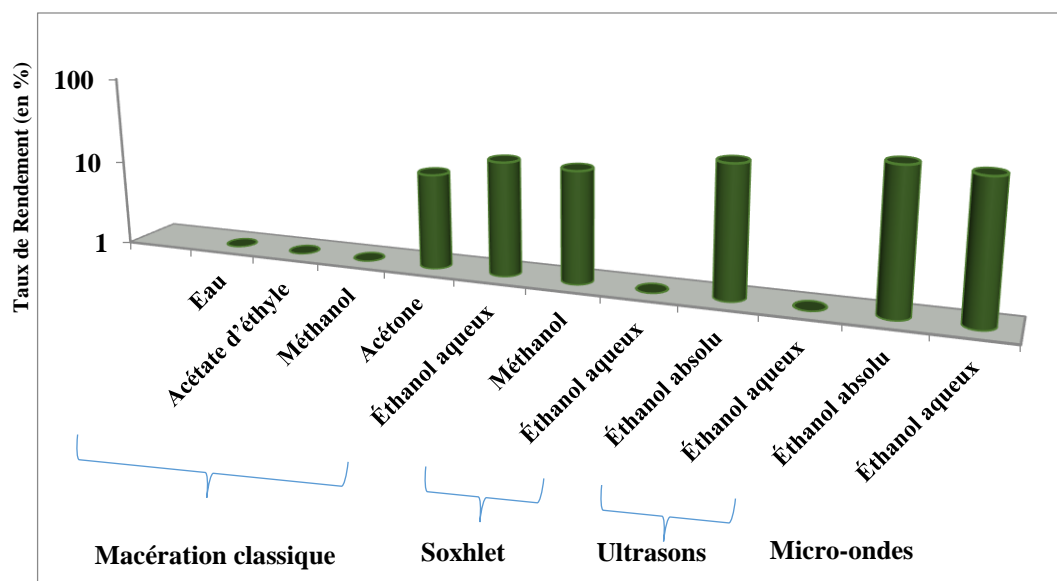


Figure.II.2 : Histogramme illustrant le taux de rendement en extraits de *Dates Deglet Nour Phoenix dactylifera* (en pourcentage de poids frais)

Tableau.II.3: Poids d'extrait et rendement correspondant des quatre méthodes d'extraction à partir de le Radis (*Raphanus sativus* L.)

Modes de l'extraction	Solvants	Rendement %*
Macération classique	Eau	12,68
	Acétate d'éthyle	16,7
	Méthanol	9,88
	Acétone	9.2
	Éthanol aqueux*	20.2
Soxhlet	Méthanol	19.25
	Éthanol absolu	2,08
	Éthanol aqueux*	35.5
Ultrasons	Éthanol absolu	59,04
	Éthanol aqueux*	69.75
Micro-ondes	Éthanol aqueux*	45.20

*Éthanol aqueux (EtOH/H₂O) ; * Ces rendements sont exprimés en pourcentage de la matière fraîche.

La comparaison des rendements des quatre modes est donnée sur l'histogramme ci-dessous (Figure.II.3).

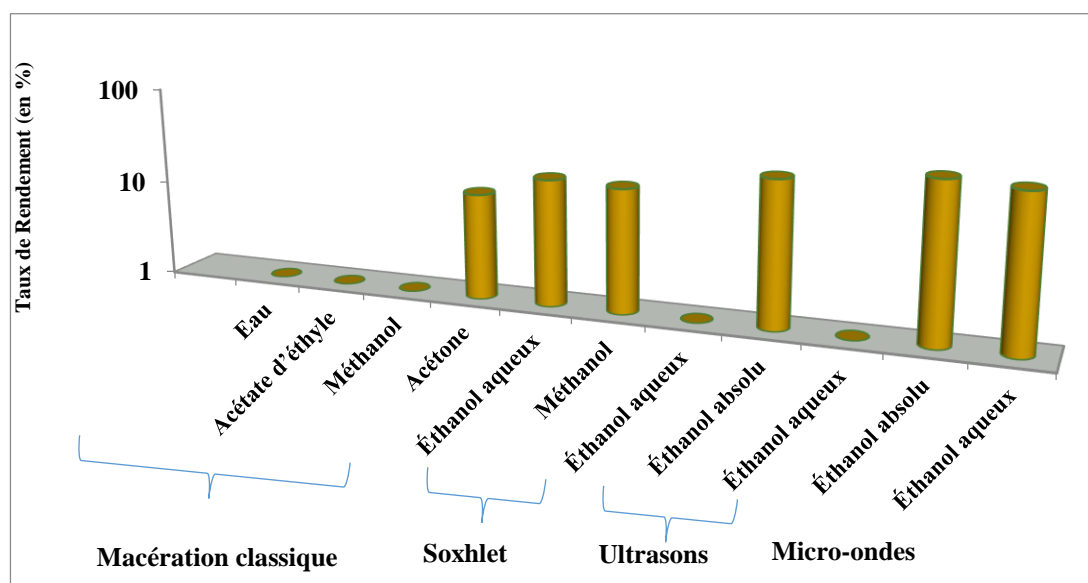


Figure.II.3 : Histogramme illustrant le taux de rendement en extraits de Radis *Raphanus sativus* L. (en pourcentage de poids frais)

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que :

- ✓ Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction assistée par ultrasons dans les deux cas (éthanol aqueux et éthanol absolu) suivie par la méthode d'extraction Micro-onde, la méthode d'extraction par Soxhlet et enfin par macération classique;

✓ Le rendement de l'extraction assistée par ultrasons dans le cas de l'utilisation de l'éthanol/H₂O (éthanol aqueux) dans les cas les trois matières végétaux est plus élevé que celui de l'extraction assistée par ultrasons dans le cas de l'éthanol (éthanol absolu) dans les trois matières végétales.

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il est dépend de plusieurs paramètres tels que : le mode d'extraction, le solvant, la température, le temps d'extraction, le mode d'agitation et la matière végétale utilisé.

D'après la littérature, l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et/ou dans le solvant organique. Dans ce contexte, nous avons remarqué que le solvant le plus efficace pour extraire les composés phénoliques et/ou flavonoïdes à partir des trois matières végétales utilisé dans ce travail est l'éthanol aqueux suivi par l'éthanol absolu (dans le cas de l'extraction assistée par ultrasons).

Par ailleurs, l'extrait ne renferme pas uniquement les composés phénoliques et les flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles. Dans notre cas, peut être les trois matières végétales broyée solubles dans l'eau sont présentes en quantité importante et sont l'un des causes essentielles de l'augmentation du rendement correspondant à la méthode d'extraction assistée par ultrasons.

Ces substances peuvent être de nature protéiques ou carbohydrates (dans le cas de les *dattes Deglet Nour Phoenix dactylifera*). Il y a par ailleurs une autre raison qui pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction, c'est le temps d'extraction qui est généralement très long dans le cas de la première méthode (macération classique) (12 heures x 2) par rapport aux deux autres modes d'extractions (45 min). Selon la littérature, la progression de temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles.

Les résultats révèlent une influence significative du pouvoir d'extraction du solvant sur le rendement. Le solvant mixte s'est montré particulièrement efficace. En effet, l'éthanol aqueux présente les plus forts rendements. De plus, les résultats indiquent que les teneurs en composés phénoliques totaux varient significativement selon le solvant utilisé et le mode utilisé.

Dans le cas général, les composés phénoliques, classe de molécules plutôt hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité forte. Ainsi, les solvants qui ont été retenus pour notre étude sont l'éthanol, qui présente une polarité élevée et l'eau dont la

polarité est la plus élevée. En revanche, un mélange éthanol/eau avec des rapports molaires différents, augmente la polarité du mélange, en plus, il donne une spécificité d'extraire les acides phénoliques et précisément l'acide syringique, de plus, les modes d'extraction utilisés dans cette étude est pour but d'améliorer l'extraction de l'acide syringique en appliquant des ondes ultrasons (extraction assistée par ultrasons) ou des micro-ondes (extraction assistée par micro-ondes).

II.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin Ciocalteu

L'analyse qualitative des extraits des substances (A,B et C) permet de mettre en évidence de la présence et/ou l'absence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins et des anthocyanes, par des réactions de caractérisation qualitatives, des réactions qui sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques pour chaque famille de composés ou un examen sous UV.

II.2.1. Teneur en composés phénoliques totaux

Notre objectif est de déterminer la teneur des composés phénoliques totaux de l'extrait issu par les trois modes. Avant les analyses quantitatives des composés phénoliques totaux, nous avons étudié à l'œil nu le changement de couleur après l'ajout de réactif de Folin Ciocalteu dans les trois matières végétales étudiées.

Les Résultats du dosage des composés phénoliques dans les extraits (A, B et C) sont présentés dans les **tableaux.II.4,5 et 6**.

Tableau.II.4 : Résultats du dosage des composés phénoliques après l'ajout de réactif de Folin Ciocalteu de l'extrait de la courge (*Cucurbita moschata*) (Extrait A)

	N°	Méthode	Solvant	Coloration		Remarque
				à t ₀	Après 30min	
Extrait (A)	1	Macération	Éthanol aqueux	Vert claire	Bleu très clair	++
	2	Soxhlet	Éthanol absolu	Bleu claire	Bleu clair	+++
	3	Ultrasons	Éthanol aqueux	Vert claire	Bleu très foncé	+++++++
	4	Micro-ondes	Éthanol aqueux	Bleu claire	Bleu foncé	++++

++ = légère, ++++ = important, ++++++ = très important

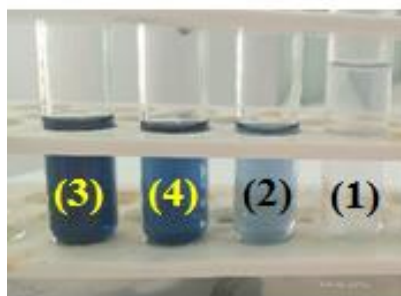


Tableau.II.5 : Résultats du dosage des composés phénoliques après l'ajout de réactif de FolinCiocalteu de l'extrait de la Datte (*Phoenix dactylifera*) (Extrait B)

	N ^o	Méthode	Solvant	Coloration		Remarque
				à t ₀	Après 30min	
Extrait (B)	1	Macération	Éthanol aqueux	Bleu claire	Bleu très foncé	+++++++
	2	Soxhlet	Éthanol absolu	Bleu claire	Bleu très foncé	+++++++
	3	Ultrasons	Éthanol aqueux	Bleu claire	Bleu très foncé	+++++++
	4	Micro-ondes	Éthanol aqueux	Bleu claire	Bleu très foncé	+++++++

+++++ = très important

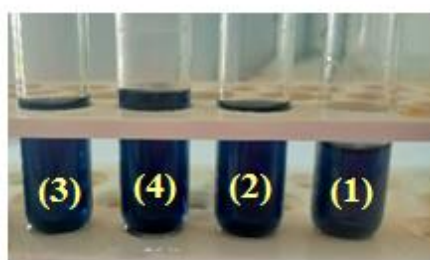
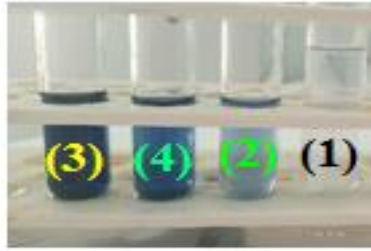


Tableau.II.6 : Résultats du dosage des composés phénoliques après l'ajout de réactif de Folin Ciocalteu de l'extrait du radis (*Raphanus sativus* L.) (Extrait C)

	N ^o	Méthode	Solvant	Coloration		Remarque
				à t ₀	Après 30min	
Extrait (C)	1	Macération	Éthanol aqueux	Vert claire	Bleu très clair	+
	2	Soxhlet	Éthanol absolu	vert claire	Bleu clair	++++
	3	Ultrasons	Éthanol aqueux	Vert claire	Bleu très foncé	+++++++
	4	Micro-ondes	Éthanol aqueux	Jaune claire	Bleu foncé	+++++

+ = légère, ++++ = important, ++++++ = très important



Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme (μg) équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait sec), en utilisant l'équation linéaire ($y = ax + b$) de la courbe d'étalonnage tracée avec des solutions d'étalon de l'acide gallique à différentes concentrations (**Figure.II.4**).

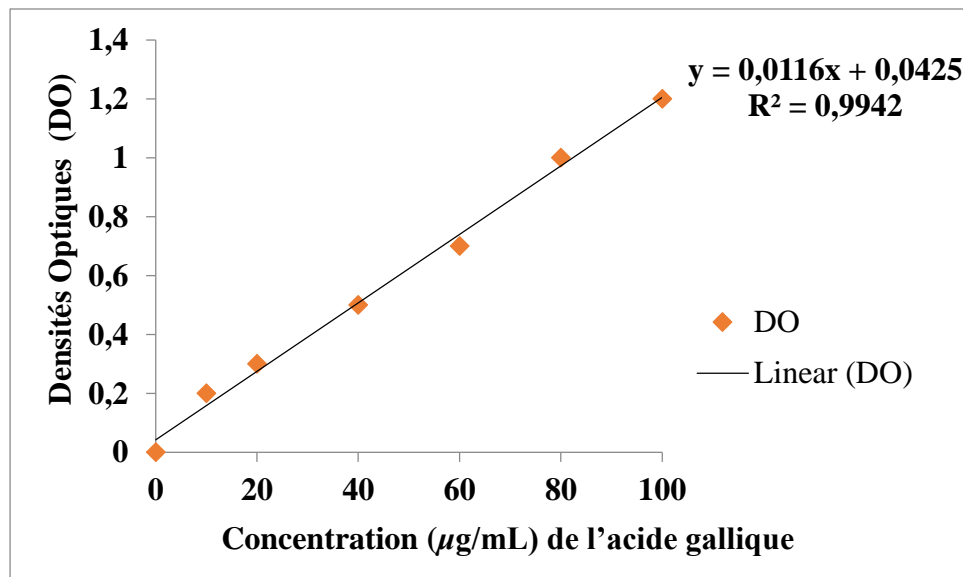


Figure.II.4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage ($y = 0.0116 x + 0.0425$ et le coefficient de corrélation de l'ordre de $R^2 = 0.9942$) de l'acide gallique prouve que la relation entre la concentration et l'absorbance est proportionnelle, donc la loi de Beer Lambert est vérifiée dans la gamme des concentrations utilisées.

Tableau.II.7 : Teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits des substances (A, B et C) (mg éq AG/g ES)

Extrait	Quantité des composés phénoliques totaux(en mg EAG/g ES)
Extrait (A)	51.50
Extrait (B)	70.18
Extrait (C)	39.73

AG : Acide Gallique, EAG : Équivalent d'Acide Gallique, ES : Extrait Sec

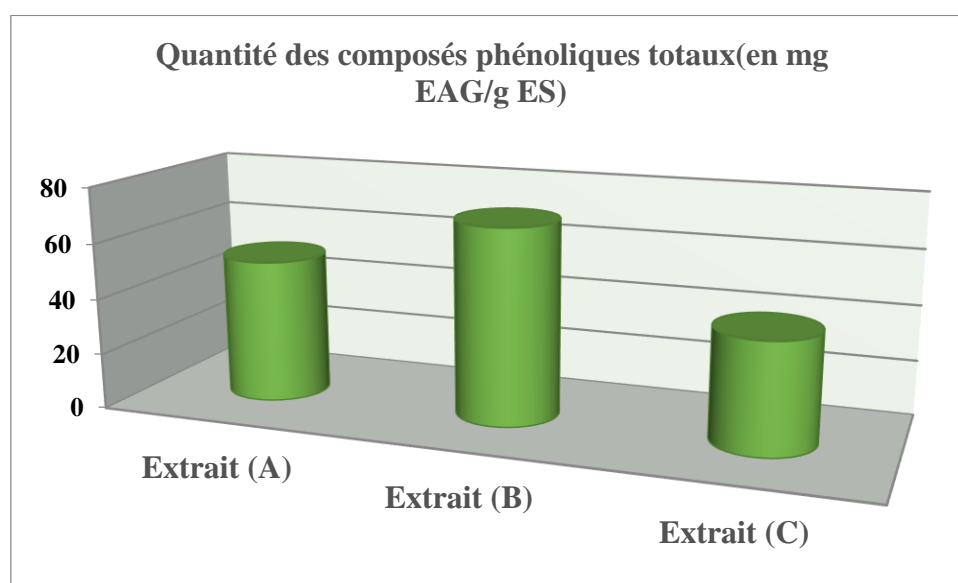


Figure.II.5. Histogramme illustrant le teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits des substances (A, B et C) (mg éq AG/g ES)

La **Figure.II.4** : représente la courbe d'étalonnage qui a été tracée pour cet objectif. Les teneurs en composés phénoliques totaux de l'extrait éthanoïque (A, B et C) de la courge musquée *Cucurbita moschata*, la datte *deglet Nour* (*Phoenix dactylifera*) et/ou le radis (*Raphanus sativus* L.) issu des extraits de l'ultrason ont été obtenues par extrapolation des valeurs des densités optiques (DO) obtenues à 765 nm en utilisant les courbes d'étalonnage. Elle est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait éthanoïque. La teneur en composés phénoliques de la courge musquée *Cucurbita moschata* et/ou le radis (*Raphanus sativus* L.) et/ou la date *deglet Nour* (*Phoenix dactylifera*) calculée est de l'ordre de 39.73, 51.50 et 70.18 mg EAG/g d'extrait sec respectivement (**Figure.II.5**). Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des composés phénoliques, dépend de la matière végétale, du solvant mixte utilisé et les modes d'extractions et des conditions opératoires.

Cependant, cette valeur est due au mélange de solvants qui assure l'extraction d'un grand nombre de composés phénoliques, ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé que les solvants mixtes sont très efficaces à extraire les composés phénoliques [1], l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en composés phénoliques. La supériorité des solvants mixtes serait due à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants aqueux comparés à ceux obtenus par des solvants purs [2]. D'après ces résultats, on déduit que le contenu des composés phénoliques dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant mixte utilisé pour l'extraction.

Enfin, ce test, basé sur une réaction d'oxydo-réduction, peut être également considéré comme une méthode d'évaluation de l'activité antioxydante. De ce fait, les extraits les plus riches en composés phénoliques peuvent être également considérés comme les plus antioxydants.

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode à trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), nous notons que la couleur des extraits dans les trois les extraits (A, B et C). N'a pas changé, d'où nous concluons l'absence des flavonoïdes (Figure. II. 6).



Figure. II. 6 : Résultats de test négatif des flavonoïdes

II.2.3. Dosage des Tanins

Après avoir ajouté du HCl aux extraits (A, B et C). Nous n'avons pas remarqué précipitent de tanins, ce qu'indique l'absence des tanins dans les extraits (Figure.II.7).

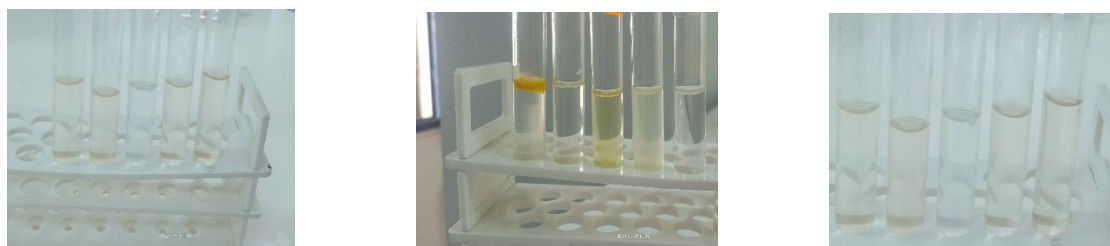


Figure.II.7 : Résultats de test négatif des Tanins

II.2.4. Dosage des Anthocyanes

Lorsque du NH_4OH est ajouté aux extraits (A, B et C), leur couleur ne change pas (le bleu foncé n'apparaît pas) (**Figure. II. 8**).



Figure.II.8 : Résultats de test négatif de l'anthocyane

D'après les résultats de ce dosage, on note l'absence des anthocyanes dans les trois extraits (A, B et C).

Enfin, les tests préliminaires ont révélé la présence des composés phénoliques, et l'absence de flavonoïdes, de tanins et d'anthocyanes dans les extraits (A, B et C) (éthanol aqueux).

II.3. Séparation, fractionnement et isolement des composés

II.3.1. Séparation de l'acide syringique par de différents solvants

La séparation de l'acide syringique issu aux extraits (A, B et C) est faite par l'utilisation de différents solvants de polarité croissante. Éther de pétrole, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et enfin l'éthanol. On obtient quatre fonctions du solvant utilisé. **Figures (II.9, 10 et 11)**

La séparation est suivie par CCM (acide acétique : Méthanol (50 :2.5 :47.5)). La révélation des tâches est effectuée par :

- ✓ Lampe UV (254 nm et 365nm) ;
 - ✓ La révélation est faite à l'aide du réactif de Folin Ciocalteu suivie d'un chauffage (150°C).
- Les fractions obtenues sont concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite pour conduire aux produits désurés.

Les quatre fractions isolées ont été identifiées par les méthodes spectroscopiques usuelles (UV et IR).

La caractérisation par la spectrométrie ultraviolet-visible (UV) pour but de trouver la longueur d'onde maximum (λ_{max}) d'absorption de chaque fraction. En général, la longueur d'onde maximum (λ_{max}) est utilisée pour la meilleure détection du composé phénolique dans l'extrait. Un avantage particulier des phénols est celui d'avoir des spectres UV distinctifs ou des différences structurales peuvent être observées, permettant ainsi le diagnostic rapide de

leurs caractéristiques structurales. Les acides phénoliques sont généralement caractérisés par des maximums d'absorption entre 254-320 nm. Par exemple, l'acide vanillique et anisique peuvent être détectés à 254 nm, l'acide gallique à 270nm et l'acide syringique à 274 nm, l'acide salicylique à 305 nm tandis que les acides chlorogénique, caféique, gentisique, sinapique, *p*-coumarique, férulique et rosmarinique sont caractérisés par une absorption maximale à 320 nm [3,4].

La caractérisation par la spectroscopie infrarouge (IR) pour but de déterminer les différents groupements fonctionnels existe dans les composés phénoliques. Les acides phénoliques possédant au moins une fonction carboxylique (COOH) et un hydroxyle phénolique (PhOH). Par exemple, l'acide gallique possédé une fonction carboxylique et des hydroxyles, phénoliques aussi l'acide syringique est constitué d'un cycle benzène substitué par un groupe carboxyle, un groupe hydroxyle (OH) en position para et deux groupes métoxyle (OCH₃) occupant les positions *mé*ta. Il est ainsi l'éther diméthylque de l'acide gallique.

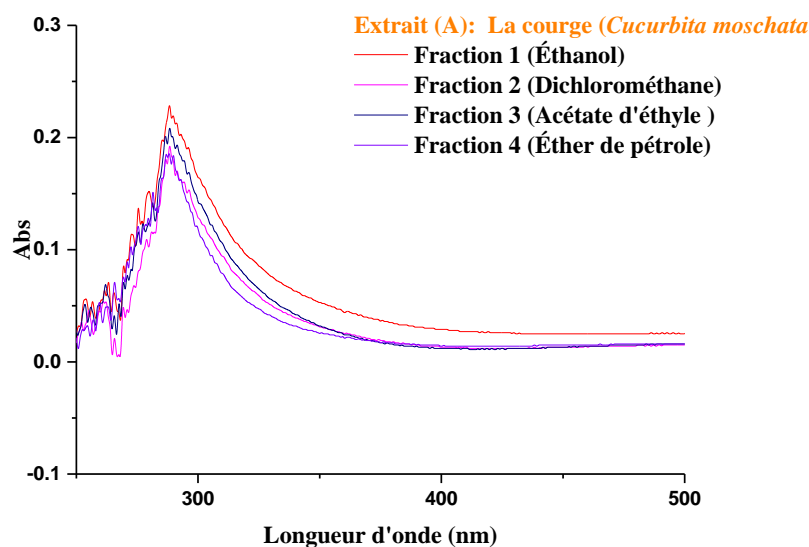


Figure. II.9. Spectre d'absorption UV de comparaison entre les quatre fractions issues de l'extrait (A) de la courge (*Cucurbita moschata*)

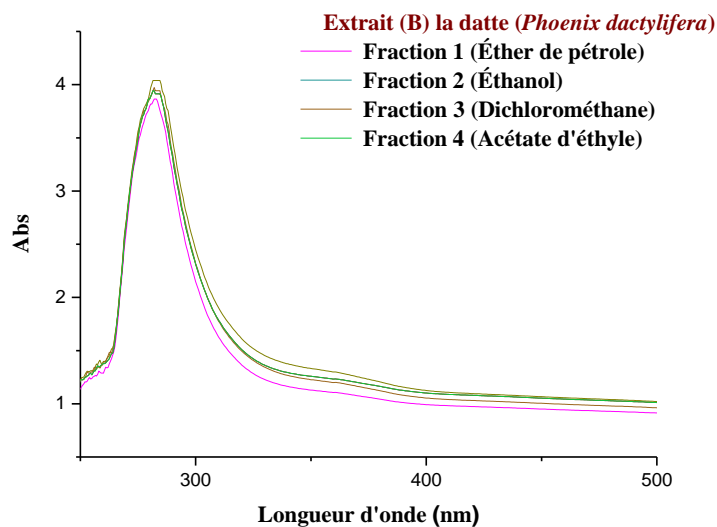


Figure. II.10. Spectre d'absorption UV de comparaison entre les quatre fractions issues de l'extrait (B) de la datte (*Phoenix dactylifera*)

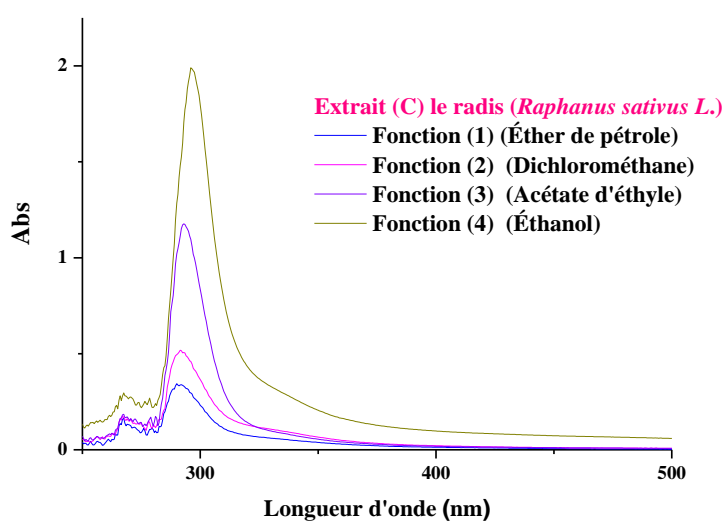


Figure. II.11. Spectre d'absorption UV de comparaison entre les quatre fractions issues de l'extrait (C) du radis (*Raphanus sativus L.*)

D'après, les figures (II.9, 10 et 11) on observe que l'acide syringique est présent dans trois extraits (A, B et C), cette présence prouvée par la valeur de longueur d'onde ($\lambda = 274\text{nm}$).

II.4. Étude de la stabilité du polyphénol et la fraction isolée (Acide syringique) par la formation de complexe d'inclusion (AS/ β -CD)

II.4.1. Formation du complexe d'inclusion (AS : β -CD) 1 :1

Notre travail est s'orienté vers une étude de la formation d'un nouveau complexe d'inclusion par deux méthodes : la méthode de l'irradiation via micro-onde et la méthode de l'activation par l'ultrasons entre l'AS et la β -CD, qui est décrit pour la première fois. Le complexe d'inclusion (AS : β -CD) obtenu sous forme solide, avec une efficacité d'encapsulation de l'ordre de 82% et 87% respectivement, indique que les pertes sont négligeables durant le processus de l'irradiation et/ou l'activation.

Ces techniques des procédés les plus recommandés pour l'encapsulation des invités thermolabiles, sensible à lumière et instables en solutions aqueuses à pH acide. L'objectif recherché était de pouvoir stabiliser l'AS contre l'oxydation et le stocker pour une longue durée.

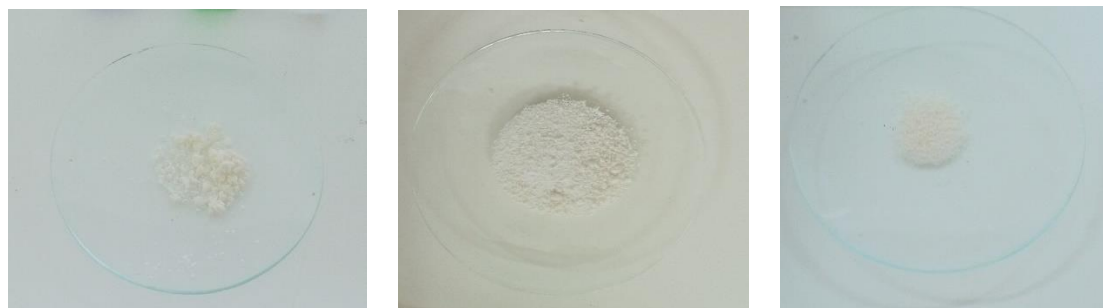


Figure. II.12. Formation du complexe d'inclusion (AS : β -CD)

II.5. Résultats des tests biologiques

II.5.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée l'AS libre et ses complexes d'inclusion a été évaluée *in vitro* par la méthode de réduction de radical libre DPPH.

II.5.1.1. Expression des résultats

II.5.1.1.a. Calcul des pourcentages d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition est calculé à partir de l'équation suivante :

$$I\% = \frac{Abs_{517} - Abs}{Abs_{517}} \times 100$$

Tableau.II.8 : pourcentage d'inhibition (I en %)

		Concentration ($\mu\text{g/mL}$)									
		100	200	400	600	1000	1200	1400	1600	1800	2000
Extrait A	I%	5.26	9.03	8.03	13.42	24.71	25.59	41.53	46.67	53.82	54.07
Extrait B		14.30	24.84	27.47	35.75	37.39	40.02	51.69	62.48	72.27	75.15
Extrait C		0.87	1.12	12.17	12.54	16.43	25.34	27.85	37.26	37.39	40.40
Fraction isolée (AS)		0.10	6.34	6.45	8.94	9.46	11.55	18.41	27.15	27.47	37.56
Complexe (EA/ β -CD)		8.19	18.31	19.90	20.47	27.05	26.62	28.32	55.78	65.41	67.91
Complexe (EB/ β -CD)		0.10	11.47	17.89	24.76	32.04	37.66	40.16	55.35	68.88	88.24
Complexe (EC/ β -CD)		6.71	13.76	17.06	17.40	18.88	29.69	30.83	31.85	41.63	39.65
Complexe (AS/ β -CD)		7.56	10.25	17.36	23.56	29.99	36.85	44.23	53.00	58.12	61.78

E : Extrait

À toutes les concentrations testées, les extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée l'AS libre et ses complexes d'inclusion ont inhibé significativement le radical DPPH° de manière dose dépendante. L'extrait B libre et en complexe d'inclusion (EB: β -CD) a montré une activité supérieure à celui des extraits (A, C) et à la fraction isolée AS libres et ses complexes d'inclusion. En effet, le complexe d'inclusion (EB: β -CD) et l'extrait B libre atteint presque son maximum d'activité à 2000 $\mu\text{g/mL}$ avec un pourcentage d'inhibition (PI%) de 88.24% et le l'extrait B libre atteint aussi son maximum d'activité à 2000 $\mu\text{g/ mL}$. Quant à l'extrait (A, C) et la fraction isolée AS libres, son PI le plus important (67.91%) est observé à la concentration de 2000 $\mu\text{g/mL}$ (**Figure.II.13**). Pour mieux comparer les activités des extraits (A, B et C), et la faction isolée de l'AS libre et ses complexes d'inclusion, les CI_{50} ont été déterminées. Ainsi, l'extrait B et en complexe d'inclusion (EB: β -CD) a une CI_{50} inférieure à celle des extraits A, C et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion avec des valeurs respectives de 35.79 $\mu\text{g/mL}$ et 111.88 $\mu\text{g/ mL}$. L'histogramme ci-dessous rapporte l'activité antioxydante de nos extraits libres et ses complexes d'inclusion (**Figure.II.14**).

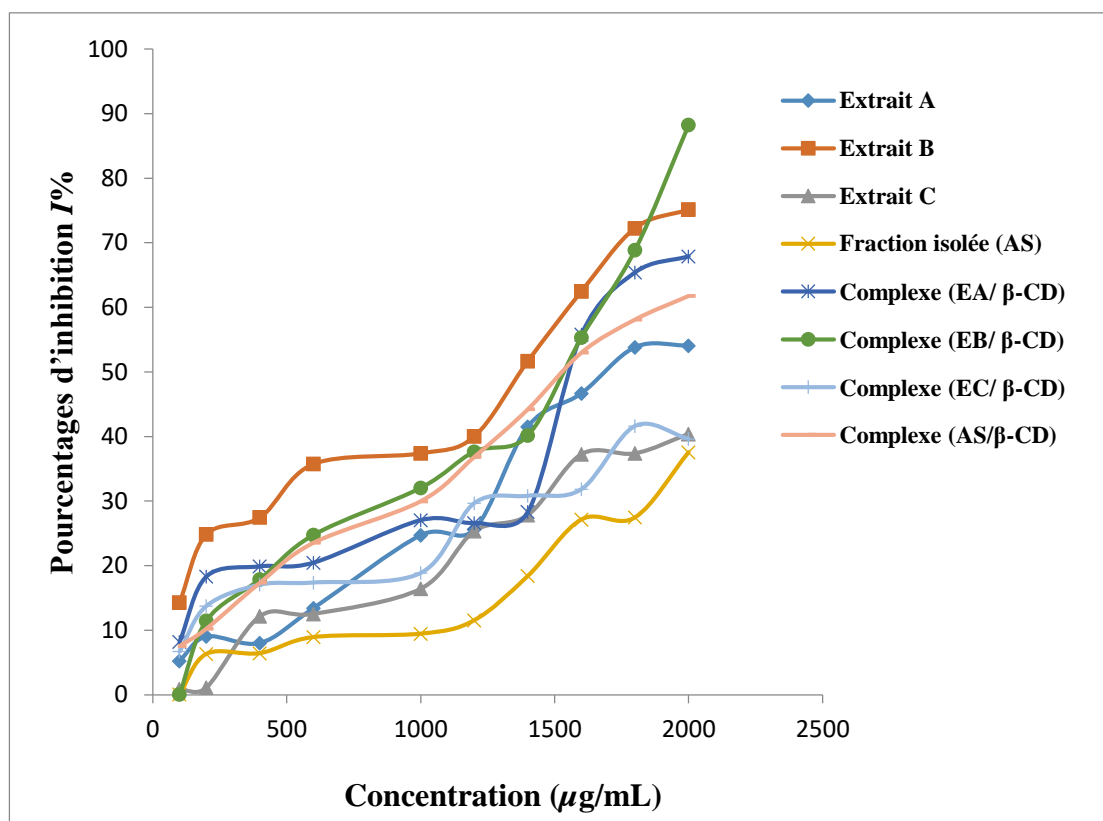


Figure.II.13. Pourcentage d’inhibition radical DPPH° par les extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d’inclusion

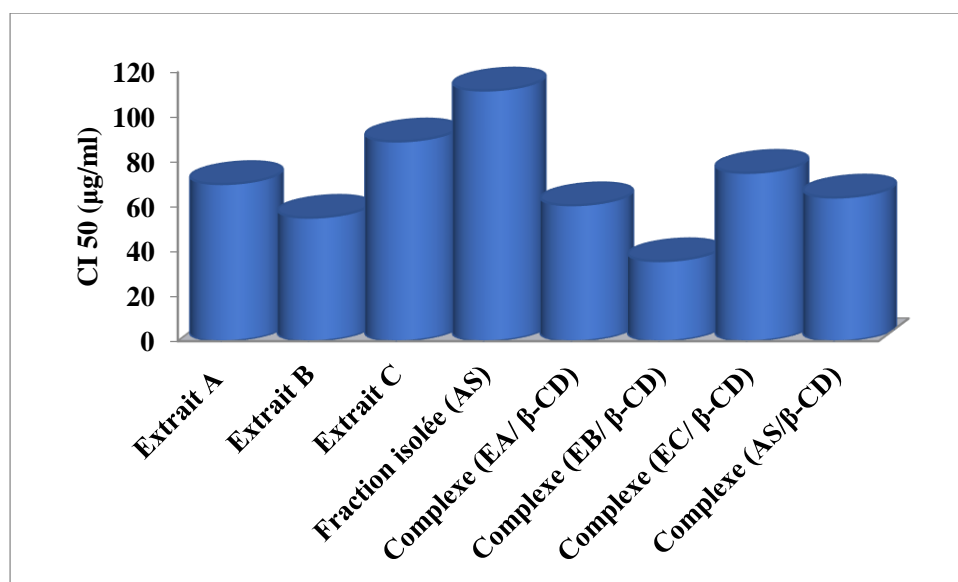


Figure.II.14. Les CI₅₀ des extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d’inclusion

Le complexe d’inclusion (EB/β-CD) possède une capacité de réduction du radical libre, la concentration requise pour la neutralisation et la stabilité de 50% de la concentration du DPPH est de l’ordre de 35.79 µg/mL.

II.5.2. Activité antimicrobienne :

La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation du caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne vis-à-vis des extraits testés. L'extrait est considéré comme bactéricide si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition. Par contre, il est dit bactériostatique quand quelques colonies sont présentes même en densité faible. Les résultats montrent que les réponses sont très variables en fonction de la souche testée, du type d'extrait et de la concentration utilisée. Ils permettent de mentionner que : (tableau.II.9).

Tableau.II.9 : Les résultats des tests antimicrobiens des extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion

Diamètre des zones d'inhibition (mm), concentrations minimales inhibitrices et sensibilité des souches bactériennes

		Concentrations (en mg/mL)								
		0.625								
DZI (mm)		EA	EB	EC	AS	CEA	CEB	CEC	CAS	DMSO
Souche	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginasa</i>	-	-	-	-	-	-	8	-	-

(*) Les écarts sont le résultat de 2 répétitions. Le diamètre du disque est de 6 mm.

EA : Extrait A ; EB : Extrait B ; EC : Extrait C ; AS : Acide Syringique ; CEA : Complexe d'inclusion de l'extrait A ; CEB : Complexe d'inclusion de l'extrait B ; CEC : Complexe d'inclusion de l'extrait C ; CAS : Complexe d'inclusion de l'acide Syringique.

		Concentrations (en mg/mL)								
		0.125								
DZI (mm)		EA	EB	EC	AS	CEA	CEB	CEC	CAS	DMSO
Souche	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginasa</i>	10	-	-	-	-	-	15	-	-

(*) Les écarts sont le résultat de 2 répétitions. Le diamètre du disque est de 6 mm.

		Concentrations (en mg/mL)								
		2.5								
DZI (mm)		EA	EB	EC	AS	CEA	CEB	CEC	CAS	DMSO
Souche	<i>S. aureus</i>	17	-	-	-	20	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>P. aeruginasa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(*) Les écarts sont le résultat de 2 répétitions. Le diamètre du disque est de 6 mm.

Le résultat des tests d'activités antibactériennes montre que *S. aureus* est sensible à l'extrait A avec une zone d'inhibition de 17 mm (2.5mg/mL) et en complexe d'inclusion aussi avec une zone d'inhibition 20mm (2.5mg/mL). Par contre, pour *P. aeruginosa* et *E. coli* ont montré une résistance à cet extrait. Le témoin (DMSO) n'a exercé aucune activité inhibitrice, les colonies se développent normalement en sa présence, donc c'est un bon diluant pour cet extrait et ses complexes.

II.6. Conclusion

L'extraction des composés phénoliques (les acides phénoliques) est une étape cruciale pour la valorisation de ces bioactifs actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. De cette étude, il ressort que l'ultrason par l'éthanol/eau est la meilleure technique d'extraction des acides phénoliques totaux.

Les résultats du test au DPPH ont montré que les extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion a une activité antioxydante forte que l'extrait A et en complexe d'inclusion. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur trois souches bactériennes, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats biologiques obtenus tout au long de ce test ont montré que l'extrait A et en complexe d'inclusion a une activité antibactérienne importante contre *S. aureus* (2.5mg/mL), et moyennement actif contre *P. aeruginosa* (0.125 mg/mL) et le complexe d'inclusion de l'extrait C (0.125mg/mL).

- [1]. Blouin J., Llorca L., Montreau F.R., Dufour J.H. (1972). Étude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin Ciocalteu. *Connaissance de la vigne et du vin*, 6, 405 - 413.
- [2]. Vidal J. P., Cantagrel R., Faure A., Boulesteix J.M. (1991). Comparaison de trois méthodes de dosage des composés phénoliques totaux dans les spiritueux. FV OIV, N°904.
- [3]. Wen D., Chenchen L., Hao D., Yiping L., Liu H. (2005). A universal HPLC method for the détermination of phenolic acids in compound herbal medicines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6624-6629.
- [4]. Rodriguez-Delgado M.A.; Malovana S., Perez J.P.; Borges J. (2001). Séparation of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric détection. *Journal of Chromatography A*. 912: 249-257.



Conclusion Générale

Cette étude nous a permis de mettre en évidence une variabilité intéressante entre les trois matières végétales (la courge (*Cucurbita moschata*), datte (*Phoenix dactylifera*) et le radis (*Raphanus sativus L.*)

L'extraction des composés phénoliques (les acides phénoliques) est une étape cruciale pour la valorisation de ces bioactifs actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques. De cette étude, il ressort que l'ultrason par l'éthanol/eau est la meilleure technique d'extraction des acides phénoliques totaux. Ainsi, les solvants qui ont été retenus pour notre étude sont-ils l'éthanol, qui présente une polarité élevée, l'eau dont la polarité est la plus élevée.

En revanche, un mélange éthanol/eau avec des rapports molaires différents, augmente la polarité du mélange, en plus, il donne une spécificité d'extraire les acides phénoliques et précisément l'acide syringique, de plus, les modes d'extraction utilisés dans cette étude est pour but d'améliorer l'extraction en appliquant des ondes ultrasons (extraction assistée par ultrasons) ou des micro-ondes (extraction assistée par micro-ondes).

Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction assistée par ultrasons dans les deux cas (éthanol aqueux) suivie par la méthode d'extraction assistée par micro-onde, la méthode d'extraction par Soxhlet et enfin par macération classique les trois matières végétales, le taux élevé de rendement de l'extrait B est celui de l'ultrason à 75.48%, et un rendement faible de l'extrait C dans le cas Soxhlet à 2.08% Les différents extraits obtenus ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV- visible pour leur contenu en composés phénoliques, en acides phénoliques partialement l'acide syringique, les résultats du dosage montré l'absence de flavonoïdes, de tanins et d'anthocyanes, on observe que l'acide syringique est présent dans les trois extraits (A, B et C), cette présence prouvée par la valeur de longueur d'onde ($\lambda = 274\text{nm}$). Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des composés phénoliques, dépend de la matière végétale, du solvant mixte utilisé et les modes d'extractions et des conditions opératoires.

La méthode du détecteur de couleur du Folin Ciocalteu montré des résultats positifs et cela confirme l'effet antioxydant des acides phénolique (acide syringique). Les teneurs en composés phénoliques totaux de l'extrait (A, B et C) de la courge musquée *Cucurbita moschata* et/ou la date deglet Nour (*Phoenix dactylifera*) et/ou le radis (*Raphanus sativus L.*) issu des extraits de l'ultrason ont été obtenues par extrapolation des valeurs des densités optiques (DO) obtenues à 765 nm en utilisant les courbes d'étalonnage. Elle est exprimée en

milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait éthanoïque. La teneur en composés phénoliques de la courge musquée *Cucurbita moschata* et/ou le radis (*Raphanus sativus* L.) et/ou la date *deglet Nour* (*Phoenix dactylifera*) calculée est de l'ordre de 39.73, 51.50 et 70.18 mg EAG/g d'extrait sec respectivement. Cette variation peut s'expliquer par le fait que l'extraction des composés phénoliques, dépend de la matière végétale, du solvant mixte utilisé et les modes d'extractions et des conditions opératoires.

Les résultats du test au DPPH ont montré que les extraits (A, B et C) libres et la fraction isolée AS libre et ses complexes d'inclusion a une activité antioxydante forte que l'extrait A et en complexe d'inclusion. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur trois souches bactériennes, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats biologiques obtenus tout au long de ce test ont montré que l'extrait A et en complexe d'inclusion a une activité antibactérienne importante contre *S. aureus* (2.5mg/mL), et moyennement actif contre *P. aeruginosa* (0.125 mg/mL) et le complexe d'inclusion de l'extrait C (0.125mg/mL).

L'encapsulation par la β -CD a présenté l'avantage de conserver les activités antioxydante et antimicrobienne des extraits (A, B et C) et la fraction isolée AS qui semblent être principalement influencées par leur structure et leur caractère hydrophobe. Ces résultats peuvent fournir des informations expliquant l'efficacité et la faisabilité d'utiliser les extraits (A, B et C) et la fraction isolée AS ainsi que leurs complexes d'inclusion avec le β -CD.

Dans l'ensemble, les résultats de l'étude approfondissent et renforcent nos connaissances sur les systèmes d'encapsulation moléculaires utilisant la β -CD en contribuant à élargir l'utilisation des extraits (A, B et C) et l'AS et leurs complexes d'inclusion dans des formulations alimentaires et pharmaceutique .

Résumé : L'acide syringique (AS), un composé phénolique souvent présent dans les fruits et légumes. Il montre un large éventail d'applications thérapeutiques dans la prévention du diabète, maladies cardiovasculaires, cancer, cérébral ischémie ; ainsi l'acide syringique possède une activité antioxydante, antiseptique, antinitrosante, antimicrobienne, anti-inflammatoires, antiendotoxique ...etc. De nos jours, les études portent sur l'utilisation de l'acide syringique comme alternatif aux agents antimicrobiens, antinitrosants, antioxydants et anti-inflammatoires pour leur incorporation dans la formulation des produits alimentaires et pharmaceutiques. Cependant, l'utilisation de l'acide syringique est généralement limitée en raison de leur faible stabilité. L'objectif de notre travail a été d'encapsuler l'acide syringique dans des molécules cages, la β -cyclodextrine (β -CD) en vue de développer des systèmes naturels et éco-compatibles ayant des applications potentielles dans les domaines alimentaire et pharmaceutique. Quatre axes ont été abordés. Le premier axe a porté sur le développement des techniques modernes de l'extraction, l'isolément et l'identification de l'acide syringique dans certains fruits et légumes cultivés dans la région de M'sila et Biskra, sources naturelles d'AS), les trois variétés qui nous ont choisie sont : (la courge (*Cucurbita moschata*), le Radis (*Raphanus sativus* L.) et la datté Deglet-Nour (*Phoenix dactylifera*). Le deuxième axe a porté sur la préparation et la caractérisation des complexes d'inclusion β -CD/AS avec un rapport (1:1). Le troisième axe a porté sur l'évaluation de l'effet de la β -CD sur les trois extraits, et l'acide syringique. Le dernier axe a été orienté vers l'étude des activités anti-oxydante et anti-bactérienne des complexes d'inclusion des extraits (A, B et C) et l'AS libre et en complexe. Les résultats montrent que la β -CD sont capables d'encapsuler les trois extraits (A, B et C) et l'AS, augmenter leur stabilité. De plus, l'encapsulation est conservé les propriétés antioxydantes et antibactériennes les trois extraits (A, B et C) de l'AS. Les résultats de cette étude suggèrent que les complexes d'inclusion des trois extraits (A, B et C) et l'AS avec la β -CD peuvent être considérés comme outils prometteurs pour l'optimisation des formulations alimentaires et pharmaceutiques.

Mots Clés : Antioxydant, antinitrosant, syringic acid, β -cyclodextrin, composé phénolique complexe d'inclusion, extraction, stabilisation.

المخلص: حمض السيرنجيك ، مركب فينولي يوجد غالبًا في الفواكه والخضروات. يظهر مجموعة واسعة من التطبيقات العلاجية في الوقاية من مرض السكري وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان ونقص التروية الدماغية ، وبالتالي فإن حمض السيرنجيك يحتوي على مضادات الأكسدة والمطهرات ومضادات الميكروبات ومضادات الالتهابات ومضادات التسمم ... إلخ. في الوقت الحاضر ، تركز الدراسات على استخدام حمض السيرنجيك كبديل للعوامل المضادة للميكروبات ومضادات التآكل ومضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات لإمراضها في صياغة المنتجات الغذائية والصيدلانية. ومع ذلك ، فإن استخدام حمض السيرنجيك بشكل عام محدود بسبب استقراره المنخفض. كان الهدف من عملنا هو تغليف حمض السيرنجيك في جزيئات القفص بيتا حلقي دكسترين ، من أجل تطوير أنظمة طبيعية ومتوافقة مع البيئة مع تطبيقات محتملة في المجالات الغذائية والصيدلانية. تم تناول أربعة محاور. ركز المحور الأول على تطوير التقنيات الحديثة لاستخراج وعزل والتعرف على حمض السيرنجيك تعطي بعض الفواكه والخضروات المزروعة في منطقة المسيلة وبسكرة (المصادر الطبيعية لحمض السيرنجيك) ، الأربعة الثلاثة التي اختارها هي: (القرع (كوركوبيتا موسشانا (القرع المسكي)) والفجل (رافانوس ساتيفيس ل.) والتمر دقلة نور (فينيكس داكليليفرا) ركز المحور الثاني على تحضير وتوصيف مجمعات تضمين حمض السيرنجيك / بيتا حلقي دكسترين بنسبة (1 : 1) ركز المحور الثالث على تقييم تأثير حلقي دكسترين على المستخلصات الثلاثة وحمض السيرنجيك، أما المحور الأخير فقد تم توجيهه نحو دراسة الأنشطة المساعدة للأكسدة ومضادات الأكسدة. في المركب. تظهر النتائج أن قرص بيتا حلقي دكسترين قادر على تغليف المستخلصات الثلاثة (أ، ب و ج) وحمض السيرنجيك، وزيادة ثباتها بالإضافة إلى ذلك ، يحتفظ التغليف بخصائص مضادات الأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات الثلاثة (أ ، ب و ج) وحمض السيرنجيك. تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن مجمعات تضمين المستخلصات الثلاثة (أ و ب و ج) وحمض السيرنجيك مع (بيتا حلقي دكسترين يمكن اعتبارها أدوات واعدة لتحسين المستحضرات الغذائية والصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: مضادات الأكسدة ، مضادات التآكل ، حمض الحفن ، بيتا حلقي دكسترين ، مركب احتواء القفص ، الاستخلاص ، الاستقرار .

Abstract: Syringic acid (SA), a phenolic compound often found in fruits and vegetables. It shows a wide range of therapeutic applications in the prevention of diabetes, cardiovascular disease, cancer, cerebral ischemia; thus syringic acid has antioxidant activity, antiseptic, antinitrosant, antimicrobial, anti-inflammatory, antiendotoxic, etc. Nowadays, studies focus on the use of syringic acid as an alternative to antimicrobial, antinitrosant, antioxidant and anti-inflammatory agents for their incorporation in the formulation of food and pharmaceutical products. However, the use of syringic acid is generally limited due to their poor stability. The objective of our work was to encapsulate syringic acid in cage molecules, β -cyclodextrin (β -CD) in order to develop natural and eco-compatible systems with potential applications in the food and pharmaceutical fields. Four axes were addressed. The first axis focused on the development of modern techniques for the extraction, isolation and identification of syringic acid gives certain fruits and vegetables grown in the region of M'sila and Biskra (natural sources of AS), the three varieties that we chose are: (the squash (*Cucurbita moschata*), the Radish (*Raphanus sativus* L.) and the Deglet-Nour date (*Phoenix dactylifera*). The second axis focused on the preparation and characterization of the β -CD/AS inclusion complexes with a ratio (1:1). The third axis focused on the evaluation of the effect of β -CD on the three extracts and syringic acid. The last axis was oriented towards the study of anti-oxidative and anti-bacterial inclusion complexes of the extracts (A, B and C) and the free AS and in complex. The results show that the β -CD are able to encapsulate the three extracts (A, B and C) and AS, increase their stability. In addition, the encapsulation retains the antioxidant and antibacterial properties of the three extracts (A, B and C) of SA. The results of this study suggest that the inclusion complexes of the three extracts (A, B and C) and AS with β -CD can be considered as promising tools for the optimization of food and pharmaceutical formulations.

Keywords: antioxidant, antinitrosant, syringic acid, β -cyclodextrin, phenolic compound inclusion complex, extraction, stabilisation

Acide 4-hydroxy-3,5-diméthoxybenzoïque