

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Ben M'hidi de Oum El Bouaghi

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat en Sciences

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Valorisation des substances bioactives d'origine végétale à activités pharmacologiques à partir des espèces : Euphorbia dendroides, E. cornuta, E. helioscopia et Smyrniium olusatrum

Présenté par : M^{me} BOUKERRECHE Née GHOUT AGENA

Devant le jury :

Président : Dr. Mahdi Djahida.....MCA..... (Université d'Oum El Bouaghi, Algérie)

Promoteur : Dr. Zellagui Amar.....Professeur..... (Université d'Oum El Bouaghi, Algérie)

Co-promoteur : Dr. Gherraf Noureddine.....Professeur.....(Université d'Oum El Bouaghi, Algérie)

Examineur : Dr. Belkhiri Abdel MalekProfesseur..... (Université de Constantine 3)

Examineur : Dr. Yahia Abdel Wahab.....Professeur.....(Centre Universitaire de Mila)

Examineur : Dr. Djabri BelkacemProfesseur(Université Larbi Tébessi, Tébessa)

Année 2018-2019

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le bon dieu le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la force, la patience et le courage pour mener ce travail à terme.

Je veux exprimer ma vive reconnaissance à mon encadreur Monsieur Zellaoui Amar professeur à l'université d'Oum El Bouaghi sans qui cette thèse n'aurait vu le jour, pour son dévouement incomparable, son encadrement sans faille et pour la confiance qu'il m'a accordé durant ces années de thèse, ce travail n'aurait pas pu se faire sans son aide précieuse, sa patience, sa gentillesse, ses compétences et son professionnalisme c'est pourquoi je lui exprime ma plus grande gratitude, merci d'avoir été présent à chaque fois que j'en avais besoin j'ai été très contente d'avoir travaillé avec vous j'espère que j'aurai l'occasion ces prochaines années de nous retrouver à nouveau pour travailler ensemble

Un immense merci également à mon co-encadreur Monsieur Gherraf Noureddinne professeur à l'Université de Oum El Bouaghi pour toute son aide et ses encouragements et sa grande sympathie et ses petites répliques qui redonnent le sourire.

Mes plus vifs remerciements vont au président de jury de ma thèse le Docteur M^{me} Mahdi Djahida qui ma fait honneur par sa présence, merci de prendre part à l'évaluation et la correction de ce travail.

Je remercie les examinateurs monsieur le Docteur Belkhir Abdel Malek, monsieur le Docteur Yahia Abdel Wahab et monsieur le Docteur Djabri Belkacem pour le grand honneur qu'ils me font en acceptant d'examiner mon travail et consacrer de leur temps pour son évaluation.

Je remercie également le professeur Ibrahim Demirtas et son équipe, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de recherche des plantes à l'université Karatekin Cankiri, turquie, qu'il soit assuré de mon entière reconnaissance.

Des remerciements chaleureux vont au docteur Ayse Sahin Yaglioglu et le Dr Muhammed Altun du département de chimie et laboratoire de recherche des plantes pour leur aide précieuse dans la réalisation des tests de l'activité antiproliférative.

Je remercie également le laboratoire des biomolécules et amélioration des plantes du département des sciences de la nature et de la vie de l'université Larbi Ben M'hidi, Oum El bouaghi qui m'as permis d'effectuer une partie de mon travail, ainsi que toute l'équipe du

laboratoire pour leur qualités humaine et scientifique, je garde une profonde admiration et une immense tendresse.

Je remercie tout particulièrement mes très chers parents qui ont toujours cru en moi, qui m'ont toujours soutenu dans mes choix et qui malgré les kilomètres ont toujours été présent à chaque fois que cela été nécessaire, pour leur soutien infailible tout au long de ces années avec toute ma reconnaissance et mon amour, mes remerciements seront sans limites



Je dédie ce travail :

A mes très chers parents et beaux parents

A mes très chers frères

A mon très cher mari Hamza

A tous ceux qui me sont chers et qui m'ont soutenue

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Principaux métabolites secondaires du genre <i>Euphorbia et Smyrniium</i>	5
I.1. Composés phénoliques	5
I.1.1. Définition.....	5
I.1.2. Biosynthèse et classification	5
I.2. Flavonoïdes	9
I.2.1. Définition	9
I.2.2. Structure chimique et classification	9
I.2.3. Propriétés pharmacologiques et biologiques des polyphénols.....	10
I.3. Huiles essentielles	12
I.3.1. Définition.....	12
I.3.2. Etat naturel : répartition, localisation	12
I.3.3. Propriétés physiques	13
I.3.4. Composition chimiques des huiles essentielles	13
I.3.4.1. Terpénoïdes	13
I.3.4.1.1. Les monoterpènes	14
I.3.4.1.2. Les sesquiterpènes	14
I.3.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane	14
I.3.4.3. Les composés d'origines diverses	15
I.3.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles	17
I.3.5.1. L'hydrodistillation	17
I.3.5.2. Entraînement à la vapeur d'eau	18
I.3.5.3. L'hydrodiffusion	18
I.3.5.4. L'expression à froid	19
I.3.5.5. Extraction assistée par micro-onde	19
I.3.5.6. Extraction par du CO ₂ supercritique	20
I.3.6. Principales propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	21
I.3.7. Emplois	22
I.2. Aperçu bibliographique sur le genre <i>Euphorbia et Smyrniium</i>	25
I.2.1. Description botanique du genre <i>Euphorbia</i>	25
I.2.1.1. Répartition géographique	26
I.2.1.2. Classification botanique	26
I.2.1.3. Utilisation traditionnelle et intérêt thérapeutique	27

I.2.1.4. Toxicité	27
I.2.1.5. Bilan bibliographique sur le genre <i>Euphorbia</i>	28
I.2.1.5.1. Activités pharmacologiques.....	28
I.2.1.5.2. Etudes phytochimiques	33
I.2.2. Généralité sur la famille des Apiacées	40
I.2.2.1. Description des Apiacées	40
I.2.2.2. Distribution géographique de la famille des apiacées en Algérie et à travers le monde	40
I.2.2.3. Composition chimique des Apiacées	41
I.2.2.4. Intérêt biologique pour les Apiacées	41
I.2.2.5. Présentation botanique et géographique du genre <i>Smyrniium</i>	42
I.2.2.6. Classification du genre <i>Smyrniium</i> dans la systématique botanique	43
I.2.2.7. Composition chimique	43
I.2.2.8. Travaux antérieures sur les huiles essentielles du genre <i>Smyrniium</i>	43
I.3. Stresse oxydatif et cancer	48
I.3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	48
I.3.1. Définition	48
I.3.2. Principaux radicaux libres (espèces activées de l'oxygène)	49
I.3.2.1. Composés oxygénés radicalaires.....	49
I.3.2.2. Composés oxygénés non radicalaires	50
I.3.3. Rôle physiologique des EOR : la double vie des EOR... ..	51
I.3.4. Principales sources de production des EOR	52
I.3.5. Stress oxydant	54
I.3.6. Défenses anti-oxydantes	54
I.3.6.1. Principaux systèmes de défense enzymatique	55
I.3.6.2. Principaux systèmes de défense non enzymatique	56
I.3.6.2.2. Antioxydants liposolubles	57
I.3.7. Marqueurs biologiques du stress oxydant	58
I.3.8. Implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer.....	59
I.4. Généralité sur le Cancer.....	61
I.4.1. Définition clinique	61
I.4.2. Situation actuelle	62
I.4.3. Causes du cancer	62
I.4.4. Cellule cancéreuse : Vision globale	65
I.4.4.1. Caractères généraux de la cellule cancéreuse	66
I.4.5. Anomalie génétiques et cancer	66
I.4.5.1. Carcinogénèse	67
I.4.6. Les ERO et l'établissement du cancer (stade de développement tumoral).....	67
I.4.7. Traitement anticancéreux actuels	71
I.4.8. Modèles cellulaires utilisés.....	72
I.4.8.1. La lignée Hela.....	73
I.4.8.1.1. Origine	73
I.4.8.1.2. Caractéristique	73
I.4.8.2. La lignée C6	73
I.4.8.2.1. Origine	73
I.4.8.2.2. Caractéristique	74

Partie II : Matériels et méthodes

II.1. Matériels	78
II.1.1. Matériels	78
II.1.1.2. matériel végétal	78
II.2. Méthodes	79
II.2.1. Préparation de la poudre végétale	79
II.2.2. Extraction des composés phénoliques par macération à partir de trois espèces du genre <i>Euphorbia</i>	79
II.2.3. Analyse par HPLC-TOF-MS des extraits obtenus chez les trois espèces du genre <i>Euphorbia</i>	81
II.2.4. Extraction des huiles essentielles de <i>Smyrniolum olusatrum L.</i>	81
II.2.5. Analyse des huiles essentielles par GC-MS	81
II.3. Taux d'extraction des composés phénoliques	82
II.4. Dosage des substances actives	82
II.4.1. Dosage des composés phénoliques	82
II.4.2. Dosage des flavonoïdes	83
II.5. Détermination de l'activité antioxydant	84
II.5.1. Activité scavenging du radical DPPH	84
II.5.2. Mesure du pouvoir réducteur	86
II.5.3. Inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique	87
II.6. Evaluation du potentiel anti-prolifératif	89
II.6.1. Traitement des cellules et test de prolifération cellulaire	89
II.6.1.1. Test ELISA assay	89
II.6.1.2. Test xCELLigence (RTCA)	90
II.7. Etude statistique	90
III. Résultats et discussions	
III. 1. Extraction par solvants à polarité croissante	92
III.2. Dosage des composés phénoliques	94
III.2.1. Dosage des polyphénols totaux	94
III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux	97
III.2.3. Identification par HPLC des composés phénoliques obtenus	99
III.3. Etude de l'activité antioxydants	106
III.3.1. Effet scavenger du radical DPPH	106
III.3.2. Mesure du pouvoir réducteur	112
III.3.3. Test d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique	115
III.4. L'activité anti-proliférative des extraits	118
III.5. Les huiles essentielles de <i>S. olusatrum L.</i>	129
III.5.1. Le rendement des trois huiles essentielles de <i>S. olusatrum L.</i> durant les trois stades végétatif de la plante	129
III.5.2. Composition chimique des trois huiles essentielles de <i>S. olusatrum L.</i> durant les trois stades végétatifs de la plante	130
III.5.3. Activités antiprolifératives de <i>S. olusatrum L.</i>	134
Conclusion et perspective	139
Références bibliographiques	142
Annexes	

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

BuOH : butanol

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

CAT : catalase

CHCl₃ : chloroforme

CO₂ : dioxyde de carbone

CE : extrait chloroformique

DPPH : radical 1,1-diphényle- 2-picryl hydrazyle

-2-DPC : 2-dimensional paper chromatography

EtoAc : éthyle acétate

EtOH : éthanol

ERO: espèces réactives de l'oxygène

EOR : espèces oxygénées réactives

ERN : espèces réactives de l'azote

EAE : extrait éthyle acétate

E.c.C : *Euphorbia cornuta* chloroforme

E.c.A : *Euphorbia cornuta* éthyle acétate

E.c.B : *Euphorbia cornuta* butanol

E.d.C : *Euphorbia dendroïde* chloroforme

E.d.A : *Euphorbia dendroïde* éthyle acétate

E.d.B : *Euphorbia dendroïde* butanol

E.h.C : *Euphorbia héliosopia* chloroforme

E.h.A : *Euphorbia héliosopia* éthyle acétate

E.h.B : *Euphorbia héliosopia* butanol

GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry

GAE: équivalent en acide gallique

GPx : glutathion peroxydase

GSH : glutathion

GSSG : glutathion réduit

HPLC: High performance liquid chromatography (chromatographie liquide à haute performance)

HPLC-TOF-MS : High performance liquid chromatography -Time of Flight -Mass Spectrometry

HPLC-UV-DAD: High performance liquid chromatography –Ultraviolet- *Diode Array* Detector

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène

HOCl: acide hypochloreux

MeOH: méthanol

NO: monoxyde d'azote

NOS: NO - synthase

O₂' : anion superoxyde

¹O₂ : oxygène singulet

OH : radicale hydroxyle

QAE: équivalent en quercétine

RO₂ : radicaux peroxydes

SFE : Extraction par Fluide Supercritique

SM : spectre de masse

SOD : superoxyde dismutase

Tr: temps de rétention

UV: Ultraviolet

Liste des figures

N°	Titres	pages
1	Structure d'un phénol.	05
2	Biosynthèse des composés phénoliques : voie du Shikimate.	06
3	représentation de la voie de l'acétate.	07
4	Structure de base des flavonoïdes.	10
5	Structure des principales classes des flavonoïdes.	10
6	Effets biologiques des polyphénols	11
7	Structure de quelques terpènes.	16
8	Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante	19
9	Appareillage de système de l'hydrodistillation sous micro ondes	20
10	Répartition géographique mondiale des Apiaceae	41
11	: Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde	51
12	Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.	53
13	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes	58
14	La réactivité des espèces de l'oxygène et de l'azote et mécanismes de régulation des ERO/ERN et les cibles des ERO/ERN favorisant le développement des phénotypes tumoraux	60
15	Interactions entre les facteurs internes et externes dans le développement de tumeur	65
16	Schéma illustrant les évènements cellulaires responsable du cancer	70
17	Plans de travail	77
18	Photographie de <i>E. helioscopia</i> L. prise sur le terrain (Avril ,2013) à Gouraya (Bejaia)	78
19	Photographie de <i>E. dendroides</i> L. prise sur le terrain (Avril, 2013) à Cap Carbon (Bejaia).	78
20	Photographie de <i>E. cornuta</i> Pers. prise sur le terrain (juin, 2012) à El Oued Souf	79

21	Photographie de <i>S.olusatrum</i> L. prise sur le terrain (Mars, 2015) à Constantine.	79
22	Schéma du protocole d'extraction des différents extraits Des trois espèces d'Euphorbiacées	80
23	Protocole de dosage des composés phénoliques.	83
24	Protocole de dosage des flavonoïdes.	84
25	Réduction du radical DPPH en présence d'un antioxydant	85
26	Le protocole d'étude de l'activité scavenging du DPPH	85
27	Détermination du pouvoir réducteur.	86
28	Mesure de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique.	88
29	Le rendement d'extraction chez <i>E .cornuta</i> Pers	92
30	Le rendement d'extraction chez <i>E .dendroide</i> L	92
31	Le rendement d'extraction chez <i>E .helioscopia</i> L.	93
32	Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols	96
33	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes	98
34	Structure des molécules isolées des trois espèces du genre <i>Euphorbia</i>	105
35	Effet scavenger contre le radical DPPH des standards testés à différente concentration	106
36	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait chloroforme de <i>E. cornuta</i> Pers. en fonction du temps	107
37	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait éthyle acétate de <i>E . cornuta</i> Pers. en fonction du temps	107
38	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait n-butanol de <i>E . cornuta</i> Pers. en fonction du temps	107
39	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait chloroforme de <i>E. dendroides</i> L. en fonction du temps	109
40	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait éthyle acétate de <i>E . dendroides</i> L. en fonction du temps	109
41	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait n-butanol de <i>E .dendroides</i> L. en fonction du temps	109
42	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait chloroforme de <i>E . helioscopia</i> L. en fonction du temps	111
43	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait n-butanol de <i>E .</i>	111

<i>helioscopia</i> L. en fonction du temps		
44	Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait éthyle acétate de <i>E. helioscopia</i> L. en fonction du temps	111
45	Pouvoir réducteur des standards testés à différente concentration.	112
46	Pouvoir réducteur des extraits testés à différentes concentrations de l'espèce <i>Euphorbia cornuta</i> Pers.	112
47	Pouvoir réducteur des extraits à différentes concentrations de <i>E.dendroides</i> L.	113
48	pouvoir réducteur des extraits testés à différente concentrations de <i>E.helioscopia</i> L	114
49	Pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique des extraits de <i>E.cornuta</i> Pers.	115
50	Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique des extraits de <i>E.dendroides</i> L. à différentes concentrations	116
51	Pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique à différentes concentrations des extraits de <i>E.helioscopia</i> L.	118
52	L'activité anti-proliférative des extraits <i>Euphorbia cornuta</i> Pers contre les cellules C6	121
53	Activité antiproliférative conte la lignée HeLa de l'extrait E.c.A	121
54	Activité antiproliférative conte la lignée HeLa de l'extrait E.c.C	122
55	Activité antiproliférative conte la lignée HeLa de l'extrait E.c.B	122
56	L'activité anti-proliférative des extraits <i>Euphorbia dendroides</i> L. contre les cellules C6	123
57	Activité antiproliférative contre la lignée HeLa E.d.C	124
58	Activité antiproliférative contre la lignée HeLa E.d.A	124
59	Activité antiproliférative contre la lignée HeLa E.d.B	125
60	L'activité anti-proliférative des extraits <i>Euphorbia helioscopia</i> L. contre les cellules C6	127
61	Activité anti-proliférative sur la lignée HeLa de l'extrait E.h.A	127
62	Activité anti-proliférative sur la lignée HeLa de l'extrait E.h.B	128

63	Activité anti-proliférative sur la lignée HeLa de l'extrait E.h.C	128
64	Représentation du pourcentage des rendements des huiles de <i>S. olusatrum</i> L. durant les phases de croissance.	130
65	Activité anti-proliférative de <i>S. olusatrum</i> L. en phase SII	136
66	Activité antioroliférative de <i>S. olusatrum</i> L. en phase SI	136
67	Activité antiproliférative de <i>S. olusatrum</i> L. en phase SIII	137
68	L'activité anti-proliférative des extraits <i>S. olusatrum</i> L. contre les cellules C6	137

Liste des tableaux

N°	Titres	pages
I	les principales classes de composés phénoliques	08
II	Activités biologiques du genre <i>Euphorbia</i>	28
III	Etudes phytochimiques antérieures du genre <i>Euphorbia</i>	33
IV	Travaux antérieures sur le genre <i>Smyrniium</i>	44
V	Teneur en composés phénoliques totaux des extraits obtenus à partir de trois espèces d'euphorbiacée	97
VI	Teneur en flavonoïdes totaux des extraits obtenues à partir de trois espèces du genre <i>Euphorbia</i>	99
VII	Composition quantitative en composés phénoliques des extraits de <i>E.Cornuta Pers.</i>	100
VIII	Composés déterminés par HPLC-TOF/MS à partir des extraits (chloroforme, éthyle acétate, <i>n</i> -butanol) de <i>E.dendroides L.</i>	101
IX	Composés déterminés par HPLC-TOF/MS à partir des extraits (chloroforme, éthyle acétate, <i>n</i> -butanol) de <i>E.helioscopia L.</i>	103
X	. Valeurs d'IC ₅₀ and IC ₇₅ des extraits de <i>E.cornuta Pers</i> contre les cellules C6.	121
XI	Valeurs d'IC ₅₀ et IC ₇₅ des extraits de <i>E.dendroides.L</i> contre les cellules C6	124
XII	Valeurs d'IC ₅₀ and IC ₇₅ des extraits de <i>E .helioscopia.L</i> contre les cellules C6.	127
XIII	Composition des l'huiles essentielles de <i>S. olusatrum</i>	133
XIV	Valeurs d'IC ₅₀ and IC ₇₅ des huiles essentielles contre les cellules C6	137

Introduction

Introduction

Nous savons désormais que, depuis l'antiquité et sur tous les continents, les plantes ont toujours tenu une place prépondérante dans l'art de guérir. Selon les cultures et les époques, elles ont été exploitées sous différentes formes, de diverses manières et pour les usages les plus variés (**Moro Buronzo, 2008**). La recherche de principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale, car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels, le nom de ces principes actifs rappelle d'ailleurs leur origine végétale (**Catier et Roux, 2007**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie en alimentation et en cosmétologie. Parmi ces composés, on retrouve les polyphénols et les huiles essentielles qui sont parmi les groupes les plus répons dans le règne végétal. Plus de 8000 structures distinctes de polyphénols ont été identifiées et divisées en plusieurs catégories (les acides phénols, les flavonoïdes, les tannins, ... etc). Aussi les huiles essentielles considérées comme des métabolites secondaires importants pour la défense de la plante, possèdent souvent des propriétés anti-microbiennes et sont aussi utilisées à des fins médicales ou en esthétiques pour parfumer, conserver les aliments, ... etc (**Moro-Buronzo, 2008 ; Hyldgaard et al, 2012**). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires. Ils seraient impliqués dans la prévention des cancers, également les flavonoïdes pourraient exercer une multitude d'activités biologiques notamment des propriétés anti-oxydantes, vasculo-protectrices, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et même anti-tumorales significatives (**Winther, 2003 ; Ghedira, 2005 ; Edeas, 2007**).

Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine des phénomènes de stress oxydant (**Gardès-Albert et al., 2003**). La recherche de ces deux dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant (**Berger, 2006**). En effet, les espèces réactive de l'oxygène (ERO) semblent jouer un rôle non négligeable dans la cancérogenèse, puisque ces espèces peuvent être responsables de mutations dans l'ADN, ce qui constitue un facteur de risque dans l'initiation et le développement du cancer (**Gardès-Albert et al., 2003**). La reconnaissance des composés phénoliques et des huiles essentielles comme des antioxydants naturels est

maintenant bien acquise, un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires ou maladies inflammatoires.

Les plantes de la famille des Euphorbiacées et des Apiacées font l'objet de nombreuses études phytochimiques en raison de leur utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies, la recherche sur les oxyradicaux et sur les antioxydants reste donc parfaitement d'actualité car de nombreux mécanismes bioradicalaires restent encore à préciser, dans ce contexte trois espèces endémique du genre *Euphorbia* et une du genre *Smyrniium* sont choisies sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle et leurs richesses en métabolites secondaires afin de permettre la validation et l'amélioration des remèdes traditionnels et dans le but de valoriser le patrimoine forestier Algérien et d'élaborer de nouveau produit à haute valeur ajoutée.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de ces plantes en principes actifs (Huiles essentielles, polyphénols) et à déterminer leurs propriétés biologiques (anti-oxydante et anti-tumorale) pour cela nous nous sommes intéressés à l'étude des composés phénoliques de certaines espèces du genre *Euphorbia* (*E.cornuta Pers*, *E.helioscopia L.*, *E.dendroide L.*), et les huiles essentielles du genre *Smyrniium* (*S. olusatrum L.*) de la famille des apiacées.

Notre travail englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique consacré principalement à l'extraction, la quantification et l'identification des composés phénoliques par *HPLC-TOF-MS* de trois espèces du genre *Euphorbia* et par *GC-MS* les huiles essentielles du genre *Smyrniium*. Le second aspect est consacré à l'étude des activités biologiques en évaluant l'effet antioxydant des extraits par le test *DPPH* et le pouvoir réducteur et l'inhibition de la peroxydation lipidique suivie de l'étude de l'effet des polyphénols du genre *Euphorbia* et les huiles essentielles du genre *Smyrniium* sur la prolifération cellulaire de deux lignée cellulaire en utilisant le test de prolifération *BrdU ELISA assay* sur la lignée C6 et le test *xCELLigence* sur la lignée HeLa .

Synthèses bibliographiques

*Les métabolites
secondaires*

I. Les principaux métabolites secondaires du genre *Euphorbia* et *Smyrniium* :

I.1. Les composés phénoliques :

I.1.1. Définition :

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances, plusieurs milliers de composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux, bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'au moins un noyau benzénique portant une ou plusieurs fonction hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Ces composés contiennent exclusivement du carbone de l'oxygène et de l'hydrogène, Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. (Bruneton, 1999 ; Bennick, 2002 ; Martin *et* Andriantsitohaina, 2002 ; Hennebelle *et al.*, 2004 ; Macheix *et al.*, 2005).

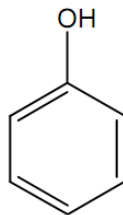


Figure 1 : Structure d'un phénol (Bruneton, 1993).

I.1.2. Biosynthèse et classification :

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

1-La voie du Shikimate (Figure 2) qui conduit des oses aux acides aminés aromatiques (phenylalanine, tyrosine) puis par désamination de ces derniers aux acides aromatiques et à leur très nombreux dérivés : acides benzoïques, lignanes et lignine, coumarine ...etc. (Martin *et* Andriantsitohaina, 2002 ; Bruneton, 2009).

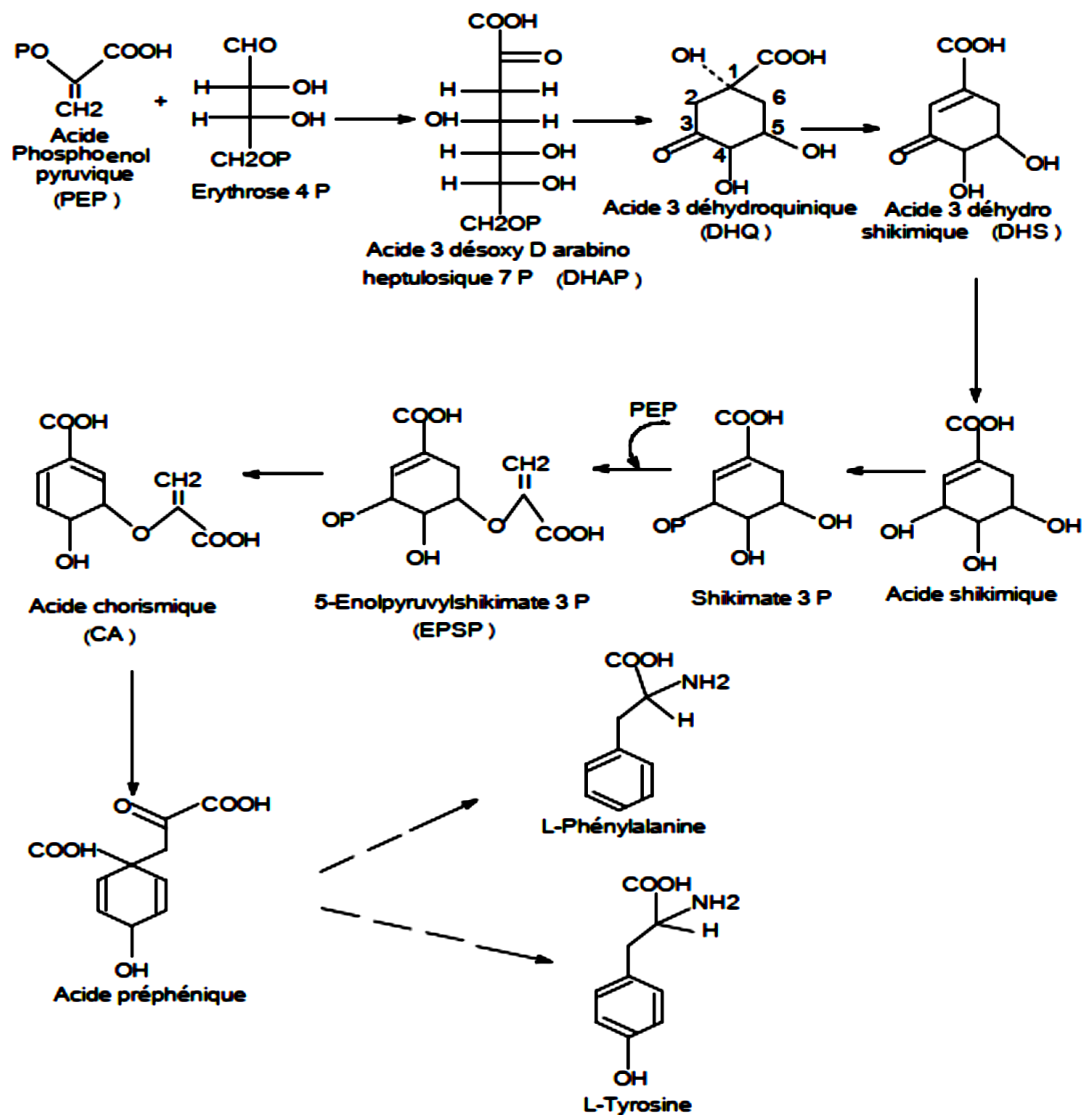


Figure 2: Biosynthèse des composés phénoliques : voie du Shikimate (Bruneton, 1999).

2-La voie de l'acétate (Figure 3) : qui conduit à des poly-β coesters de longueur variable, les polyacétates qui engendrent par cyclisation des composés souvent polycycliques : chromone, isocoumarine, xanthone, quinone...etc (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**)

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine bio-synthétique est encore accrue par la possibilité simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte : les flavonoïdes (**Bruneton, 1999 ; Guignard, 2000 ; Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

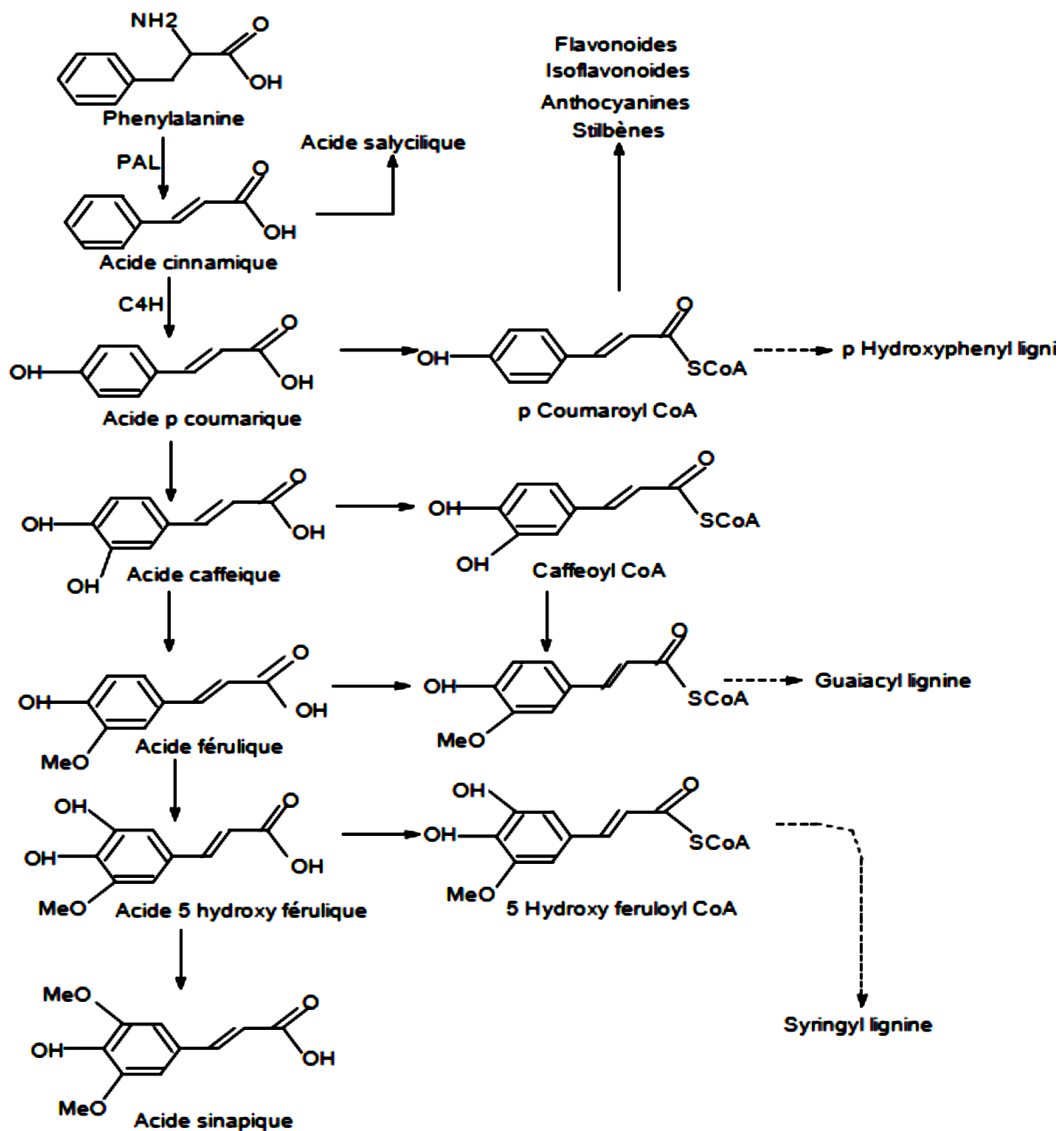


Figure 3 : représentation de la voie de l'acétate (**Hoffmanne, 2003**).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (**Tableau I**) qui se différencient d'abord par la complexité de squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées), par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...) et enfin par les liaisons possible de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires...) (**Macheix *et al.*, 2005 ; Crozier *et al.*, 2006**).

Tableau I : les principales classes de composés phénoliques (**Ribéreau-Gayon, 1968 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Crozier *et al.*, 2006**).

Squelette carboné	Classe	Exemple
C ₆	Phénols simples	Catéchol
C ₆ -C ₁	Acide hydroxybenzoïques	<i>P</i> -Hydroxybenzoïque
C ₆ -C ₃	Acide hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique
C ₆ -C ₃	Coumarines	Scopolétine, esculétine
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides <ul style="list-style-type: none"> • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones • Isoflavonoides 	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Daidzéine

$(C_6-C_3)_n$	Lignines	Pinorésinol
$(C_{15})_n$	Tannins	

I.2. Les flavonoïdes :

I.2 .1. Définition :

Constituent un large groupe de polyphénols, plus de 6000 composés naturels ont été décrit et le chiffre n'arrête pas d'augmenter (**Fraga, 2010**), ce sont des pigments responsables des coloration jaune, rouge et orange de différents organes végétaux, presque toujours hydrosolubles, les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidique) (**Ghedira, 2005 ; Portet et al., 2008**). Les oses sont généralement le glucose, le rhamnose, parfois le galactose (**Roux et Catier, 2007**).

Comme métabolites secondaires les flavonoïdes sont impliqués dans divers processus tels que la protection UV, la pigmentation ainsi que la résistance aux maladies (**Crozier et al., 2006**).

I.2.2. Structure chimique et classification :

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent possèdent tous un même squelette de base à 15 atomes de carbones (**Figure 4**), leur structure chimique en $C_6-C_3-C_6$ est constituée de deux unités aromatiques (cycle A et cycle B) reliées entre elle par une chaîne tricarbonée qui forme l'hétérocycle (cycle C) (**Cushnie et Lamb, 2005 ; Lhuillier, 2007 ; Pereira et al., 2009 ; Miziti, 2009 ; Fraga, 2010**).

Les principales classes des flavonoïdes sont les flavones, flavonols, flavan-3-ols, isoflavones, flavanones et anthocyanidines (**Crozier et al, 2006 ; Fraga, 2010**) (**Figure 05**). D'autres classes peuvent exister mais en faible quantités tels que les flavan-3,4-diols, dihydroflavonols, chalcones, coumarines, dihydrochalcones et les auronnes (**Crozier et al., 2006**).

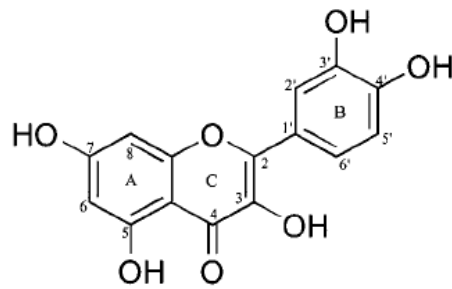


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Labbé, 2008).

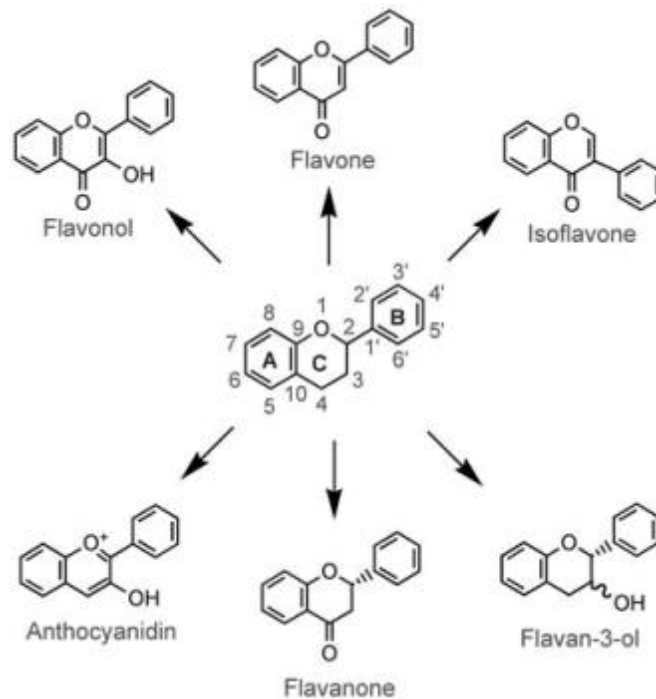


Figure 5 : Structure des principales classes des flavonoïdes (Crozier *et al.*, 2006).

I.2.3. Les propriétés pharmacologiques et biologiques des polyphénols

-Les polyphénols sont des pigments responsables de la coloration des fleurs représentant des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (Bahorun, 1997).

-Les polyphénols sont des antioxydants naturels qui suscitent de plus en plus d'intérêt dans le traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (**Dimitrios, 2006; Rahman et al., 2006 ; Aquilano et al., 2008 ;Martin et appel, 2010**).

-En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Harborne et Williams, 2000 ; Ghedira, 2005**)

-Il a été reconnu que les flavonoïdes possédaient des activités anti-inflammatoires, antiallergique, hépatoprotectrice, antithrombotique, antivirale et anticarcinogène. Pour cela, les polyphénols doivent être absorbés à travers la barrière intestinale et parvenir au niveau des tissus cibles où ils peuvent exercer des effets protecteurs (**Edeas, 2007**).

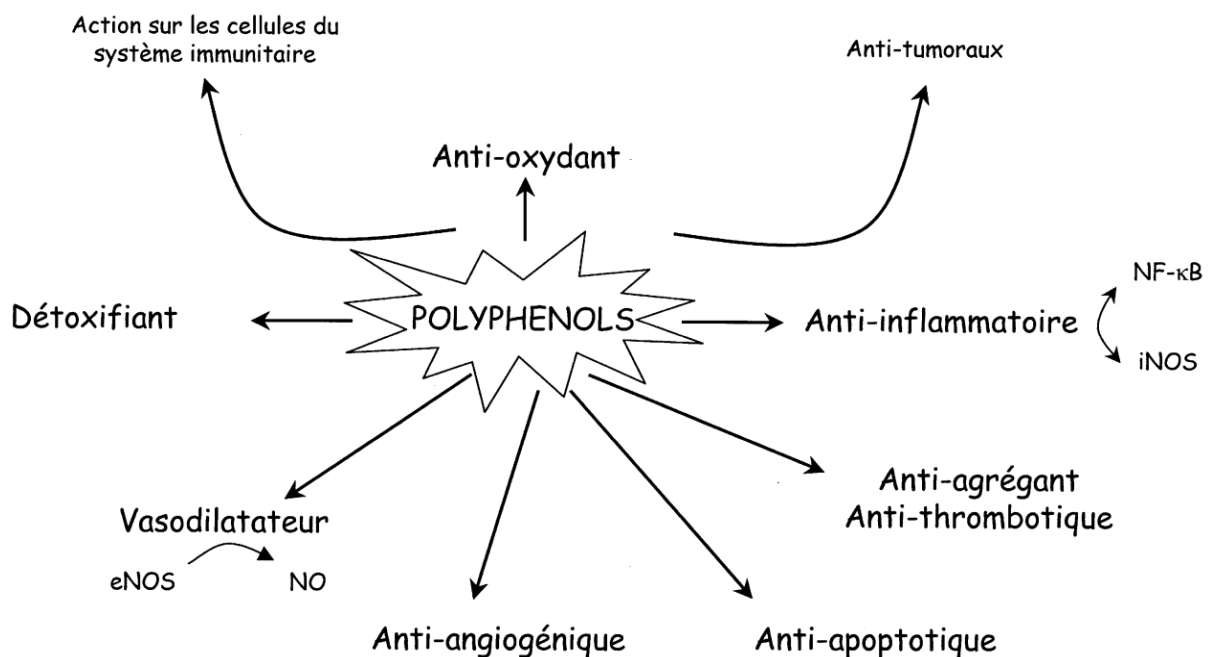


Figure 6 : Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

eNOS : NO synthase endothéliale ; iNOS : NO synthase inductible ; NF-κB : facteur nucléaire -κB.

I.3. Les huiles essentielles :

I.3.1. Définition :

Les huiles essentielles appelées aussi essences sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles (**Bakkali et al.,2008 ; Hilan et al., 2011**), obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage, une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Roux et Catier, 2007 ; Bruneton, 2009**).

Connus pour leur fragrance et propriétés médicinales diverses les huiles essentielles comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes, utilisés comme antimicrobiens, analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, antispasmodiques...etc Elle diffère des huiles fixes (huile d'olives,...) et des graisses végétales par leur caractère volatil ainsi que leur composition chimique, outre leur emploi en pharmacie et en médecine (aromathérapie) leur utilisation en parfumerie et dans l'alimentation est très importante (**Iserin, 2001 ; Bakkali et al.,2008 ; Hyldgaard et al., 2012 ;Rostagno et Prado,2013**).

I.3.2. Etat naturel : répartition, localisation :

Les huiles essentielles existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, il y aurait selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques et certaines familles en sont particulièrement riches. Ex : Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, ...etc (**Bruneton, 2009**).

Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : fleurs(bergamote),les feuilles (citronnelle, eucalyptus...), dans des écorces (cannelier),des racines (vétiver),des rhizomes (gingembre, curcuma), des fruits (anis) et des graines (muscade) et sont stockées soit dans des cellules sécrétrices isolées soit dans des organes sécréteurs : poches, canaux, poils (**Roux et Catier, 2007 ; Bakkali et al., 2008 ; Bruneton, 2009 ; Marija et al., 2013**).

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont plutôt faibles, assez souvent inférieures à 10 ml /kg. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral de giroflier (150 ml /kg) sont exceptionnelles (**Bruneton, 2009**).

I.3.3. Propriétés physiques :

Malgré leurs différences de composition, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Elles sont généralement liquides à la température ambiante.
- Elles sont volatiles et entraînent à la vapeur d'eau
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées
- Leur densité est généralement inférieure à 1 (à celle de l'eau)
- Elles sont peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur
- Elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes
- Elles sont sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée (**Roux et Catier, 2007 ; Bruneton, 2009 ; Marija et al., 2013 ; Rostagno et Prado, 2013**).

De ces propriétés découlent les principales précautions à prendre pour les conserver, dans des flacons de petite taille, bien bouchés, colorés ou en aluminium et si possible à basse température (**Couderec, 2001 ; Burt, 2004 ; Roux et Catier, 2007**).

I.3.4. Composition chimique des huiles essentielles :

Elle est complexe on trouve généralement de nombreux constituants dans une huile essentielle appartenant principalement à deux grands groupes chimiques :

I.3.4.1. Les terpénoïdes :

Dans le cas des huiles essentielles on rencontre les terpènes les plus volatils : les mono- et sesquiterpènes :

I.3.4.1.1. Les monoterpènes :

Ils sont les plus simple constituants des terpènes dont la majorité est contenus dans les huiles essentielles (90 %), comportent deux unités isoprène (C₅H₈), selon le mode de couplage « tête-queue » les carbures peuvent être acycliques (myrcène, ocimènes), monocyclique (α - et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinènes, camphène, sabinène) et porteurs de groupement fonctionnel variés :

- Alcool : exemple : menthol, géraniol, bornéol...
- Cétones : camphre, thuyones, menthone, tagétone
- Esters : acétate d'isobornyle, acétate de menthyles
- Phenol : thymol, carvacrol (**Roux et Catier, 2007 ; Bakkali et al., 2008 ; Hyldgaard et al, 2012 ; Marija et al., 2013**)

I.3.4.1.2. Les sesquiterpènes :

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que les monoterpènes, carbures, alcools et cétones sont les plus fréquents, l'allongement de la chaîne (FPP) accroît le nombre des cyclisations possibles d'où la très grande variété des structures connues (plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits) (**Bakkali et al., 2008 ; Bruneton, 2009**)

On trouvera ci-dessous quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles :

- Carbures mono- ou polycycliques : β -bisabolène, β -caryophyllène, longifolène
- Alcools : farnésol, carotol, β -santalol, cedrol, bisabol
- Cétones : β -vétivone, nootkatone, germacrone, tumerones
- Esters : acétate de cédryle

I.3.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

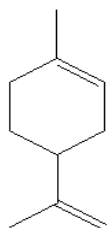
Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) sont moins répandus que les précédents, ce sont souvent des allyl- et propénylphénols quelque fois aussi des aldéhydes tels l'anéthol, l'eugénol. On peut aussi rencontrer des composés en C₆-C₁ comme la vanilline est assez fréquente parmi les composés aromatiques (**Roux et Catier, 2007 ; Hyldgaard et al., 2012**).

I.3.4.3. Les composés d'origines diverses :

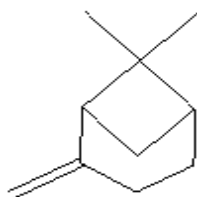
Lors de la préparation des huiles essentielles certains composés aliphatique, de faible masse moléculaire sont entraînés lors de l'hydrodistillation (carbures, acides, alcools, aldéhyde, esters, ...) (Couderec, 2001).

Monoterpènes

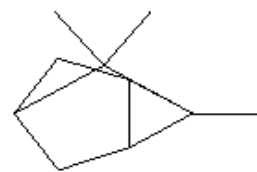
Hydrocarbures



Limonène
Odeur fraîche

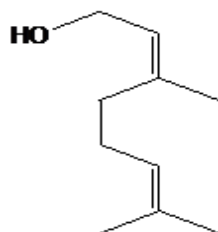


α-pinène
Odeur de pin

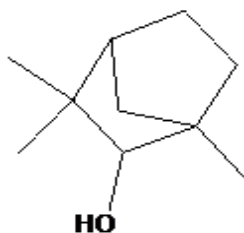


Tricyclène
Présent dans beaucoup
d'huiles essentielles

Alcools

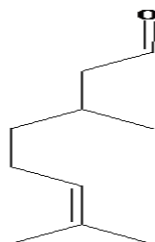


Nérol
Odeur agréable de rose

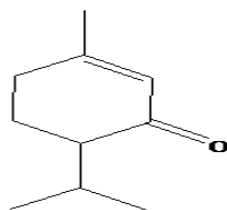


Endo-fenchol

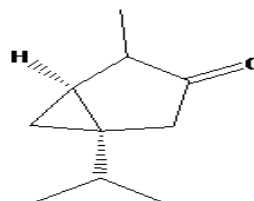
Aldéhydes et cétones



Citronellal
Odeur fraîche de citronnelle

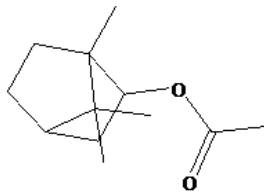


Pipéritone
Odeur de menthe poivrée

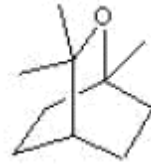


Cis-Thujone

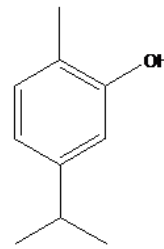
Esters, éthers et phénols



Acétate de Bornyle
Odeur typique de
Eucalyptus globulus

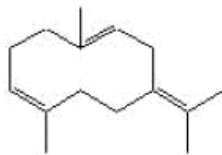


1,8-cinéole
Odeur de thymol présent
dans certains origans



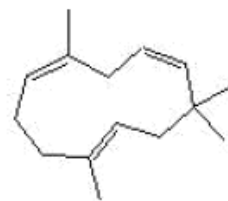
Carvacrol

Sesquiterpènes



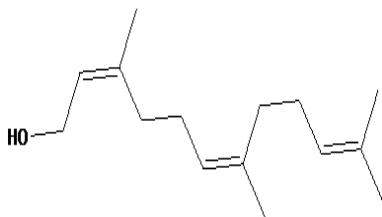
Germacrène B

Hydrocarbures

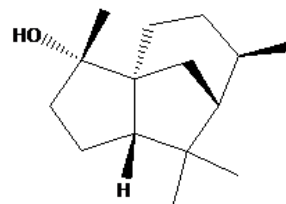


α -Humulène

Alcools



Cis-Cis-Farnésol



Cédranol

Figure 7 : Structure de quelques terpènes (Bruneton, 1999).

I.3.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Les quantités d'essences secrétées par les plantes sont extrêmement variables et les procédés chimiques utilisés pour leur obtention sont aussi très variables et interviennent de façon déterminante dans le rendement en huile et dans la composition de cette dernière.

Plusieurs méthodes d'extraction ont été mises au point telles que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion...etc, cependant les composés volatiles sont connus comme étant thermo-sensibles et vulnérables aux réactions chimiques. La perte de certains composés insaturés par effet thermique ou par hydrolyse, ainsi que la présence de résidus de solvants organiques plus ou moins toxiques peuvent être engendrés par ces techniques d'extraction (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

Les recherches ont permis la mise au point de nouvelles techniques d'extraction comme celle assistée par micro-onde des huiles essentielles et des arômes. D'un point de vue qualitatif et quantitatif des extraits ces techniques d'extraction par micro-ondes se révèlent très avantageuses et permettent l'obtention de produits à forte valeur ajoutée (**Chemat, 2007**).

I.3.5.1. L'hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée, le principe correspond à une distillation hétérogène, le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau, l'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, la chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues, ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique, les vapeurs sont condensés dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plant/eau à son niveau initiale.

La durée d'une hydro-distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter, la durée de la distillation influence non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (**Kone, 2001** ; **Lucchesi, 2005** ; **Bruneton, 2009** ; **El-Haib, 2011**).

I.3.5.2. Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (**Figure 8**), à la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter, la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille, durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libère de l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle »

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Lucchesi, 2005 ; Roux et Catier, 2007 ; El-Haib, 2011**).

I.3.5.3. l'hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau (**Figure 8**). Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau, elle consiste à faire passer de haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matière végétale, ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant

L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (**Bruneton, 2009**)

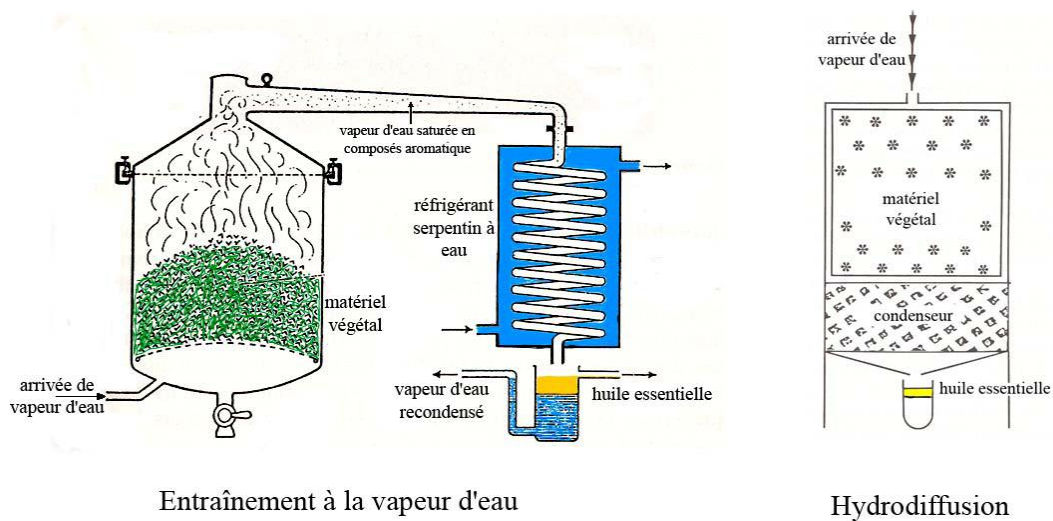


Figure 8 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante (Lucchesi, 2005)

I.3.5.4. L'expression à froid :

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore des écorces d'agrumes (citron, pamplemousse, bergamote, orange douce, orange amère, mandarine) qui renferment une quantité important d'huile essentielles, qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques, son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences, l'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation, d'autres machine rompent les poches par dépressions et recueille directement l'huile essentielle ce qui évite les dégradations liées à l'action d'eau (Bruneton, 2009).

I.3.5.5. Extraction assistée par micro-onde :

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels, les travaux sur l'extraction assistée par micro-ondes ne cessent de croître et les nouvelles techniques de fleurir. Elle regroupe différents procédés parmi lesquels :

-L'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou << MAE : microwave assisted extraction>>

-L'hydrodistillation assistée par micro-onde << VMHD : vaccum microwave hydrodistillation >>

Le rayonnement micro-onde permet de chauffer sélectivement l'eau présente naturellement dans le matériel végétal (**Figure 9**), ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères (cas de la menthe par exemple), crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile. Cette huile peut être recueillie dans un solvant ou entraîné avec la vapeur d'eau contenue dans le végétal vers un système de récupération. Ce dernier fonctionne généralement sous vide

Cette technique offre plusieurs avantages comme un temps d'extraction plus courts, une réduction de la quantité du solvant, une très bonne reproductibilité avec de bon rendement (**Benjilali *et al.*, 2004 ; Jain *et al.*, 2009 ; li *et al.*, 2013**)



Figure 9 : Appareillage de système de l'hydrodistillation sous micro ondes

I.3.5.6. Extraction par du CO₂ supercritique :

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état super-critique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux, le dioxyde de carbone refroidi et comprimé à une pression inférieure à la pression critique passe à l'état liquide, il est ensuite comprimé puis chauffé à une pression et température choisies en

fonction du type d'extrait que l'on veut réaliser « huile essentielle » ou « oléorésines », le fluide traverse alors la cuve d'extraction où il dissout l'extrait contenu dans le matériel végétal. Le CO₂ supercritique chargé en solution est ensuite détendu au-dessus de la pression critique, perdant ainsi ces propriétés de solvant. Le fluide entre ensuite dans le séparateur où le CO₂ passe à l'état gazeux, permettant ainsi aux solutés de précipiter (condenser) et d'être récupérés. Le CO₂ peut être alors recyclé ou éliminé.

Dans cette technique les risques de dégradation thermique sont éliminés (37 °C), les extraits ne sont pas hydrolysés, oxydés ou estérifiés et le CO₂ est un gaz inerte, non toxique et inflammable.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables mais elle présente l'inconvénient d'exiger un équipement relativement cher et techniquement plus élaboré, donc faisant appel à une maîtrise d'œuvre plus grande (Benjilali *et al.*, 2004 ; El-Haib, 2007).

I.3. 6. Principales propriétés pharmacologiques des huiles essentielles :

-Les huiles essentielles présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'antiquité, en effet elles ont le pouvoir de régénérer les tissus abîmés et de favoriser la cicatrisation des blessures (Moro Buronzo, 2008)

-Certaines drogues à huiles essentielles (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux, l'amélioration de certaines insomnies et troubles psychosomatiques divers est également notée (Couderc, 2001).

-De nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires, en effet, par voie externe, certaines huiles essentielles (ex : oléorésine dans la Térébenthine) augmentent la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale (Couderc, 2001).

-Certaines études ont reportées que les huiles essentielles peuvent être employés dans la prévention de certains cancer et maladies cardiovasculaires telle que l'athérosclérose par la réduction de la concentration plasmatique en cholestérol et triglycéride et réduisent les risques de thromboses en inhibant l'agrégation plaquettaire et la formation des thromboxanes (**Rostagno et Prado, 2013**)

I.3.7. Emplois :

Actuellement les huiles essentielles trouvent des emplois dans trois secteurs principaux :

➤ **En pharmacie :**

Certaines huiles essentielles ont un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale (**Bruneton, 2009**)

➤ **En parfumerie :**

C'est la principal débouché des huiles essentielles, la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont aussi consommateurs, même si le coût élevé des produits naturels conduit à privilégier parfois les produits synthétiques. Elles sont intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires ainsi que de nombreux produits d'ambiance (**Couderc, 2001 ; Cavallaro, 2014**).

On les retrouve aussi dans les préparations pour bain (bain « calmants » ou « relaxants »). Intégrées aux huiles de massage, leur teneur ne doit pas dépasser 3 à 4 %. Il y a alors possibilité d'absorption percutanée. (**Rostagno et prado, 2013**)

Le menthol, par exemple, trouve une utilisation variée dans des produits tels que les dentifrices, mousse nettoyantes, aliments, cigarettes et des préparations pharmaceutiques orales. L'huile de menthe poivrée est la troisième saveur mondiale, derrière les saveurs vanille et citron (**Couderc, 2001**).

➤ **Dans les industries agro-alimentaires :**

Certaines drogues sont utilisées en nature (épices et aromates), d'autres sous formes d'huiles essentielles ou de résinoïdes dispersés, encapsulés ou complexés. On note leur

intégration dans : les boissons non alcooliques, les confiseries, les produits laitiers ou carnés, les sauces, les soupes, les boulangeries ainsi que la nutrition animale (**Rostagno et Prado, 2013**).

➤ **Dans diverses industries :**

Ce sont surtout des industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles) comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substance odorantes, etc... (**Couderc, 2001**).

*Aperçu bibliographique sur
le genre Euphorbia et
Smyrniium*

I.2. Aperçu bibliographique sur le genre *Euphorbia* et *Smyrniium*:

I.2.1 .Description botanique du genre *Euphorbia* :

Les Euphorbiacées constituent une des plus larges familles de plante à fleurs (**pahlevani, 2007**) de plus de 7500 espèces réparties en 283 genres présents dans toutes les flores du globe (**Ali et al., 2013**).

La majorité des travaux chimiques effectués à partir de produits extraits de ces plantes s'expliquent par leur intérêt commercial, l'activité physiologique que présente la plupart des espèces (*Ricinus, Croton, Hura, Mercurialis, Euphorbia*, etc), et les terpènes que beaucoup accumulent (**Ponsinet et Ourisson, 1965**).

Le genre *Euphorbia* est le plus répondu de la famille des euphorbiacées et comprends 2000 espèces caractérisées par la production d'un latex laiteux (**Chaabi, 2008 ; Liang et al., 2009 ; Zhang et al., 2012**)

Le latex est une émulsion aqueuse trouvé dans les vacuoles de cellule sécrétrice appelé laticifère, contenant principalement des sels minéraux, des protéines, des acides aminés, des lipides, des résines, des terpènes et du caoutchouc (**Ponsinet et Ourisson, 1965 ; Fonseca et al., 2010**)

Outres ces constituants majeurs le latex contient des substances responsables de sa toxicité et de ces autres propriétés pharmacologiques (protéases, glucosides, alcaloïdes... etc) et des enzymes et cofacteurs qui en font un milieu physiologiquement actif, le distinguant ainsi d'une simple substance de déchet (**Ponsinet et Ourisson, 1965**).

Les espèces du genre *Euphorbia* possèdent des feuilles simples, rarement stipulées. Fleurs unisexuées, groupées en inflorescence complexe (cyathes), disposées en ombelles feuillées. Cyathe constitué par une fleur femelle centrale et 5 cymes exigües de fleurs mâles, réduites en général à une étamine, le tout enveloppé dans un involucre cupuliforme à 4-5 lobes présentant dans les sinus une glande charnue de forme variable. Carpelles 3, soudés en ovaire supère à 3 loges uniovulées. Style bifide. Capsule tricoque, très généralement déhiscente (**Quezel et Santa, 1963**).

La détermination de certaines espèces algériennes d'Euphorbes est très délicate et nécessite l'examen de la capsule et des graines à un assez fort ~ grossissement. Les caractères distinctifs entre quelques espèces sont d'ailleurs souvent faibles et peu fidèles (**Quezel et Santa, 1963**).

I.2.1. 1. Répartition géographique :

Le genre *Euphorbia* très complexe et varié, est le plus large dans le monde, très riche en espèces, comprend environ 2000 espèces d'annuelles, de bisannuelles, de vivaces persistantes, semi-persistants ou herbacées, de sous arbrisseau, d'arbustes et d'arbres caducs ou persistants, mais aussi de plantes succulentes.

Poussant dans des endroits très variés, les euphorbes présentent une grande diversité de taille, plantes réparties partout dans le monde à l'exception des hautes montagnes et des régions polaires, ces dernières sont répandues dans les régions tempérées, subtropicales et tropicales (**Mioulana, 2004 ; Pahlevani, 2007**).

I.2.1.2. Classification botanique :

Règne : plantae

Sous-règne : Tracheobiontae

Embranchement : Spermatophytes (plantes à graines)

Sous -embranchement : Angiospermes (Magnoliophyta : plantes à fleur)

Classe : Dicotylédones (Magnoliopsida)

Sous –classe : Rosidea

Ordre : Euphorbiales

Famille : Euphorbiaceae

Genre : *Euphorbia* L.

Espèce : *E. dendroides* L. ; *E. helioscopia* L. ; *E. cornuta* Pers

I.2.1.3. Utilisation traditionnelle et intérêt thérapeutique :

Dans la médecine traditionnelle, les Euphorbiacées sont utilisés dans de nombreuses régions du monde dans le traitement de nombreuses affections telles que les maladies gastro-intestinales. Certaines de leurs espèces possèdent également des propriétés cicatrisantes, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antihelminthiques, hémostatiques, antivirales, hépatoprotectives, purgatifs et contraceptifs (**Liang et al., 2009 ; Uzair et al., 2009 ; Fonseca et al., 2010 ; Kemassi et al., 2010**).

En pharmacopée, le genre *Euphorbia* présente une importance particulière. Plusieurs espèces présentent des propriétés thérapeutiques exceptionnelles. Les tiges, les racines et les fleurs sont employées contre la bronchite, la jaunisse, l'asthme et en homéopathie (**Uzair et al., 2009**).

I.2.1.4. La toxicité :

Un grand nombre d'Euphorbiacées sont toxiques pour l'homme: urticantes, irritantes des muqueuses, inductrices de tumeurs et engendrent des allergies cutanées causées généralement par leurs composés lactoniques ou quinoniques. (**Uzair et al., 2009 ; Kemassi et al., 2010**).

Des esters de phorbol (diterpène) retrouvés chez les Euphorbiacées, sont responsables de dermatites bulbeuses sévères sur la peau, de lésions labiales et d'œdèmes pharyngés par ingestion.

Des cas de toxicité oculaire suite à un contact direct des yeux avec le latex ont été reportés par la littérature d'ophtalmologie depuis 1940 allant d'une kératoconjonctivite à la cécité (**Shlamovitz et al., 2009**).

L'homme a très tôt, exploité la toxicité des Euphorbiacées, il les a incorporés dans des poisons de flèche en Afrique, aux Caraïbes, aussi bien en Malaisie, il utilisait ainsi la toxicité intrinsèque des latex et leur pouvoir adhésif (**Bruneton, 1993**).

Le latex desséché figurait à la pharmacopée française 1949 sous le nom de « gomme résine d'euphorbe », employée dans la pommade vésicante vétérinaire. Ils s'écoulent par incisions, opération dangereuse pour les yeux et les muqueuses des manipulateurs, étant donné ses propriétés vésicantes (**Paris et Moyse, 1971**).

I.2.1.5. Bilan bibliographique sur le genre *Euphorbia* :**I.2.1.5.1. Activités pharmacologiques :**

Le genre *Euphorbia* à fait l'objet de nombreux travaux scientifiques mettant en évidence des activités variées : antioxydantes, anti-inflammatoires ...etc (**Tableau II**)

Tableau II : Activités biologiques du genre *Euphorbia* :

Nom de l'espèce	Activités	Références
<i>E. altotibetica</i>	Cytotoxique	Zhang <i>et al.</i> , 2012
<i>E. pekinensis</i>		Liang <i>et al.</i> , 2009
<i>E. hirta</i>		Perumal <i>et al.</i> , 2012
<i>E. umbellata</i>		Luz <i>et al.</i> , 2015
<i>E. umbellata</i>		Kanunfre <i>et al.</i> , 2017
<i>E. umbellata</i>		Luz <i>et al.</i> , 2016
<i>E. umbellata</i>		Kanunfre <i>et al.</i> , 2017
<i>E. royleana</i>		Ashraf <i>et al.</i> , 2015
<i>E. hirta</i>		Tamègnon Dougnon <i>et al.</i> , 2017
<i>E. prostrata</i>	Anti-inflammatoire	Singla <i>et Pathak</i> , 1989
<i>E. acaulis</i>		Singh <i>et al.</i> , 1984
<i>E. royleana</i>		Bani <i>et al.</i> , 2000
<i>E. heyneana</i>		Battu <i>et al.</i> , 2011
<i>E. peplus</i>		Ali <i>et al.</i> , 2013

<i>E.hirta</i>		Al-Snafi., 2017
<i>E. aegyptiaca</i>		Abo-dola et Lutfi, 2016
<i>E.hirta</i>	Anti-anaphylactique	Youssouf <i>et al.</i> , 2007
<i>E. nicaeensis</i>	Cytostatique	Cateni <i>et al.</i> , 2003
<i>E.semiperfoliata</i>	Anti-oxydante	Bruni <i>et al.</i> , 2004
<i>E .dendroides</i>		
<i>E. characias</i>		
<i>E. macroclada</i>		Barla <i>et al.</i> , 2007
<i>E. rigida</i>		
<i>E. acanthothamnos</i>		Dewir <i>et al.</i> , 2006
<i>E. milii</i>		Battu <i>et al.</i> , 2011
<i>E.heyneana</i>		Uzair <i>et al.</i> , 2009
<i>E. helioscopia</i>		
<i>E. royleana</i>		Ashraf <i>et al.</i> , 2015
<i>E. grandialata</i>		Ismail <i>et al.</i> , 2017
<i>E.hirta</i>		Mythili., 2017
<i>E. tirucalli</i>		Almeida da Trindade <i>et al.</i> , 2014
<i>E.maculata</i>		Luyen <i>et al.</i> , 2014
<i>E. resinifera</i>		Benmehdi <i>et al.</i> , 2013
<i>E. characias</i>	Pintus <i>et al.</i> , 2016	
<i>E.peplis</i>	Antiproliférative	Cateni <i>et al.</i> , 2010
<i>E. jolkini</i>		Kuo <i>et al.</i> , 2006
<i>E. stenoclada</i>		Chaabi <i>et al.</i> , 2007

<i>E. tirucalli</i>		<i>Caxito et al., 2013</i>
<i>E. peplis</i>		<i>Cateni et al., 2003</i>
<i>E. hirta</i>		<i>Perumal et al., 2012</i>
<i>E.fusififormis</i>		<i>Natarajan et al., 2005</i>
<i>E. granulata</i>		<i>Bousselessela et al., 2013</i>
<i>E.hirta</i>		<i>Tiilope et al., 2012</i>
<i>E. hirta</i>		<i>Srilakhmi et al., 2012</i>
<i>E.thymifolia</i>		<i>Ganpati et al., 2011</i>
<i>E.peplus</i>		<i>Ali et al., 2013</i>
<i>E.royleana</i>		<i>Ashraf et al., 2015</i>
<i>E.hirta</i>		<i>El-Mahmood, 2009</i>
	Anti-microbienne	
<i>E.helioscopia</i>		<i>Uzair et al., 2009</i>
<i>E.paralias</i>		<i>Besbes Hlila et al., 2017</i>
<i>E. retusa</i> et <i>E. terracina</i>		<i>Emad., 2014</i>
<i>E. hirta</i>		<i>Gupta et al., 2018</i>
<i>E.hirta</i>		<i>Vaidya., 2017</i>
<i>E.hirta</i>		<i>Mythili., 2017</i>
<i>E.tirucalli</i>		<i>Almeida da Trindade et al., 2014</i>
<i>E.hirta</i>		<i>Auwal et al., 2016</i>
<i>E.hirta</i>		<i>Tamègnon Dougnon et al., 2017</i>

<i>E. antiquorum</i>		Sake <i>et al.</i> , 2013
<i>E. resinifera</i> <i>E. hirta</i>		Benmehdi <i>et al.</i> , 20 Singh <i>et Kumar.</i> , 2016
<i>E. fusiformis</i> <i>E. fusiformis</i> <i>E. nerrifolia</i> <i>E. hirta</i> <i>E. Prostrata</i>	Hepatoprotective	Anusuya <i>et al.</i> , 2012 Anusuya <i>et al.</i> , 2010 Sharma <i>et al.</i> , 2011 Mythili., 2017 Alamgeer <i>et al.</i> , 2017
<i>E. tirucalli</i>	Anti-arthrite	Bani <i>et al.</i> , 2007
<i>E. royleana</i>	Immunosuppressive	Bani <i>et al.</i> , 2005
<i>E. prostrata</i>	Antiparasitaire	Zahir <i>et Rahuman</i> , 2012
<i>E. antisiphilitica</i> <i>E. characias</i> <i>E. helioscopia</i> <i>E. hirta</i> <i>E. Sanguinea</i> <i>E. resinifera</i>	Antifongique	Ascacio-Valdés <i>et al.</i> , 2013 Giordani <i>et al.</i> , 2001 Uzair <i>et al.</i> , 2009 Vaidya., 2017 Morah <i>et Okoi.</i> , 2016 Benmehdi <i>et al.</i> , 2013
<i>E. kansui</i>	Insecticide	Dang <i>et al.</i> , 2010
<i>E. hirta</i> <i>E. hirta</i>	Diurétique	Johnson <i>et al.</i> , 1999 Al-Snafi., 2017
<i>E. hirta</i>	Anti-plasmodiale	Tona <i>et al.</i> , 2004
<i>E. tirucalli</i> <i>E. jolkini</i>	Anti-cancéreuse	Lin <i>et al.</i> , 2012 Kuo <i>et al.</i> , 2006

<i>E. fischeriana</i>		Jian <i>et al.</i> , 2018
<i>E. microciadia</i>		Shekofteh <i>et al.</i> , 2017
<i>E. helioscopia</i> <i>E. tithymaloidus</i>	Anthelminthique	Lone <i>et al.</i> , 2012 Kumar <i>et al.</i> , 2015
<i>E. hirta</i>	Fibrinolytique	Patel <i>et al.</i> , 2012
<i>E. thymifolia</i>	Laxative	Kane <i>et al.</i> , 2009
<i>E. splendens</i>	Molluscicide	Amorim <i>et Vasconcellos</i> , 2003
<i>E. heterophylla</i> <i>E. dracunculoides</i> <i>E. hirta</i>	Anti-nociceptive	Vamsidhar <i>et al.</i> , 2000 Khattak <i>et al.</i> , 2017 Venkatachalam <i>et al.</i> , 2018
<i>E. neriifolia</i> <i>E. characias</i> <i>E. Kansui</i>	Anti-HIV	Yan <i>et al.</i> , 2018 Pintus <i>et al.</i> , 2016 Wang <i>et al.</i> , 2017
<i>E. helioscopia</i>	phytotoxicité	Madany <i>et Saleh .</i> , 2015
<i>E. peplus</i>	anti-leishmanienne	Amin <i>et al.</i> , 2017
<i>E. paralias</i>	Anti-mycobactérienne	Safwat <i>et al.</i> , 2018
<i>E. hirta</i>	Anti-plasmodiale	Ajayi <i>et al.</i> , 2017
<i>E. thymifolia</i> <i>E. grandialata</i>	Anti-asthmatique	Parmar <i>et al.</i> , 2018 Ismail <i>et al.</i> , 2015
<i>E. hirta</i>	Cardioprotéctive	Reyad <i>et al.</i> , 2017
<i>E. maculata</i>	Anti-ostéoporose	Luyen <i>et al.</i> , 2014

I.2.1.5.2. Etudes phytochimiques :

Le genre *Euphorbia* renferme diverses familles de composés chimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les composés cyanogéniques, les saponines et les terpènes. Différentes classes du métabolisme secondaire ont été identifiées dans ce genre. Les résultats sont regroupés dans le Tableau III.

Tableau III : Etudes phytochimiques antérieures du genre *Euphorbia*

Classe phytochimique	Nom de l'espèce	Constituants identifiés	Références
stéroïdes	<i>E. altotibetic</i>	cholest-5-en-2 β ,4 β -diol cholest-5-en-1 β ,4 β -diol cholest-5-en-1 α , 3 β , 4 α -triol (22E)-ergosta-7,9,22-trien-3 β -ol β -D-glucoside 5 α -methoxy-(22E)-ergosta-7,9,22-trien-3 β -ol β -D-glucoside 6 β - methoxy-(22E)-ergosta-7,9,22-trien-3 β -ol β -D-glucoside	Zhang <i>et al.</i> , 2012
	<i>E. grandialata</i>	lanosta-8, 24-dien-3-ol	Ismail <i>et al.</i> , 2017
Acide phénoliques	<i>E. tirucalli</i>	-Acide ferulique	Almeida da Trindade <i>et al.</i> , 2014
	<i>E. lunulata</i>	-acide gallique	Kitanaka <i>et al.</i> , 2005
Flavonoides glycosides	<i>E. dracunculoides</i>	-Kaempferol 3-O- β -methyl glucouronide	Zaghloul., 1993

		- Kaempferol 3-O- β -glucosyl (1-4) β -methyl glucouronide	
	<i>E.esula</i>	- Kaempferol-3-O- β -3- glucuronique acid -quercetin-3-O- β - glucuronique acid	Halaweish <i>et al.</i> , 2003
	<i>E.ebracteolata</i>	-Quercetin 3-O-6''-(3- hydroxyl-3-methylglutaryl)- β -D-glucopyranoside	Liu <i>et al.</i> , 2004
	<i>E.paralias</i>	-Quercetin 3-O-glucoside	Safwat <i>et al.</i> , 2018
	<i>E. lunulata</i>	- quercetine 3-O-(2_,3_- digalloyl)-b -D- galactopyranoside - quercetine 3-O-(2_-galloyl)- b -D-galactopyranoside - hyperine - quercetine	Kitanaka <i>et al.</i> , 2005
	<i>E. neriifolia</i>	- 2-(3,4-dihydroxy-5- methoxyphenyl)- 3,5-dihydroxy-6,7- dimethoxychromen-4-one	Sharma <i>et</i> Janmeda ., 2014
	<i>E.hirta</i>	- kaempferol, - quercitol - quercitrine	Adedapo <i>et al.</i> , 2005

	<i>E. guyoniana</i>	- kaempferol -kaempferol 3- <i>O</i> -glucoside -kaempferol 3-rutinoside -quercetin - quercetin 3- <i>O</i> -glucoside - rutin	Boudiar <i>et al.</i> , 2010
triterpenoides	<i>E. kansuensis</i>	1,2,3, 20-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid 1,3, 19, 20-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid 1, 3,19-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid	Zhang <i>et al.</i> , 2012
	<i>E. fischeriana</i>	23(<i>Z</i>)-cycloart-23-en-3 β , 25-diol cycloart-22-ene-3 β , 25-diol ebracteolatain A 2, 4-dihydroxy-6-methoxy-3-formyl-1-	Wang <i>et al.</i> , 2012
	<i>E. Embellata</i>	-Euphol, Sitosterol, lanposterol, Lupeol, Cycloartenol, Friedelin-3 β -ol Friedelin	Kanunfre <i>et al.</i> , 2017
	<i>E. grandialata</i>	-A'-neogammacer-5-en-3-ol - α -amyrin	Ismail <i>et al.</i> , 2017
	<i>E. kansui</i>	-eupha-8,24-diene-3_,11_-	Zhang <i>et al.</i> , 2017

		diol- 7-one - tirucalla-8,24-diene-3_,11_- diol-7-one	
Diterpènes	<i>E.pekinensis</i>	5 α -hydroxy-1 β H,2 α H-casba- 3Z,7E,11E-triene-18-al	Liang <i>et al.</i> , 2009
	<i>E.prolifera</i>	Euphorbialoid A-J Euphorbialoid J: 2 α - <i>O</i> -isobutyryl-3 β - <i>O</i> - nicotinoyl-5 α ,7 β ,10,15 β - tetra- <i>O</i> -acetyl-14 α - <i>O</i> - benzoyl-10,18- dihydromyrsinol. Euphorbialoid G 3 β - <i>O</i> -propionyl- 5 α ,10 β ,14 β -tri- <i>O</i> -acetyl-8 β - <i>O</i> -nicotinoylcyclomyrsinol, Euphorbialoid H 3 β - <i>O</i> -propionyl-5 α ,10 β ,15 β - tri- <i>O</i> -acetyl-8 β - <i>O</i> -benzoyl- 14 β - Onicotinoylcyclomyrsinol	Xu <i>et al.</i> , 2012
	<i>E.characias</i>	<i>Ent-2-Hydroxy-atis-1,16(17)- dien-3,14-dione</i> <i>8α,14-Dihydro-7-oxo-</i>	Appendino <i>et al.</i> , 2011

		<p><i>jolkinolideE</i></p> <p>$3\beta, 15 \xi$ <i>,16-Triacetoxypimara-8(14)-ene</i></p> <p>$3\beta, 15\xi, 16$-Triacetoxypimara-8(14)-en-2-one</p>	
	<i>E.peplus</i>	<p>$-2\alpha, 5\alpha, 7\beta, 8\alpha, 9\alpha, 14\beta$-hexaacetoxy-$3\beta$-benzoyloxy-15-hydroxyjatropa-6(17), 11<i>E</i>-diene</p> <p>$5\alpha, 8\alpha, 9\beta, 10\beta, 14\alpha$-pentaacetoxy-$3\beta$-benzoyloxy-15-hydroxyepluane</p> <p>$2\alpha, 5\alpha, 8\alpha, 14\beta$-tetraacetoxy-$3\beta$-benzoyloxy-$7\beta$-isobutyroyloxy-$9\alpha$-nico-inoyloxy-$15\beta$-hydroxyjatropa-6(17), 11<i>E</i>-diene</p>	Zhi-Qin <i>et al.</i> , 2010
	<i>E.nivulia</i>	<p>euphopeplin A</p> <p>3,12-diacetyl-8-benzoylingol</p> <p>3,12-diacetyl-7-benzoyl-8-nicotinylingol</p>	Ravikanth <i>et al.</i> , 2002
	<i>E. esula</i>	<p>13, 16-dibenzoyloxy-20-deoxyingeno-3-benzoate</p> <p>ingenol-3, 20-dibenzoate</p>	Wang <i>et al.</i> , 2010

jatrophane diterpenoid	<i>E. kansui</i>	16-benzoyloxy- 20-deoxyingenol 5-benzoate 3- <i>O</i> -(2,3-dimethylbutanoyl)- 13- <i>O</i> -dodecanoylingenol (3- 1) 3- <i>O</i> -(2' <i>E</i> ,4' <i>Z</i> -decadienoyl)- ingenol (3-2)	Dang <i>et al.</i> , 2010
	<i>E. salisifolia</i>	Euphosalicin	Hohmann <i>et al.</i> , 2001
	<i>E. dendroides</i>	J-L (1-3), 13 α -OH terracinolide F abeodendroidin F epiabeodendroidin F	Corea <i>et al.</i> , 2003
	<i>E. esula</i>	17-benzoyloxy- 3- <i>O</i> -(2,3-dimethylbutanoyl)- 20-deoxyingenol. 17-benzoyloxy-3- <i>O</i> -(2,3- dimethylbutanoyl)- 13-(2,3- dimethylbutanoyloxy)-20- deoxyingenol	Lu <i>et al.</i> , 2008
	<i>E. sapinii</i>	lanost-24-en-20-ol-3- tetradecanoate euphorbol-7-one	Tsopmo <i>et</i> Kamnaing , 2011
	<i>E. neriifolia</i>		Yan <i>et al.</i> , 2018

ent-kaurane diterpene	<i>E. helioscopia</i>	euphorantins S-T euphorneroids A-D helioscopianoids A–Q	Yu <i>et al.</i> , 2018
ent-abietane dierpernoids	<i>Euphorbia stracheyi</i>	-ent-Kaurane-16 β ,17,19-triol-3-one - ent-Kaurane-3 α ,16 β ,17-triol - ent-16S,17-dihydroxykaurane-3-one - ent-3S,16S,17-trihydroxykaurane-2-one	Liu <i>et al.</i> , 2017
ent-abietane	<i>E. ebracteolata</i>	-ent-abietane dierpernoids (1-12) - ebracteolata D (new compounds)	Ma <i>et al.</i> , 2018
tigliane	<i>E. fischeriana</i>	- jolkinolide B - jolkinolide A - 17-hydroxyjolkinolide B - 17-acetoxyjolkinolide B	Jian <i>et al.</i> , 2018
daphnane		-prostratin - 13-O-acetylphorbol - 12-deoxyphorbol 13-palmitate	
ingenane		- langduin A	
ent-atisane		- ingenol-6,7-epoxy-3-tetradecanoate - ingenol-3-myristinate - ingenol 3-palmitate	

ent-kaurane		<ul style="list-style-type: none"> - ent-1β,3β,16β,17-tetrahydroxyatiane - ent-1β,3α,16β,17-tetrahydroxyatisane <ul style="list-style-type: none"> - ent-kaurane-3-oxo-16β,17-acetonide 	
Alcaloïdes	<i>E. guyoniana</i>	-1,5-diphenyl-3-styryl-2-pyrazoline	Boudiar <i>et al.</i> , 2010

I.2.2. Généralité sur la famille des Apiacées :

I.2.2.1. Description des Apiacées :

La famille des Apiacées, appelées anciennement Ombellifères (Umbelliferae), est une famille de plantes dicotylédones, comptent environ 3000 espèces et 300 genre, Elle prend son nom du genre *Apium*, dont *A. graveolens* c'est une famille très homogènes facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles simple ou composées (Filliat, 2012; Abadollahi, 2013 ; Ayachi, 2014 ; Znati *et al.*, 2016)

I.2.2.2. Distribution géographique de la famille des apiacées en Algérie et à travers le monde :

On les trouvent dans les régions tempérées froides et même méditerranéennes, elle sont plus rare dans les régions tropicales (Filliat, 2012 ; Abadollahi, 2013), les genres se répartissent entre les divers continents avec une prédominance pour le continent Asiatique (265), Amérique (197), Europe (139), Afrique (126), Australie (36) (Ayachi, 2014).

Famille très importante dans la flore Algérienne ou elle est représentée par 55 genres, arbustes, plantes sous-frutescentes ou herbacées très variable (Quezel *et Santa*, 1963)

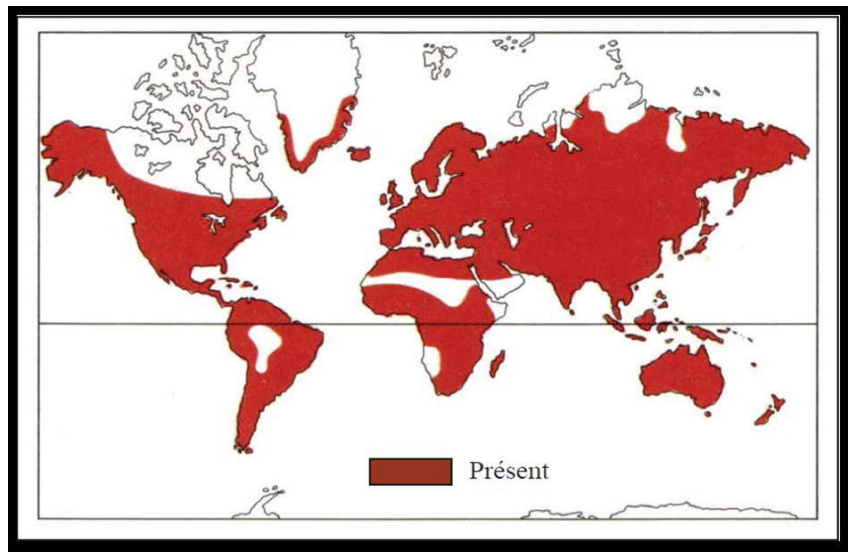


Figure 10 : Répartition géographique mondiale des Apiaceae (**Mokaddem-Daroui, 2011**)

I.2.2.3. Composition chimique des Apiacées :

Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économique et médicaux, comportant des coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques ainsi qu'une grande richesse en huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques (**Ayachi, 2014**)

I.2.2.4. Intérêt biologique pour les Apiacées :

Dans les ombellifères se trouvent de nombreuses plantes utiles pour l'homme :

- Certaines espèces sont utilisées comme condiment :

le carvi (*Carum carvi*), la coriandre (*Corandrum sativum*), l'anis (*pimpinella anisum*), le cumin (*Cuminum cyminum*), l'angélique (*Angelica archangelica*).

- Certaines espèces sont alimentaires :

la carotte (*Daucus carotta*), le céleri (*Apium graveolens*), le persil (*Petroselinum sativum*), le maceron (*Smyrniium olusatrum*), le panais (*Pastinaca sativa*)

- Certaines sont médicinales :

Ammi visnaga est un antispasmodique et dilatateur des coronaires, certaines espèces sont utilisées pour leur gommes ou leurs résines : la fêrule (*Ferula asa-foetida*), *Dorema ammoniacum*...etc

En fin on utilise les essences de certaines espèces comme l'anis vert, le persil, le cumin...etc (**Philliat, 2012**)

- Certaines sont toxiques :

la grande cigue (*Conium maculatum*) contient dans tout ses organes un cortège d'alcaloïdes comme la conicine, la conidine, coniine, méthylconiin e... etc, très toxique, cette plante est dangereuse, car très commune et facile à confondre avec d'autres espèces. Une autre espèce très vénéneuse est la Cigue vireuse (*Cicuta virosa*) herb de macérage de l'Europe jusqu'au Japon, est beaucoup plus rare, ses principes vénéneux sont une résine (Cicutoxine) et des alcaloïdes (cicutine...) (**Ayachi, 2014**).

I.2.2.5. Présentation botanique et géographique du genre *Smyrniium* :

Plantes bisannuelles à racine mapiforme, à feuilles peu divisées, involucre nuls, styles divariqués à peine plus long que le stylopode (**Quesel et Santa, 1963**). Le genre *smyrniium* regroupe 08 espèces de la famille des Apiaceae : *S. olusatrum* ; *S. perfoliatum* ; *S. rotundifolium* Mille ; *S. cordifolium* ; *S. connatum* ; *S. creticum* ; *S. peregrinum* et *S. integerrimum* (**Mokaddem-Daroui, 2011**)

Smyrniium olusatrum possède des feuilles triséquées à pétiole engaînant à sa base, les inférieures 2-3 fois triséquées, fruits globuleux noirâtres. Trouvés dans toute l'Algérie, lieux frais, forêts, haies (**Quesel et Santa, 1963**).

S. olusatrum L. est originaire des régions méditerranéennes : Afrique du Nord : Maroc, Algérie, Tunisie ; Europe méridionale : Grèce, Italie, France, Portugal, Espagne ; Asie occidentale : Turquie, Chypre, Palestine, Liban, Syrie (**Maggi et al., 2014**)

Le nom latin *Smyrniium* vient du grec << Smyrna >> et le nom d'espèce << *olusatrum* >> signifie légume noir (Maggi *et al.*, 2012)

I.2.2.6. Classification du genre *Smyrniium* dans la systématique botanique :

Règne : Plantea

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédones

Ordre: Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Smyrniium L.*

Espèce : *Sm. Olusatrum L.*

I.2.2.7. Composition chimique :

Les tiges, les feuilles, les fleurs et les racines de cette plante ont été étudiées pour leur contenu en flavonoïdes, composés phénoliques et surtout les sesquiterpènes et les huiles essentielles (contenant β -phellandrene, limonène, α -pinène) (Mokaddem-Daroui, 2011).

I.2.2.8. Travaux antérieures sur les huiles essentielles du genre *Smyrniium* :

Plusieurs études ont été réalisées sur le genre *Smyrniium* et ont révélé la présence de plusieurs type de composés, les huiles essentielles de nombreuses espèces du genre *Smyrniium* ont également été étudiées avec en particulier le genre *Smyrniium olusatrum* (Ayachi, 2014)

Tableau IV : Travaux antérieures sur le genre *Smyrniium*

Nom de l'espèce	Partie utilisées	Activités étudiées	Composés isolés	Références
<i>S. perfoliatum</i>	Partie aérienne	/	-quercetin 3-β-D glucoside - kaempferol - 3-β-D-glucoside - 3,4'-β-D-diglucoside	Ulubelen <i>et al.</i> , 1981
<i>S. rotundifolium</i>			- kaempferol - 3-β-D-galactoside - kaempferol 3-methyl ether 7-β-D-glucoside - kaempferol 3-diglycoside	
<i>S. creticum</i>			- kaempferol - quercetine - 3-β-D-galactoside	
<i>S. olusatrum</i>	fruits	/	- furanogermacrane - 1β, 10α, 4α, 5β-diepoxy-7,8-furanogermacrane (glechomafuran)	Ulubelen <i>et al.</i> , 1983
<i>S. perfoliatum</i>	fruits	/	germacrene D 1β-acetoxifyfuranoeudesm-3-ene 1β-acetoxifyfuranoeudesm-4(15)-ene; linderazulene.	Molleken <i>et al.</i> , 1997
<i>S. olusatrum</i>	Fruits Fleurs racines	/	B-phellandrene Furanodiene isofuranogermacrane 1-β-acetoxifyfuran-4(15)-eudesmene Furano-eremophil-1-one Furano-4(15)-eudesmene-1-one	Molleken <i>et al.</i> , 1998
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	Cytotoxique	furanosesquiterpenoids : Isofuranodiene, curzerene, germacrone	Quassinti <i>et al.</i> , 2014
<i>S. olusatrum</i>	fruits	Antiproliférative	Trois sesquiterpene lactones	El-Gamal, 2001
<i>S. olusatrum</i>	Racines feuilles fruits	Antioxydante, Antimicrobienne Antiproliférative	Furanosesquiterpenes a-Pinene Myrcene d-3-Carene b-Phellandrene	Quassinti <i>et al.</i> , 2013

			b-Elemene Curzerene Isofuranodiene Germacrone Furanoeremophil-1-one Glechomafuran 1b-Acetoxyfuranoeudesm-4(15)-ene	
<i>S. olusatrum</i>	Partie aérienne	Neurogénique Cytotoxique	Isofuranodiene	Mustafa <i>et al.</i> , 2016
<i>S. cordifolium</i>	Racines Tiges Feuilles fruits	Antibactérienne	Curzerene curzerenone	Amiri <i>et al.</i> , 2006
<i>S. olusatrum</i>	Feuilles et fleurs	Antifongique	Furanodiene, germacrone furanoeremophil-1-one	Tsasi <i>et al.</i> , 2016
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	acaricide	sesquiterpenoids isofuranodiene germacrone	Benelli <i>et al.</i> , 2016
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	antiproliférative	Isofuranodiene	Buccioni <i>et al.</i> , 2014
<i>S. olusatrum</i>	Partie aérienne	hépatoprotective	Isofuranodiene	Li <i>et al.</i> , 2015
<i>S. olusatrum</i>	Racine Feuilles Fleurs fruits	Anti-parasiatique	Isofuranodiene	Petrelli <i>et al.</i> , 2017
<i>S. olusatrum</i>	Feuilles Fruits fleurs	Antioxydant Inhibition de α -amylase	furanosesquiterpenes	Messaoud <i>et al.</i> , 2013
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	Cytotoxique et neuritogène	Isofuranodiene	Mustafa <i>et al.</i> , 2016
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	Anti-bactérienne	Curzerene (30.5%), isofuranodiene (9.8%) furanoeremophil-1-one (12.1%)	Rosato <i>et al.</i> , 2018
<i>S. olusatrum</i>	Partie aérienne	/	- quercetin 3- <i>O</i> -glucoside - isorhamnetin-3- <i>O</i> -glucoside - quercetin 3-(6''-malonylglucoside) - isorhamnetin 3-(6''-malonylglucoside)	Bencheraiet <i>et al.</i> , 2014
<i>S. olusatrum</i>	Racine Fruits feuilles fleurs	/	-Isofuranodiene - furanoeremophil-1-one - 1- β -acetoxyfuranoeudesm-4(15)-ene	Maggi <i>et al.</i> , 2014

			- Curzerene - Germacrone - chlorogenic acid - isoquercitin (Quercetin-3-O-glucoside) - 3-indoleacetic acid	
<i>S. perfoliatum</i>	Partie aérienne	/	-furanosesquiterpene -curzerene -isofuranodiene	Papa <i>et al.</i> , 2015
<i>S. cordifolium</i>	Partie aérienne	hypnotique	/	Liang <i>et al.</i> , 2014
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	cytotoxique	-isofurandodiene - germacrone	Cespi <i>et al.</i> , 2016
<i>S. olusatrum</i>	Feuilles tiges	Anti-microbienne	-sabinene - curzerene -methyl-1-benzyl-2-oxocyclooctane carboxylate - α -pinene -cryptone - β -pinene	Daroui-Mokaddem <i>et al.</i> , 2010
<i>S. olusatrum</i>	Partie aérienne	Anti-fongique	- β -phellandrene - α -pinene	Marongiu <i>et al.</i> , 2012
<i>S. olusatrum</i>	Racines Feuilles Tiges Fleurs fruits		Acide ascorbique Acide gras mono-insaturés Acide gras polyinsaturés	Caprioli <i>et al.</i> , 2014
<i>S. cordifolium</i>	Partie aérienne	/	Trans pinane Phytol Alcool Linolenyl Acide n-Hexadecanoic	Sodeifian <i>et al.</i> , 2014
<i>S. olusatrum</i>	Racines Tiges feuilles	/	Myrcene β -phellandrene β -caryophyllene furanodiene curzerene germacrene B germacrone	Bertoli <i>et al.</i> , 2014
<i>S. olusatrum</i>	Tiges Feuilles fleurs	/	- furanoeremophil-1-one - curzerene - germacrone - furanoeremophil-1-one	Papaioannou <i>et al.</i> , 2010
<i>S. olusatrum</i>	fleurs	Anti-microbienne	- furanodiene - furanoeremophil-1-one	Khoury <i>et al.</i> , 2017

Stress oxydatif et cancer

- **Le paradoxe de l'oxygène :**

Elément indispensable à notre survie, à notre développement, à notre capacité d'adaptation, l'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence (**Koechlin-ramonatxo, 2006**).

L'oxygène en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme se transforme en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale avec production d'ATP mais le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène particulièrement réactionnelles (**Shinde et al, 2012**)

Les espèces oxygénées réactives (EOR) sont donc la conséquence inévitable de la consommation de l'oxygène moléculaire par l'organisme, leur production est permanente et physiologique (**Koechlin-ramonatxo, 2006**).

Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde est formée qui conduit par la suite à la production de d'autre EOR comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet le radical hydroxyle, l'acide hypochloreux, des dérivés nitrés.....etc

De part leur nature instable les EOR sont toxique et interagissent avec une série de substrat biologique importants (lipides, protéines et ADN) aboutissant à des modifications structurelles et fonctionnelles (**Pincemail et al., 2002**).

I.3. Les espèces réactives de l'oxygène (EOR) :

I.3.1. Définition :

Les radicaux libres appelées également espèces réactive de l'oxygène (EOR) sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, ce sont des espèces chimiques capable d'existence indépendante (**Castro et Freeman, 2001 ; Scheibmeir et al., 2005 ; Berger, 2006 ; Mahantesh et al., 2012 ; Sivanandham, 2011**), ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électron à partir d'un composé non radical (**Haliwell et Gutteridge, 1989 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Afonso et al., 2007**), ce sont des

espèces chimiques instables et réactives et possèdent un temps de demi-vie extrêmement court (10^{-9} - 10^{-6} s) (Oldham,1998).

Les plus importante EOR sont : l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'hypochlorite et la peroxyntrite...etc

I.3.2. Les principaux radicaux libres (espèces activées de l'oxygène) :

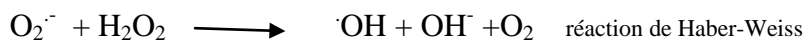
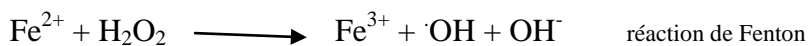
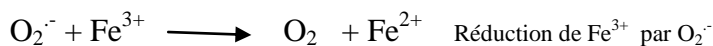
I.3.2.1. Les composés oxygénés radicalaires :

- **Radicaux superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)**

Les radicaux superoxydes $O_2^{\cdot-}$ sont des radicaux relativement peu réactifs par eux-mêmes, mais peuvent donner naissance à des composés plus réactifs, produit suite à un transfert d'électron sur la molécule d' O_2 (Sevanandham, 2011).

- **Radicaux hydroxyle ($\cdot OH$)**

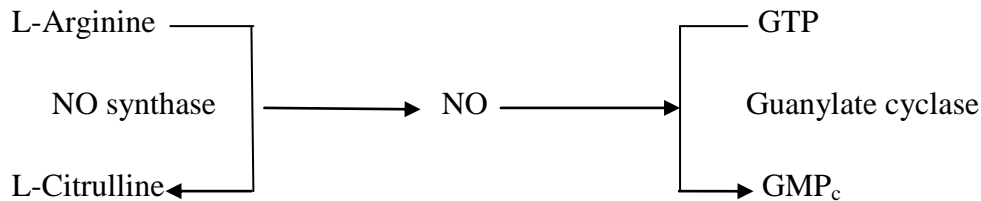
Les radicaux hydroxyles sont des radicaux libres les plus réactifs capable de réagir avec un très grand nombre de cible moléculaires in vivo, ces radicaux ne diffuse pas et réagissent sur le lieu même de leur production, avec des constantes de vitesse très élevées (de l'ordre de 10^9 à 10^{10} mol⁻¹.L.S⁻¹), la réaction de Fenton est un exemple de réaction radicalaire catalysée par les métaux de transition et conduisant à la formation de radicaux $\cdot OH$ (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ;sevanandham, 2011)



- **Monoxyde d'azote ($\cdot NO$) :**

Le monoxyde d'azote (oxyde nitrique) est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthases au niveau des cellules

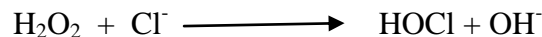
endothéliales, les neutrophiles, les macrophages, les fibroblastes, les thrombocytes et les neurones, c'est un radical qui possède un temps de demi-vie court, la réactivité du NO est reliée à la production de beaucoup d'espèces réactives d'azote (RNS) qui cause des dommages pour l'ADN (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Anamaria, 2008 ; Sivanandham, 2011 ; Shivanna *et al.*, 2013**).



I.3.2.2. Les composés oxygénés non radicalaires :

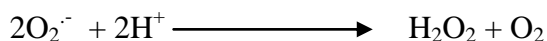
- **L'acide hypochloreux (HOCl) :**

L'acide hypochloreux est un oxydant puissant capable de réagir avec de nombreuses molécules biologiques notamment celles contenant des groupements thiol (-SH), il est généré lors de la phagocytose par action de la myéloperoxydase, participant ainsi à la bactéricidie (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003**)



- **Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :**

C'est un composé relativement peu réactif en l'absence de métaux de transition, capable de diffuser rapidement à travers les membranes cellulaires, il peut être produit selon deux grandes voies : l'action des oxydases (acide aminés oxydase, glycolate oxydase, urate oxydase...) ou la dismutation du radical O₂⁻ (**Howes, 2006 ; Sevanandham, 2011**) :



- **L'oxygène singulet (¹O₂) :**

L'oxygène singulet n'est qu'une forme activée de l'oxygène, résultant d'une inversion de spin d'un des électrons de l'orbital externe, c'est un oxydant puissant qui possède un temps de demi-vie court (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Sevanandham, 2011**).

- La peroxynitrite (ONOO⁻) :

La peroxynitrite est un oxydant puissant, résultant de la réaction du radical NO avec le superoxyde, la peroxynitrite induit la nitration d'acides aminés aromatique et l'initiation de la peroxydation lipidique ainsi que l'oxydation des bases de l'ADN, et peut réagir avec les métaux, les métalloprotéines (telle que la SOD) et les molécules biologiques nitrés (Anamaria, 2008)

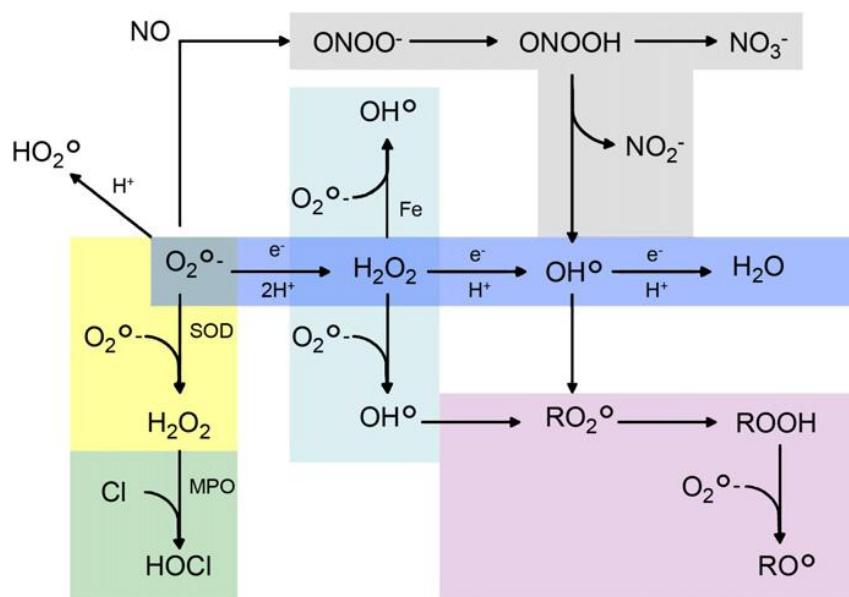
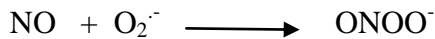


Figure 11 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (Koechlin-Ramonatxo, 2006)

I.3.3. Le rôle physiologique des EOR : la double vie des EOR

Il serait erroné de ne voir les EOR que sous l'angle de leur toxicité, des études récente montrent que les EOR sont aussi impliqués dans des processus physiologiques essentiels

-En effet, les EOR de part leur réactivité participent à de nombreuses fonctions : phagocytose, bactéricidie, signalisation cellulaire et la détoxification des xénobiotiques par le cytochrome P450 (Devasagayam *et al.*, 2004 ; Sevanandham, 2011).

-Au niveau musculaire, des travaux montrent que l'exposition des fibres musculaires au H₂O₂ augmente toutes les caractéristiques de la contraction musculaire : pic de force, constante de tempsetc

-Les EOR participeraient également à l'amélioration du captage musculaire du glucose, et à la reconstitution des stocks en glycogène musculaire (Tessier *et* Marconnet, 1994 ; Devasagayam *et al.*, 2004 ; Koechlin-Ramonatxo, 2006).

A ces fonctions biologiques, la réactivité particulière des EOR ajoute des propriétés toxiques importantes et diversifiées, en effet toutes les macromolécules cellulaires sont des cibles potentielles des EOR ainsi les bases nucléiques sont susceptibles d'être oxydées conduisant notamment à la formation de 8-oxo-guanine, à l'origine de mutation génique, c'est sans doute ce qui explique la génotoxicité des radicaux libres (Barouki, 2006).

I.3.4. Les principales sources de production des EOR :

Les radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogène qu'exogène :

-La mitochondrie est la source de production majeure d O₂⁻ dans la cellule qui peut s'intensifier lorsqu'interviennent des désordres mitochondriaux, génétique, inflammatoire ou nutritionnels (Mahantesh *et al.*, 2012 ; Shivanna *et al.*, 2013)

- L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produit directement par le complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires activées, ce mécanisme lorsque il est contrôlé est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et corps étrangers (Oldham, 1998 ; Sevanandham, 2011 ; Mahantesh *et al.*, 2012)

-Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent les radicaux libres au cours de réaction biochimiques (xanthine oxydase, Glycolate oxydase, monoamine oxydase, hème oxygénase, cytochrome p450), une autre espèce radicalaire le monoxyde d'azote (NO) est produite

par des systèmes enzymatiques qui sont les différentes NO synthase (NOS) (**Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Sivanandham, 2011**).

-D'autres sources exogènes telles que les métaux de transition, les polluants, les pesticides, la fumée de cigarette et les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux qu'il s'agisse des rayons ionisant x ou gamma ou des rayons ultraviolet capable de produire des anions superoxydes, radical hydroxyle ou de l'oxygène singulet (**Oldham, 1998 ; Devasagayam *et al.*, 2004 ; Sivanandham, 2011 ; Mahantesh *et al.*, 2012 ; Shivanna *et al.*, 2013**)

-L'auto-oxydation des composés tels que des neuromédiateurs(adrénaline, noradrénaline, dopamine...) des thiols (cystéine), des coenzymes réduits (FMNH₂ , FADH₂) peuvent conduire à la formation du radical superoxyde, mais aussi la détoxification des (xénobiotiques, médicaments...) par les systèmes des cytochromes P450 présents au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique (**Gardès-Albert *et al.*, 2003 ; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003**).

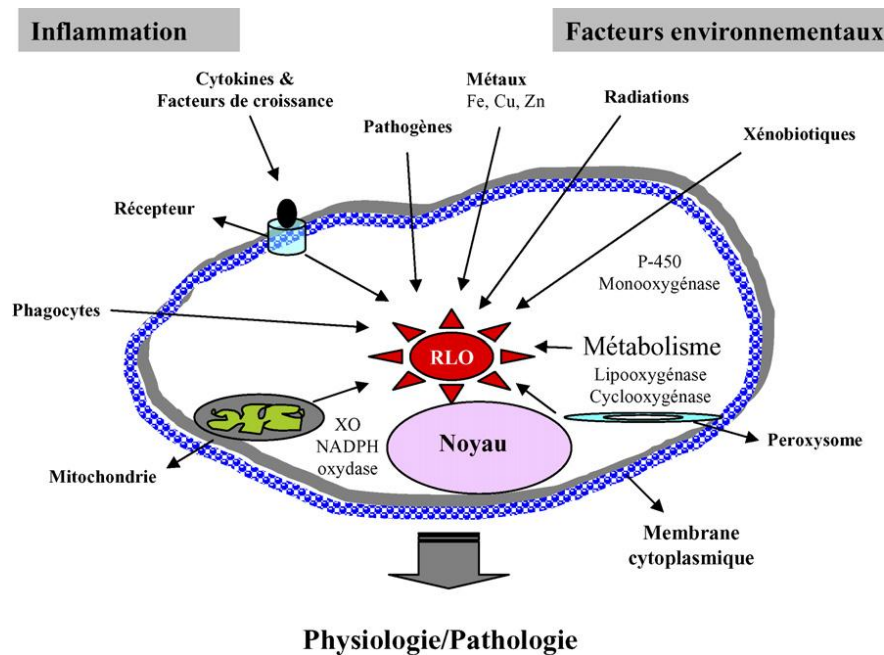


Figure 12 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Afonso *et al.*, 2007**).

I.3.5. Le stress oxydant :

Le stress oxydant est un déséquilibre profond entre antioxydants et prooxydants en faveur de ces derniers (**Pincemail et Defraigne, 2004 ; Sevanandham, 2011**) cette situation peut résulter :

- d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie reperfusion, vieillissement), d'une activation de système enzymatique (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase)
- d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrice (ferritine)
- une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamine,...)
- une alimentation pauvre en antioxydant contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Alliwell, 2001 ; Pincemail et al., 2002 ; Durant et al.,2003 ; Barouki,2006 ; Lykkesfeldt et Svendsen, 2007**).

I.3.6. Les défenses anti-oxydantes :

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (**Afonso et al, 2006 ; Berger, 2006 ; Ratnam et al., 2006 ; Anamaria, 2008 ; Mahantesh et al.,2012 ; Shivanna et al.,2013**)

Les systèmes de défenses anti-oxydants comportent :

- Les enzymes telles que la superoxyde dismutase, la catalase, la peroxydase capable d'éliminer de façon catalytique des radicaux libres (**Ratnam et al., 2006 ; Shinde et al., 2012**).
- Des composés de basse masse moléculaire (glutathion, α -tocophérol, acide urique, acide ascorbique, bilirubine) capable de piéger les radicaux libres dérivés de l'oxygène et d'azote (**Shinde et al.,2012**), des protéines (transferrine, ferritine, haptoglobuline,céruloplasmine) qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003 ; Mahantesh et al., 2012**).
- certains oligo-élément comme le cuivre, le zinc et le sélénium qui sont indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes (**Pincemail et al., 2002**) ainsi que certaines molécules

exogène qui sont apportés par l'alimentation (acide ascorbique, vitamine E, caroténoïdes) (Shinde *et al.*, 2012 ;Mahantesh *et al.*, 2012).

I.3.6.1. Les principaux systèmes de défense enzymatique :

- **Glutathion peroxydase(GPx) :**

Enzymes antioxydantes constituent une des principales lignes de défense contre les agressions produite par les EOR, c'est un groupe d'enzyme capable de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes (d'origine lipidique), en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur, cinq isoformes existent dont la localisation dans l'organisme varie, leur activité enzymatique est directement proportionnelle à l'apport en sélénium, les glutathions peroxydases assurent en synergie avec d'autres molécules de nature enzymatique (superoxyde dismutase, catalase) ou non (vitamine C, E, caroténoïdes) l'équilibre intra- et extra-cellulaire de la balance oxydant-antioxydant (Halliwell, 2001 ; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Ducros *et Favier*, 2004 ; Anamaria, 2008 ; Bryan *et al.*, 2012 ; Mahantesh *et al.*, 2012).

- **Thioredoxine réductase :**

Sélenoprotéine dimérique récemment découverte elle est située dans le cytoplasme des cellules humaine et catalyse la réduction NADPH dépendante de la thioredoxine , au nombre de trois isoformes , elle joue un rôle essentiel dans le processus antioxydant en réduisant les ponts disulfures intramoléculaire des protéines et en catalysant la régénération de la forme réduite des substances telles que la vitamine C et E (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Ducros *et Favier*, 2004 ; Anamaria, 2008)

- **La superoxyde dismutase (SOD) :**

La SOD catalyse la dismutation de l'O₂⁻ en dioxygène et H₂O₂, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire la Cu-Zn-SOD ou SOD1 cytosolique de 32,000 Da c'est un homodimère codé par un gène sur le chromosome 21 et la SOD 3 (EC-SOD) extracellulaire c'est une protéine tétramérique de 135 KDa utilisant le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité

enzymatique alors que la SOD2 (Mn-SOD) mitochondriale de 80,000 Da homotétramérique codé par le gène SOD-2 situé sur le chromosome 6 et utilise le manganèse comme cofacteur (Afonso *et al.*, 2007 ; Anamaria, 2008 ; Namaki *et al.*, 2009 ; Mahantesh *et al.*, 2012 ; Poljsak *et Milisav*, 2013)

- **La catalase (CAT) :**

C'est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, elle est essentiellement présente dans les peroxysomes et les hématies, c'est une enzyme tétramérique formé de 04 sous unités identiques de 60 KDa chaque'une contient un groupe héminique et un NADPH dans son centre (Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003 ; Poljsak *et Milisav*, 2013).

I.3.6.2. Les principaux systèmes de défense non enzymatique :

Il est également possible de classer les systèmes antioxydants selon qu'il soit hydrosoluble assurant une protection des milieux intra- et extra-cellulaires ou liposoluble agissant alors au niveau des membranes ou des lipoprotéines circulantes.

I.3.6.2.1. Les antioxydants hydrosolubles :

- **l'acide ascorbique :**

Molécule exclusivement exogène qui provient de l'alimentation, de concentration plasmatique qui varie entre 30 et 100 μM . C'est un composé réducteur qui agit en synergie avec α -tocophérol en permettant sa régénération lui-même, étant régénérer par une NADH réductase, l'acide ascorbique inhibe la peroxydation des phospholipides des membranes cellulaires et exerce un effet scavenger sur certain radicaux libres, mais en présence des métaux de transition la vitamine C s'oxyde en radical ascorbyl qui possède des propriétés pro-oxydantes (Vertuani *et al.*, 2004 ;Anamaria, 2008)

- **L'acide urique :**

Produit par la xanthine oxydase participe aux défenses antioxydantes à un taux de 60 % due à sa forte concentration et distribution, il interagit avec 10 à 15 % des radicaux hydroxyles produit quotidiennement, et piège les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet, à des fortes concentrations il devient prooxydant (Anamaria, 2008)

- **Les polyphénols :**

Parmi lesquels les flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et des chélateurs d'ions métalliques, ce qui leur confère des propriétés anti-oxydantes plus au moins importantes selon leur structure (Vertuani et al., 2004).

I.3.6.2.2. Les antioxydants liposolubles :

- **La vitamine E :**

La vitamine E ou α -tocophérol est la molécule la plus active son action antioxydante consiste en un piégeage des radicaux peroxydes $RO_2\cdot$ issus de la peroxydation lipidique grâce à la fonction hydroxyle du noyau chromanol et de l'ion superoxyde en produisant l'ion tocophéryl relativement stable, la vitamine E est régénéré par la vitamine C ou le glutathion (Vertuani et al., 2004 ; Anamaria, 2008).

- **Les caroténoïdes :**

Sont des longues molécules à caractère lipophile, ces composés naturels possèdent pour la plupart dans leur structures chimiques de très nombreuses doubles liaisons conjuguées, qui sont responsables de leur activités anti-oxydante certains caroténoïdes comme le B-carotène (précurseur de la vitamine A) et les lycopène, zéaxanthine et la lutéine amplifient la réponse immunitaire chez l'homme et agissent de manière spécifique et très efficace dans la suppression des tumeurs cellulaires, les caroténoïdes peuvent aussi interagir avec des radicaux lipidiques et inhiber ainsi la peroxydation lipidique (Pincemail et al., 1998 ; Anamaria, 2008).

- **Les huiles essentielles :**

Le rôle de ces essences comme antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; elles sont également utilisées comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Houbairi et al., 2015).

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols qui sont responsables de cette activité (Zhiri et Baudoux, 2005).

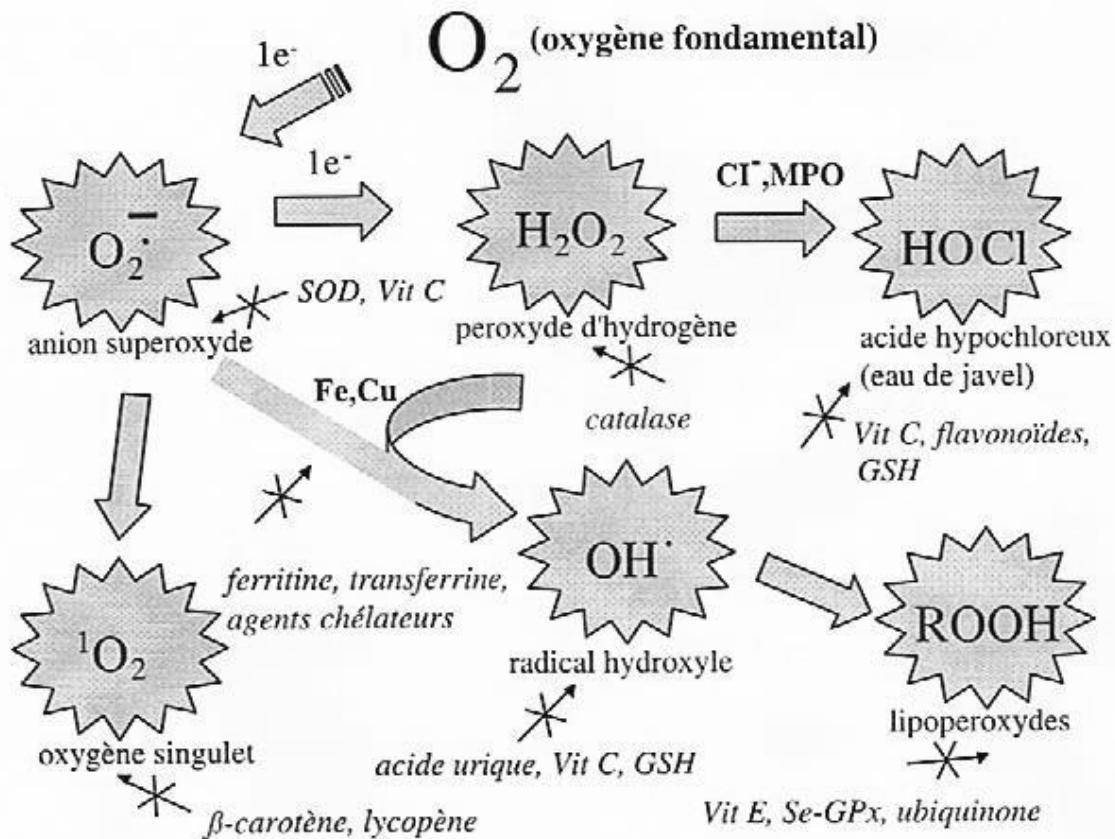


Figure 13 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les systèmes de défenses antioxydantes (Pincemail *et al.*, 2002)

I.3.7. Les marqueurs biologiques du stress oxydant :

Puisque le stress oxydant est impliqué dans le vieillissement et dans de nombreuses pathologies chez l'homme, on comprend tout l'intérêt qu'il y a de disposer de marqueurs spécifiques, sensibles, fiables et d'exécution analytique aisée (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003)

La mesure directe du stress oxydant est complexe, les ERO ont une durée de vie extrêmement brèves de l'ordre de la nanoseconde, cependant pour évaluer l'intensité du stress oxydatif d'un tissu, il existe des méthodes directe peu nombreuses qui dosent directement les radicaux libres et des méthodes indirectes qui mesure les marqueurs du stress oxydant qui résulte de l'effet des EOR sur différentes structures (lipide, protéine, acide nucléique)

L'atteinte lipidique est quantifier habituellement par les isoprostanes, hydroperoxyde et les aldéhydes, les carbonyles sont les produits résultant des altérations protéiques et parmi les nombreux métabolites identifiés à partir de l'oxydation de l'ADN la 8-hydroxy-

désoxyguanosine (8-OHdG) et le thymidine glycol sont révélés être des marqueurs intéressants (**Giammarioli *et al.*, 1999 ; Sivanandham, 2011**).

I.3.8. Implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer

Il a été montré de longue date que le stress oxydant est capable d'induire des modifications au niveau du patrimoine génétique d'une cellule, et qu'il peut participer ainsi aux différents processus d'initiation de la cancérogenèse (**Bothorel, 2011**)

La cancérogenèse est donc un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et, finalement, à un stade précoce de cancer. Le développement du cancer se divise en trois grandes étapes (initiation, promotion et progression) dans lesquelles le stress oxydatif est impliqué (**Pincemail *et al.*, 1999**)

L'oxygène actif peut être impliqué dans la carcinogenèse à travers deux mécanismes possibles: l'induction de mutations génétiques induisant des lésions cellulaires et effets sur la transduction du signal et facteurs de transcription. Quel mécanisme cela dépend de facteurs tels que le type d'espèces d'oxygène actif impliquées et l'intensité du stress (**Noda *et Wakasugi*, 2001**)

En effet, lorsque les radicaux libres en excès, non maîtrisés par des défenses antioxydantes insuffisantes, créent des mutations et des cassures des brins d'ADN en oxydant certaines bases, initiant ainsi la cancérogenèse. Mais leurs effets mettent en jeu des mécanismes plus complexes, en inhibant ou, au contraire, en stimulant l'expression de gènes impliqués dans la régulation, la prolifération ou la différenciation cellulaire ou encore de l'apoptose, ou mort cellulaire programmée, celle qui permet aux toutes premières cellules cancéreuses de s'autodétruire (**Gonzalez *et al.*, 2002**)

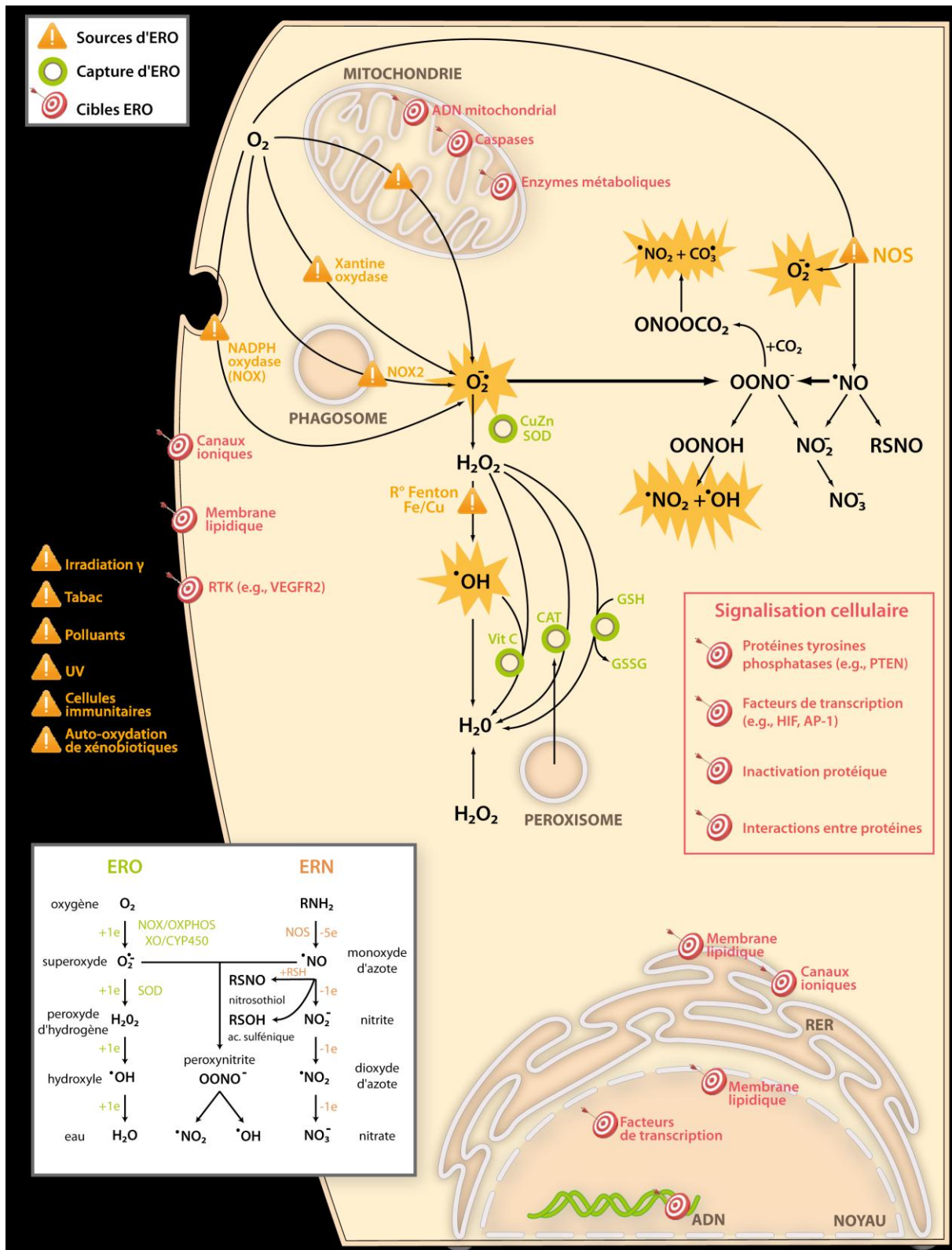


Figure 14 : La réactivité des espèces de l'oxygène et de l'azote et mécanismes de régulation des ERO/ERN et les cibles des ERO/ERN favorisant le développement des phénotypes tumoraux (Bothorel., 2011)

- Le développement et la croissance d'un tissu ou d'un organe sont conditionnés par des processus complexes permettant la régulation des différentes étapes de la vie d'une cellule : la prolifération, la différenciation, la sénescence et la mort cellulaire programmée. Tous ces phénomènes sont aussi mis en jeu lors du renouvellement des cellules dont la durée de vie est limitée. Au sein d'un tissu, l'équilibre entre ces processus est à l'origine de l'homéostasie tissulaire. Les anomalies de cette homéostasie, par augmentation de la prolifération et/ou diminution de la mort cellulaire, sont à l'origine de l'accumulation des cellules aboutissant à la formation d'une tumeur macroscopiquement visible (**Bothorel., 2011**).

I.4. Généralité sur le Cancer

I.4.1. Définition clinique :

Un cancer apparaît quand un tissu acquies les trois propriétés suivantes :

- **Propriétés de croissance** : la croissance n'atteint plus l'équilibre. Le nombre de cellules qui apparaissent est supérieur à celui des cellules qui disparaissent.
- **Propriété d'invasion** : le tissu envahit les tissus voisins en provoquant éventuellement des déficiences dans le fonctionnement de ces tissus.
- **Propriétés de faire des métastases** : le tissu est capable de donner naissance à des foyers secondaires ou métastases, celles-ci peuvent être localisées loin du foyer initial

Biologiste ajoute une quatrième propriété

- ❖ **Propriété de transplantabilité** : le tissu peut être transplanté indéfiniment et donne des cancers dans un organisme sans réaction immunitaire contre lui (**Hofnung, 1978 ; Moreau , 2006 ; Delehedde, 2006 ; Touitou, 2007 ; Hallouët, 2010 ; Shekofteh et al., 2017**).

I.4 .2. Situation actuelle :

Le cancer est une maladie en croissante évolution, il présente un véritable problème de santé publique et reste dans la plupart des cas incurable (**Wack, 2005**). Selon les estimations de l’OMS plus de 20 millions de personnes de part le monde sont atteintes de cette maladie dont 7,6 millions décèdent chaque année, soit environ 13 % du total des décès (**Hamdan, 2013 ; Clevers, 2011**).

En Algérie, le cancer est devenu aussi l’une des causes essentielles des décès, environ 30 000 nouveau cas de cancer sont diagnostiqués chaque année, avec une augmentation de plus de 50 % du nombre de cas depuis une décennie, les années à venir doivent être consacrées à une véritable politique de développement des soins et de prévention du cancer quel qu’en soit le type (**Hamdan, 2013**)

Les cancers qui, chaque année, entraînent le plus grand nombre de décès sont ceux du poumon, du sein, de l’estomac, du foie et du colon, les types de cancer les plus fréquents ne sont pas les mêmes chez l’homme et chez la femme (**Hamdan, 2013**).

I.4.3. Les causes du cancer :

S’agissant de facteurs susceptibles de favoriser la survenue d’un cancer, le tabagisme (30 %) et l’alimentation (dont l’alcool 35 %) sont responsables de plus de 2/3 des cancers mortels dans les pays industrialisés (**Vignaud, 2008 ; Hallouët, 2010**)

Parmi les causes les plus souvent attribuées au cancer, viennent ensuite des facteurs environnementaux comme la pollution de l’aire et de l’eau (4%) (**Gilbert et al., 2006 ; Hallouët, 2010**)

Le vieillissement est un autres facteur fondamental dans l’apparition du cancer, en effet, l’incidence du cancer augmente de façon spectaculaire avec l’âge, très semblablement à cause de l’accumulation des risques tout au long de la vie conjuguée au fait que les mécanismes de réparation cellulaire perdent généralement de leur efficacité avec l’âge (**Hamdan, 2013**)

Il existe également une prédisposition génétique au cancer. Certains cancers sont héréditaires : 30 % des cas des rétinoblastomes (**Touitou, 2007 ; Cohen et Jacquot, 2008**).

De nombreux autres facteurs sont également en cause, ils peuvent être regroupés en trois catégories : les carcinogènes chimiques, physiques et biologiques

1) Les carcinogènes chimiques :

- Les agents alkylants : Ce sont des cancérrogènes faibles mais de nombreux médicaments appartiennent à cette classe (chlorambucil, cyclophosphamide,...etc) **(Vignaud, 2008)**
- Les hydrocarbures polycycliques aromatiques : ils s'agit de puissants carcinogènes qui nécessitent une activation métabolique, présents dans les produits de combustion du tabac, des carburants fossiles (pétrole, charbon) et les produits de dégradation de graisses animales **(Vignaud,2008)**
- Les amines aromatiques, qui se retrouvent dans les colorants, l'industrie de caoutchouc, mais aussi la fumée de cigarette, les gaz d'échappement du diesel,...etc **(Moreau, 2006)**
- Les nitrosamines, nitrosamides et nitrosurées, contaminants universels de la nourriture, des boissons, des cosmétiques ...etc **(Moreau, 2006)**
- Autres agents cancérrogènes : l'amiante (mésothéliome), le chrome et le nickel (cancer du poumon), le chlorure de vinyle (angiosarcome hépatique) **(Touitou, 2007 ; vignaud, 2008).**

2) Les cancérrogènes physiques :

▪ Les rayons ultraviolets :

Des études épidémiologiques montrent une relation entre une augmentation de l'exposition à la lumière solaire et l'augmentation des cancers cutanés (épidermoïdes, basocellulaire et mélanomes) **(Touitou, 2007).**

Les UVB (280 à 320 nm) sont les principaux responsables des cancers cutanés. Leur pouvoir cancérigène est attribué à la formation de dimers de pyrimidine dans l'ADN **(Cohen et Jacquot, 2008)**

Les UVB peuvent provoquer des mutations des gènes ras et P53 au niveau des séquences dipyrimidines **(Vignaud, 2008)**

▪ Les radiations ionisantes :

Toutes les radiations sont cancérogènes y compris celle délivrées à visée thérapeutique, les lésions dues aux radiations sont la conséquence d'une chaîne de réactions biochimiques entraînées par l'absorption du photon. L'énergie du rayonnement est capable de rompre un certain nombre de liaisons chimiques, elles provoquent une radiolyse de l'eau, qui entraîne la production de radicaux libres.

Les cancers les plus fréquents sont les leucémies, les cancers de la thyroïde, les cancers du sein, du poumon et des glandes salivaires. Il y a en général une période de latence de 10 à 20 ans avant l'apparition du cancer (Moreau, 2006 ; Vignaud, 2008).

3) Cancérogènes biologiques :

Comme les infections dues à certains virus, bactérie ou parasites (Hamdan, 2013), elles sont une cause importante de cancer dans le monde, représentant environ 16% des cas, dix agents infectieux ont été classés carcinogènes avérés du groupe I. Quatre de ces agents (*Helicobacter pylori*, virus des hépatites B et C et certains papillomavirus humain) sont responsables de 95% des cas de cancers attribuables aux infections (Gisserot *et al.*, 2014).

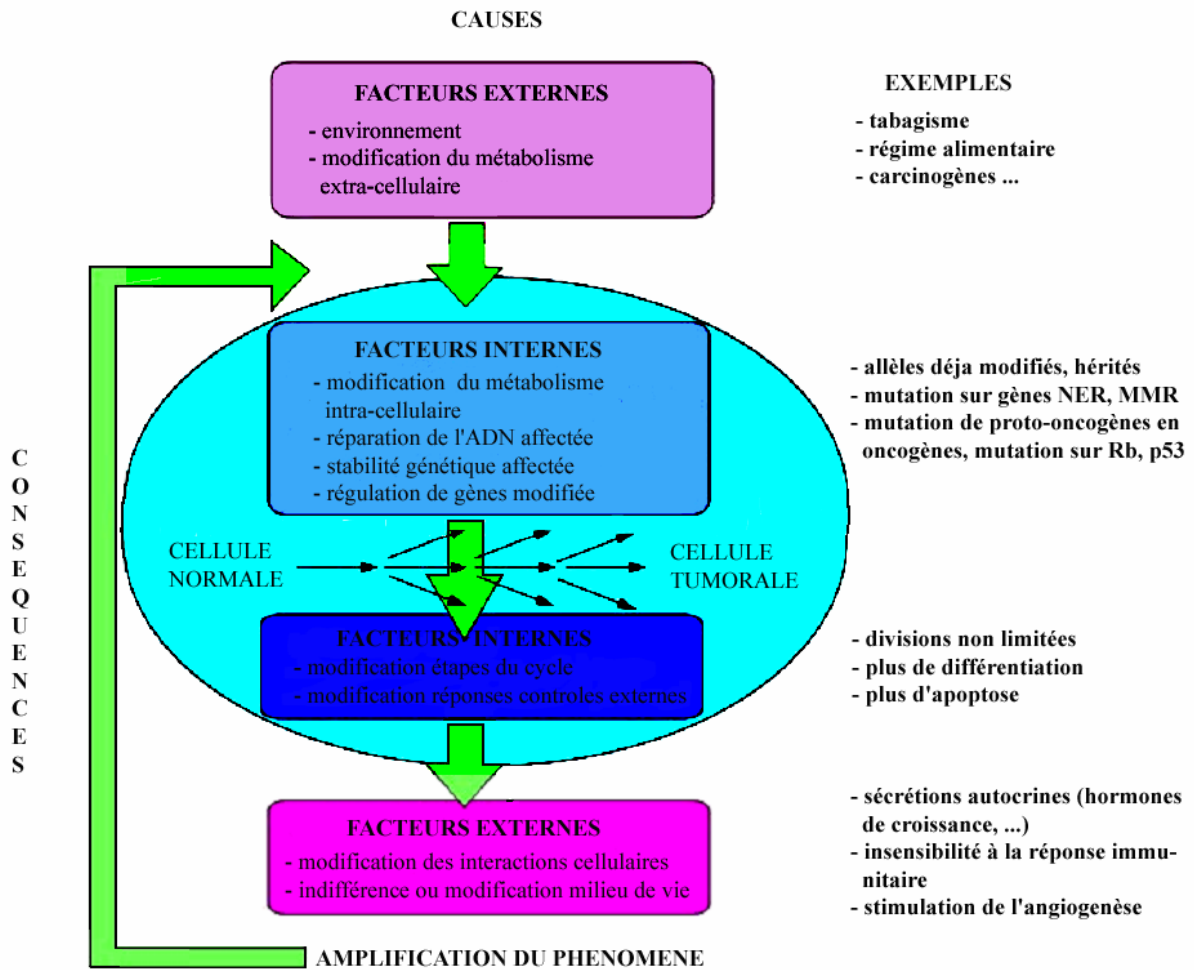


Figure 15 : Interactions entre les facteurs internes et externes dans le développement de tumeur (Wack, 2005)

I.4.4. La cellule cancéreuse : Vision globale

La cellule cancéreuse possède les caractéristiques phénotypiques suivantes :

- a) La perte de l'inhibition de contact
- b) Perte de la dépendance vis-à-vis de l'ancrage
- c) Indépendance par rapport aux facteurs de croissance
- d) Immortalité
- e) Tumorigénécité (Vignaud, 2008)

I.4.4 .1.Caractères généraux de la cellule cancéreuse :**❖ Caractères résiduels :**

La cellule garde un certain degré de différenciation caractéristique du tissu original (Baillet, 2003)

❖ Caractères morphologiques acquis

-Anomalies du noyau : volumineux, multiples, nucléoles visibles, hyperploïdie

-Anomalies de la taille des cellules : hétérogènes

-Anomalies cytoplasmiques : augmentation du rapport cyto-nucléaire

-Anomalies de la membrane cytoplasmique : perte de l'inhibition de contact, modification de l'adhésivité, modification des antigènes de surface (Baillet, 2003)

❖ Caractères dynamiques acquis

-Taux élevé, autonome, anarchique et indéfini de mitoses

-Mort cellulaire par hypoxie

❖ Anomalies biochimiques :

-Moindre différenciation (diminution des activités de synthèse, de sécrétion, d'excrétion)

-Synthèse de substances en quantité et qualité anormales : immunoglobulines

-Trouble de l'induction enzymatique (Baillet, 2003)

I.4.5.Anomalie génétiques et cancer :

Le point de départ du processus de cancérisation est l'altération du matériel génétique d'une cellule. Toutes les mutations ne sont pas susceptibles d'entraîner la formation d'un cancer (Wack, 2005)

I.4.5.1. La carcinogenèse :

Est un processus à multi-étapes décrit tout les mécanismes et les facteurs impliqués dans la transformation de la cellule. Plusieurs types d'inducteurs et de nombreuses étapes sont en cause dans la cancérisation d'une cellule saine (**Laurent-puig, 2003 ; Wack, 2005 ; Moreau, 2006**)

- **Les gènes impliqués dans la carcinogenèse :**

Il existe très schématiquement deux types de gènes qui régulent la prolifération cellulaire ceux qui la stimulent (**les proto-oncogènes**) et ceux qui l'inhibent (**les gènes suppresseurs de tumeurs**). Ces deux voies sont également impliquées dans la prolifération cellulaire incontrôlée qui caractérise le cancer (**Laurent-puig, 2003**)

- **Transformation de la cellule normale en cellule cancéreuse :**

-il faut la combinaison d'au moins deux situations pour arriver à générer une cellule cancéreuse

1- la première consistera à l'apparition d'un nombre suffisant d'anomalies chromosomiques dans le noyau de la cellule pour la transformer en cellule cancéreuse. Ces anomalies proviennent de gènes mutés appelés <<oncogènes>>

2- les mécanismes normaux de régulation de la cellule et de l'organisme soient perturbés il faut donc que les gènes suppresseurs de tumeur dont le plus connu est le P53 soient inhibés

Ainsi Pour que naisse la première cellule cancéreuse, il faut à la fois :

- Les oncogènes soient activés par des substances cancérogènes
- Les gènes suppresseurs de cancer soient inhibés empêchant leur action qui consiste à réparer ou à détruire toutes cellules anormales

Ensuite, la cellule cancéreuse est capable de se diviser mais aussi de transmettre ces aberrations chromosomiques à toute sa descendance (**Bodin, 2007 ; Wack, 2005**)

I.4.6. Les ERO et l'établissement du cancer (stade de développement tumoral) :

Nous savons aujourd'hui que les agents mutagènes peuvent être d'origine endogène ou exogène, les principaux agents endogènes sont les espèces actives de l'oxygène formées dans la cellule lors de la combustion de l'oxygène, en effet les radicaux libres oxydatifs créent

chaque jours environ 10 000 lésions de l'ADN dans chacune des 6×10^{13} cellules de l'organisme (**Tubiana, 2009**)

Le développement du cancer se divise en trois grande étapes (initiation, promotion et progression) dans lesquelles le stress oxydatif est impliquée (**Hamdan, 2013**).

1-L'initiation : première étape vers la cellule cancéreuse

L'initiation est le résultat d'une exposition des cellules à un agent dit initiateur, qui est responsable d'altération irréversible de l'ADN et sera transmise aux cellules filles (**Moreau, 2006 ; Vignaud, 2008**). En effet, l'oxygène est un agents très dangereux car si environ 95% de l'O₂ est utilisé pour fabriquer du CO₂, 5% forment des radicaux oxydatifs puissants susceptible de léser toute les molécules présente dans une cellule, notamment l'ADN (**Hamdan, 2013**)

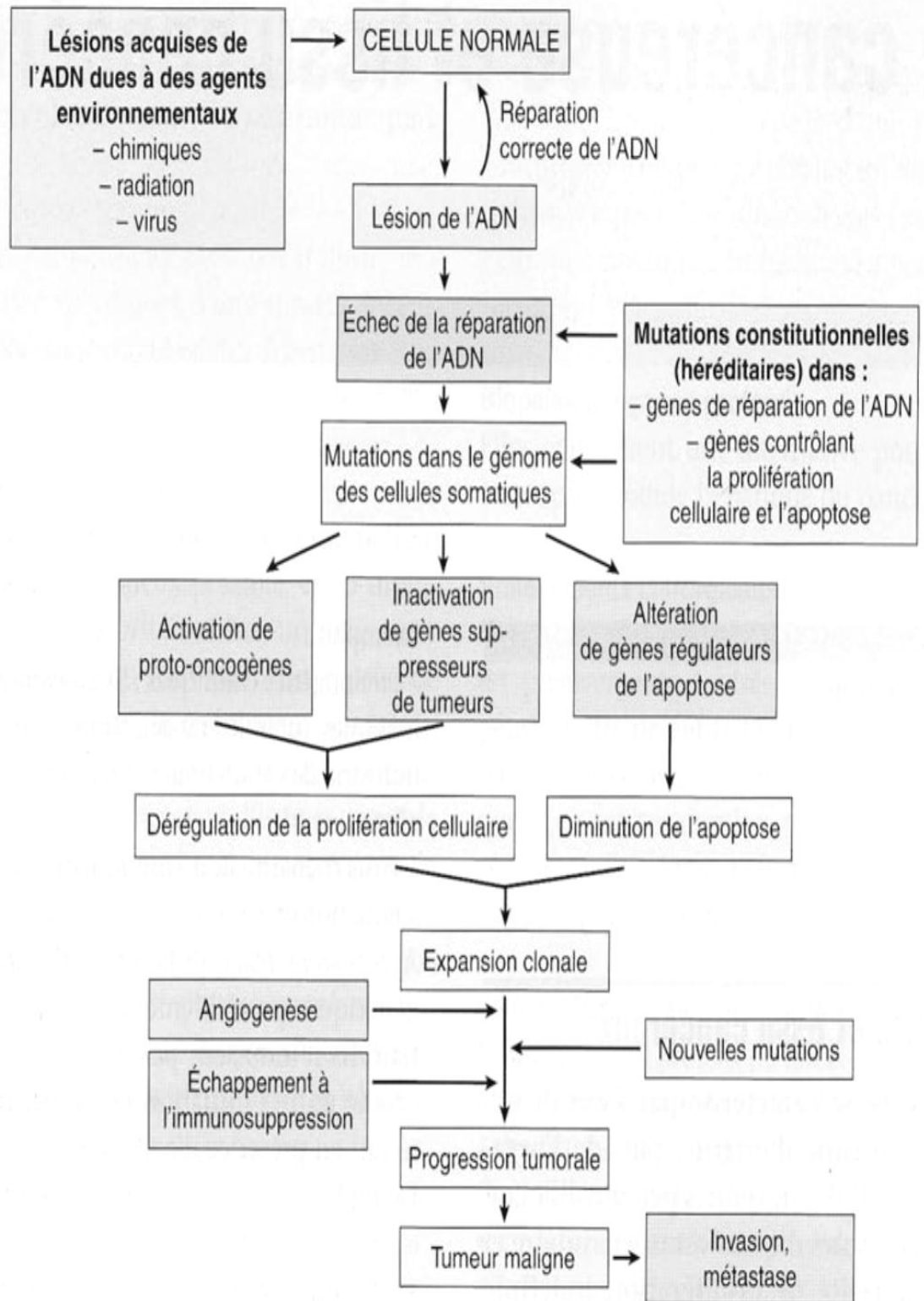
L'initiation peut être aussi causé par un phénomène épigénétique, notamment la méthylation (fixation d'un groupe méthyle sur une cytosine) qui peu rendre un gène silencieux, l'initiation soit due à une mutation ou un effet épigénétique elle confère à la cellule la capacité de se multiplier de façon autonome qui peut rester très longtemps non apparente elle ne s'exprime que quand d'autres lésions sont apparues dans la cellule initiée au cour de la seconde étape (**Tubiana, 2009**). Cependant l'initiation est insuffisante, à elle seul, pour induire une tumeur, la tumeur ne se développera que si l'initiation est suivi de l'exposition à un agent promoteur (**Moreau, 2006 ; Vignaud, 2008**).

2- La promotion :

Les promoteurs peuvent induire des tumeurs à partir de cellule initiée, mais ne sont pas des cancérogènes en eux même, leur action serait réversible (**Vignaud, 2008**). La promotion est un processus pouvant se prolonger pendant plusieurs décades au cours desquelles la cellule initiée se transforme en cellule pré-néoplasique ce processus peut se produire spontanément ou être induit par un promoteur tumorale comme les lipides alimentaires, les hormones même une inflammation , l'alcool, les corps étrangers (amiante),l'infection, les médicament et les sels biliaires...etc (**Hamdan, 2013**) Ces promoteurs favorisent la survenus de mutations additionnelles en induisant une prolifération cellulaire (**Vignaud, 2008**), ces facteurs vont permettre le maintien du caractère immortel de la cellule lors de sa multiplication , les cellules pré-néoplasiques ont une apparence externe modifiée perdent leur fonction originale et se différencient en adoptant de nouvelles propriétés (**Hamdan, 2013**)

3- la progression :

Au cours de la quelles les cellules pré-néoplasiques évoluent en cellules néoplasiques ou cancéreuses, une fois formées, les tumeurs malignes constituées d'un nombre considérable de cellule peuvent envahir les tissus avoisinants ou essaimer vers d'autres organes et former des tumeurs secondaire appelées << métastases >> **(Hamdan, 2013)**



1. Bases moléculaires de la cancérogénèse.

Figure 16 : Schéma illustrant les évènements cellulaires responsable du cancer (Vignaud, 2008)

I. 4.7. Traitement anticancéreux actuels :

On distingue essentiellement quatre grands types de traitements contre le cancer : La chirurgie, la chimiothérapie, la radiothérapie et l'hormonothérapie.

Tous ces traitements visent soit à détruire les cellules cancéreuses soit à freiner leur développement et leur prolifération dans l'organisme. La chirurgie et la radiothérapie sont des traitements dits locaux, la chimiothérapie et l'hormonothérapie des traitements dits généraux (**Buxeraud, 2008 ; Buxeraud *et al.*, 2014**)

L'immunothérapie et la thérapie génique représentent deux autres nouvelles approches anti-tumorales prometteuses (**Buecher *et Blottiere*, 2004**)

❖ Principe de la chimiothérapie anti-tumorale

La chimiothérapie anticancéreuse vise à détruire les cellules en division, mais en agissant sur leur différence de vitesse de croissance : elle touche aussi les cellules saines, d'où l'apparition des effets secondaires (**Cohen *et Jacquot*, 2008 ; Alexandre *et al.*, 2009 ; Hallouët, 2010 ; Faure, 2010**)

- **Cible biologique :**

La découverte des agents anti-cancéreux a le plus souvent été fortuite. C'est le cas des premiers agents mis en évidence comme la moutarde azotée ou l'actinomycine D (lors de la recherche sur les antibiotiques) à l'inverse d'autres médicaments ont fait l'objet d'une recherche plus rationnelle tel que : Le 5-fluore-Uracil à été conçu pour « piéger » l'une des enzymes clés de la synthèse de l'ADN (la thymidylate synthétase) (**Baillet, 2003**).

La classification des agents anticancéreux est basée sur leur mécanisme d'action sur le cycle cellulaire et leur appartenance à des familles chimiques (**Cohen *et Jacquot*, 2008 ; Faure, 2010**).

Les agents anticancéreux entrent dans la composition des médicaments altérant l'ADN (**Faure, 2010**).

La plupart des agents anti-cancéreux inhibent des enzymes nécessaires à la synthèse de l'ADN, exerçant leur activité maximale durant la phase S. C'est le cas des anti-métabolites, mais également des anthracyclines (agents intercalants), les poisons du fuseau bloquent la

cellule en phase M, les agents alkylants (moutardes à l'azote comme le cyclophosphamide), le cisplatine, la bléomycine (agents scindants) agissent durant l'ensemble des phases du cycle **(Touitou, 2007 ; Cohen et Jacquot, 2008 ; Faure, 2010 ; Buxeraud et al., 2014)** .

Les agents cycle-dépendant sont des molécules qui interagissent de façon covalente avec l'ADN agissent dans le cycle cellulaire indépendamment de la phase. On y trouve les agents alcoylants et les antibiotiques qui agissent sur l'ADN déjà formé **(Baillet, 2003)**

Les médicaments phase dépendant agissent pendant une phase du cycle. Les cellules qui ne sont pas dans la phase sensible survivent à l'administration de l'anticancéreux c'est le cas des antimétabolites **(Cohen et Jacquot, 2008)**

- **Mécanismes d'action :**

L'ensemble des constituants cellulaires peuvent être la cible des cytotoxiques :

-L'ADN est la principale cible, avec la création de ponts inter ou intra-brins sur la double hélice

-Les protéines du cytoplasme, notamment la tubuline peuvent être endommagées par les cytotoxiques, ce qui est à l'origine de la perturbation de la structure de la cellule et des échanges énergétiques intracellulaires

-les mitochondries, les protéines membranaires sont également des cibles de cytotoxiques **(Baillet, 2003 ; Hallouët, 2010)**

I.4.8. Les modèles cellulaires utilisés

- **Définitions d'une lignée cellulaire :**

Est un groupe de cellules stables qui proviennent de la même cellule et qui ont une capacité illimitée de se diviser. La cellule utilisée est soit une cellule cancéreuse (exemple: HeLa) ou la cellule est rendue cancéreuse par une mutation génétique **(Wicky., 2014)**

I.4.8.1. La lignée Hela

I.4.8.1.1. Origine :

Henrietta Lacks, nom de code HeLa. Les cellules HeLa forment la première lignée cellulaire immortelle d'origine humaine, utilisée en biologie cellulaire et en recherche médicale. Ces cellules proviennent d'un prélèvement de métastase effectué sur une patiente Afro Américaine atteinte d'un cancer du col de l'utérus et décédée en 1951, Henrietta Lacks. Ses cellules sont d'un usage extrêmement courant dans les laboratoires de recherche de biologie (**Gilgenkrantz., 2011 ; Faussadier., 2017**)

I.4.8.1.2. Caractéristique :

Ces cellules présentent la particularité de se diviser indéfiniment, elles sont immortelles, Elles n'ont pas de système de régulation, ce qui fait qu'elles ne peuvent que proliférer (dans des conditions de culture en laboratoire). Les chercheurs de l'université de Washington expliquent ce phénomène inhabituel par le fait que le gène cancérigène du virus ayant touché Henrietta a rencontré un gène oncogène préexistant dans son organisme, et que l'association de ces deux gènes a « potentialisé leurs effets ». Dans l'organisme d'Henrietta se trouvait une enzyme qui, quand elle est absente, empêche les cellules de se diviser (**Lucey et al., 2009 ; Faussadier., 2017**)

Elle a un rôle essentiel dans la mise au point par Jonas Salk du vaccin contre la polyomyélite dans les années 1950, au décryptage des tumeurs et des virus, à la mesure des effets de la bombe atomique, et à des avancées telles que la fécondation in vitro, le clonage ou la thérapie génique (**Skloot., 2011 ; Jordan., 2013**)

I.4.8.2. La lignée C6 :

1.4.8.2.1. Origine :

C'est une lignée cellulaire tumoral neural dérive de cellules gliales, les cellules C6 dérivent clonalement d'une tumeur de rat qui a été induite chimiquement par le méthyle nitrosourée. nous avons injecté des cellules tumorales C6 directement dans le cerveau de celui-ci Pour induire des tumeurs cérébrales chez le rat (glioblastome du rat) , Les cellules C6 ont un comportement s'approchant de celui du glioblastome chez l'homme. C'est la tumeur la plus agressive du système nerveux central. Ces tumeurs sont très complexes de par leur

hétérogénéité. La plupart du temps, elles sont localisées dans la matière blanche. 30 % des glioblastomes se développent dans les lobes temporaux ou frontaux (**Lonjon et al., 2001 ; Paschaki, 2005 ; Leh, 2011**).

1.4.8.2.2. Caractéristique :

Ces cellules sont classées dans la catégorie des glioblastomes-astrocytomes d'après leur aspect phénotypique proche de celui des fibroblastes, elles expriment également une protéine que l'on trouve principalement dans les astrocytes, la protéine S100b (**Paschaki., 2005**).

Les mutations et surexpressions génétiques observées dans ces cellules se rapprochent de celles des tumeurs humaines (**Sibenaller et al., 2005**). Un inconvénient de ces tumeurs concerne la réponse immunitaire qu'elles engendrent (**Barthand Kaur, 2009**). Certains rats peuvent donc guérir ou ne développeront pas de tumeur. Les tumeurs C6 se caractérisent par un foyer nécrosé entouré de nécroses palissadiques (**Barthand Kaur, 2009**), ce qui leur donne également des caractéristiques proches de celles du glioblastome humain (**Leh, 2011**).

Etudes expérimentales

Matériels et méthodes

Plan de travail

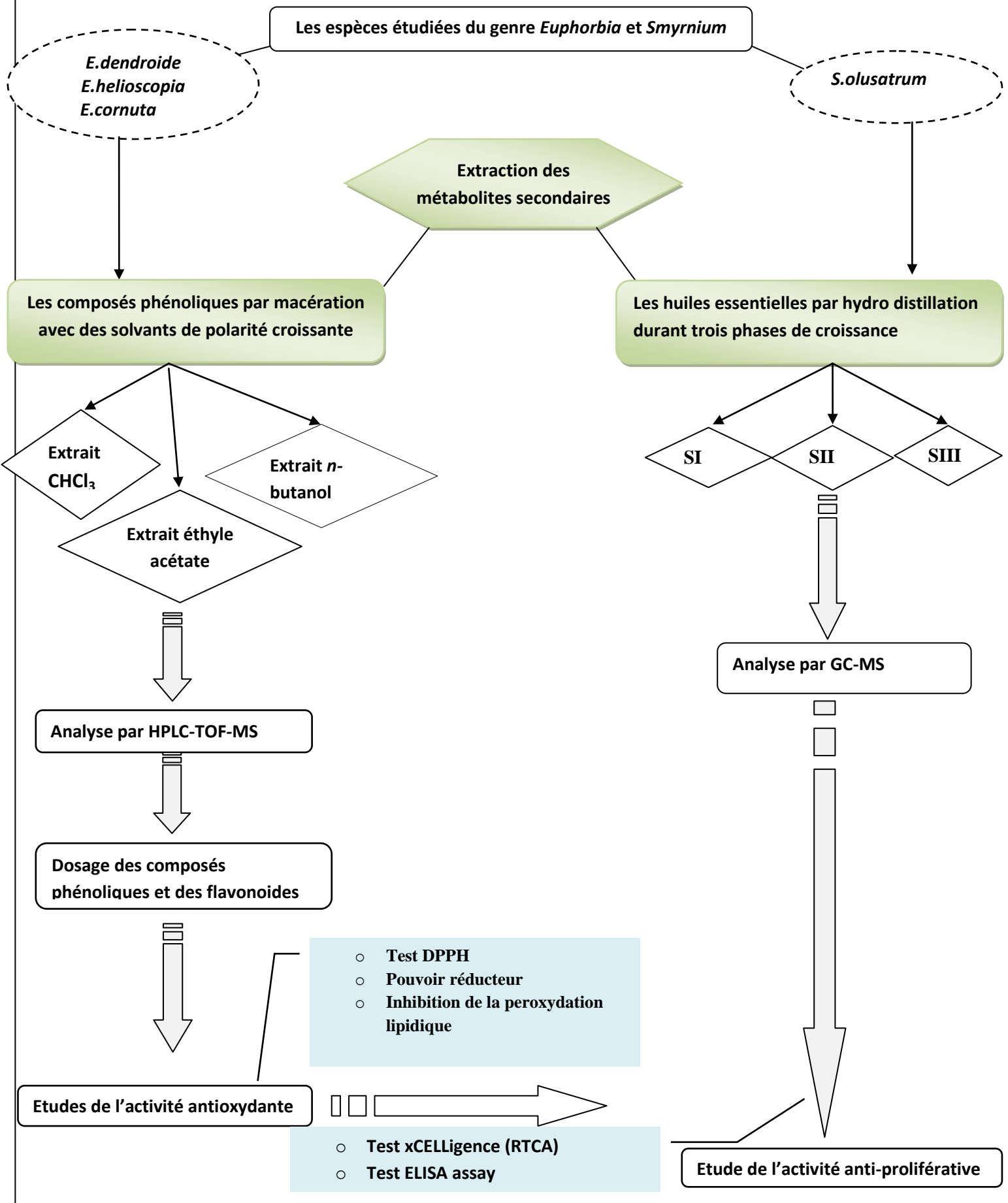


Figure 17 : Plans de travail

II. Matériels et méthodes :

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel Végétal :

La partie aérienne de trois espèces d'euphorbiacées et l'espèce *S. olustarum* L. de la famille des Apiacées ont servi comme matériel végétal pour notre étude. Nos échantillons ont été récoltés dans trois régions différentes (Bejaia, El oued souf et Constantine) durant la période de fructification et de floraison pour les Euphorbiacées et durant trois stades végétatifs pour *S. olustarum* L. (avant la floraison, pleine floraison, et à la fructification) dans la région de Constantine en Décembre, Février et Mai 2015. L'identification est effectuée au laboratoire de biomolécule végétales et amélioration des plantes à l'université Larbi Ben M'hidi d'Oum El bouaghi.

Les plantes sont identifiées par le Dr Rebbas K. pour *E. dendroides* L. et le Dr Halis Y. (*E. cornuta* Pers.) et par le Dr. Zellagui A. (*S. olustarum* L. et *E. helioscopia* L.)

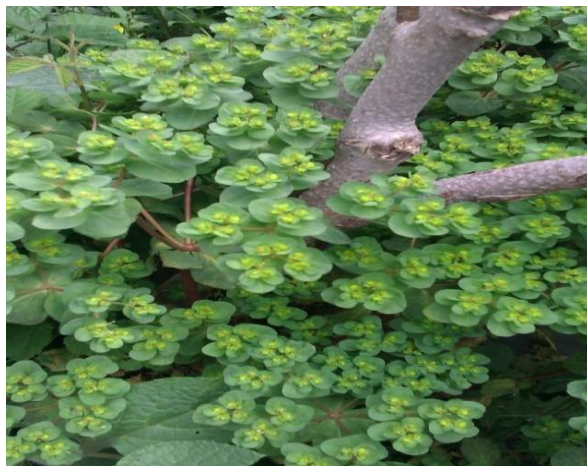


Figure 18: Photographie de *E. helioscopia* L. prise sur le terrain (Avril, 2013) à Gouraya (Bejaia)



Figure 19 : Photographie de *E. dendroides* L. prise sur le terrain (Avril, 2013) à Cap Carbon (Bejaia).



Figure 20 : Photographie de *E. cornuta Pers.* prise sur le terrain (juin, 2012) à El Oued Souf



Figure 21 : Photographie de *S. olusatrum L.* prise sur le terrain (Mars, 2015) à Constantine.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de la poudre végétale

Les échantillons d'Euphorbia et smyrnium sont séchés à l'ombre à l'abri de la lumière, ensuite réduit en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique.

II.2.2. Extraction des composés phénoliques par macération à partir de trois espèces du genre *Euphorbia*:

L'extraction des composés phénoliques de *E. cornuta Pers.*, *dendroides L.* et *helioscopia L.* est réalisée selon le protocole décrit par Wang *et al*, 2012 La **Figure 21** résume les différentes étapes de l'extraction

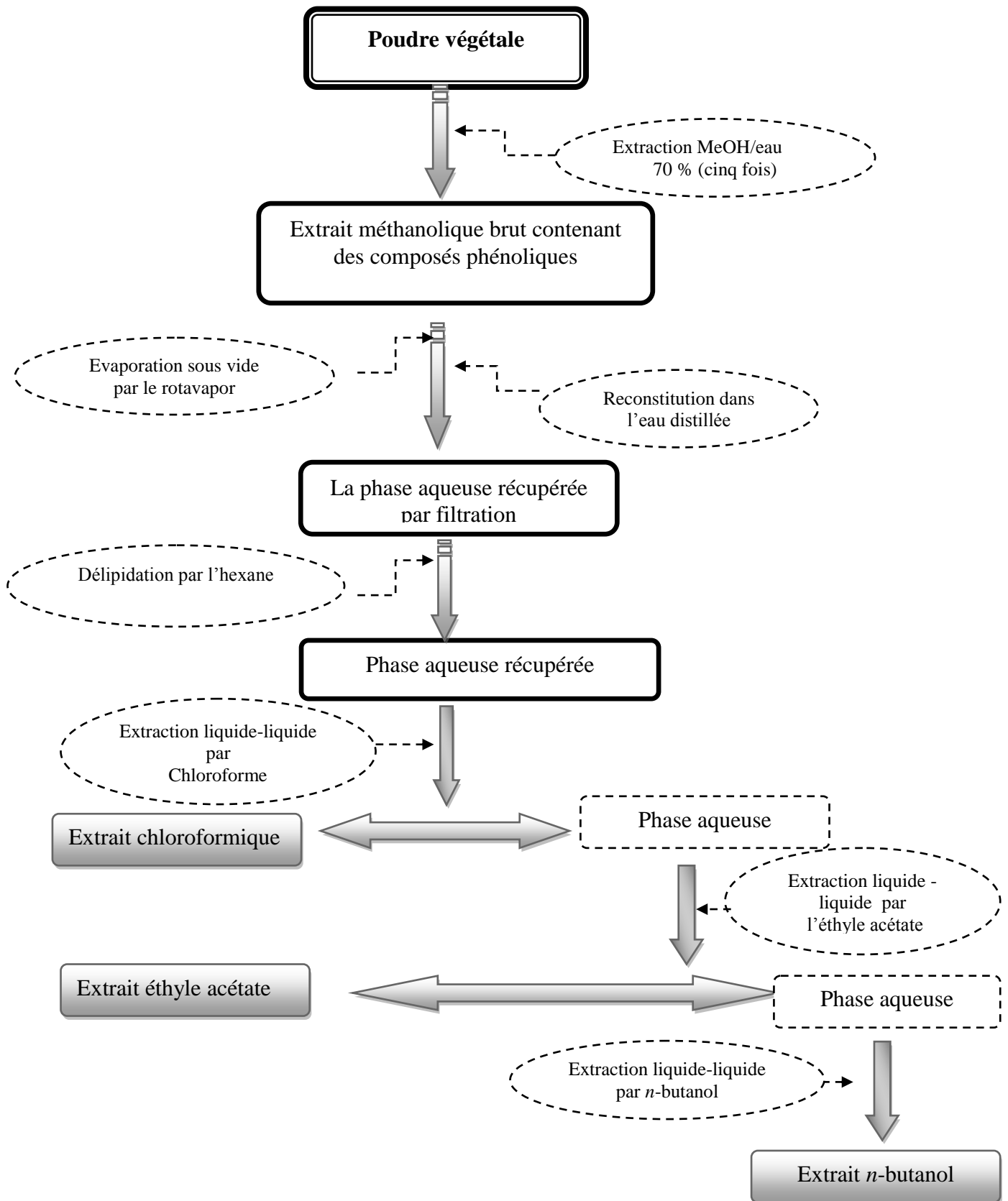


Figure 22 : Schéma du protocole d'extraction des différents extraits Des trois espèces d'Euphorbiacées (Wang *et al*, 2012)

II.2.3. Analyse des composés phénoliques par HPLC-TOF-MS :

Le contenu en composés phénolique des l'extraits a été déterminé à l'aide de Agilent technologie 1260 Infinity. Système HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie, États-Unis) et 6210 Time of Flight (TOF) Détecteur LC / MS (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie, États-Unis) et ZORBAXSB-C18 (4,6100mm, 3,5 m) colonne (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie, États-Unis). Les phases mobiles A et B étaient ultra-pures eau avec 0,1%, l'acide formique et l'acétonitrile, respectivement. Le débit de la colonne était de 0,6 mL/ min. La température était de 35 ° C. Le volume d'injection était de 10 L. Le taux de solvant était de 0 à 1 minute, 10% de B, 1 à 20 minutes. 50% de B, 20 à 23 min 80% de B, 23 à 25 min 10% de B et 25 à 30 min 10% de B. la détermination des composés a été réalisée par comparaison des composés standard avec les échantillons en termes de temps de rétention et valeurs m / z. Le mode d'ionisation de l'instrument HPLC-TOF/MS était négatif et fonctionnant à une température d'azote de 325 C, un débit d'azote de 10,0 L/min, un nébuliseur de 40 Psi, tension capillaire de 4000 V et, enfin, tension de fragmentation de 175V. Pour l'analyse des extraits bruts secs (200 ppm) ont été dissous dans du méthanol à la température ambiante. Les échantillons ont été filtrés à travers un filtre en PTFE (0,45 m) par un injecteur pour éliminer les particules.

II.2.4. Extraction des huiles essentielles de *Smyrniium olusatrum L.*

150 g de la poudre de la partie aérienne de *S. olusatrum L.* récoltés durant trois phases de croissances sont hydrodistillés durant 3 h, après calcul des rendements les huiles essentielles de couleur et d'odeur agréable sont conservées à + 4°C jusqu'à leur analyse par GC-MS.

II.2.5. Analyse des huiles essentielles par GC-MS :

Après l'extraction des l'huiles essentielles de la partie aérienne de *S. olusatrum L.* par hydrodistillation, la composition de l'huile essentielle a été analysée par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (GC / MS) Des méthodes officielles ont été utilisées pour déterminer la partie volatile de la chromatographie sur colonne par GC-MS sur un Perkin Elmer Clarus 500 équipé d'une colonne capillaire BPX 20 (0,25 µm ID 30 m X 250 µm), rempli de 5% de Phénylpolysilphénylène-siloxane, à une ionisation Tension de 70 eV. L'hélium est le gaz

porteur (1 ml min⁻¹). Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 100 ° C pendant 5 min, puis progressivement augmentées à 250 ° C à une vitesse de 5 ° C / min et maintenues pendant 15 min. Des échantillons dilués (1/100, v / v, dans le n-pentane) de 1,0 µl ont été injectés. Les hydrocarbures ont été identifiés en utilisant la formule moléculaire et les fragmentations.

II.3. Taux d'extraction des composés phénoliques

L'extrait des composés phénoliques (**ECP**), est préalablement filtré dans une capsule tarée (de masse **M**) ; après évaporation totale des solvants la capsule est pesée de nouveau (de masse **M'**). La masse des composés phénoliques (**MCP**) est déterminée par la formule suivante :

$$\mathbf{MCP = M' - M}$$

Le pourcentage des composés phénoliques (**PC**) est calculé comme suit :

$$\mathbf{PC = 100\% \times \frac{MC}{PE'}}$$

PE' : masse de la prise d'essai (g) pour les composés phénoliques.

II.4. Dosage des substances actives :

II.4.1. Dosage des composés phénoliques :

- **Principe :**

Le réactif de Folin Ciocalteu, mélange des acides phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phospho-molybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribèreau- Gayon, 1968, Tanguy, 1971**).

- **Mode opératoire :**

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de **Singleton et Rossi (1965)** in **Sousek *et al.* (1999)** (Figure 22).

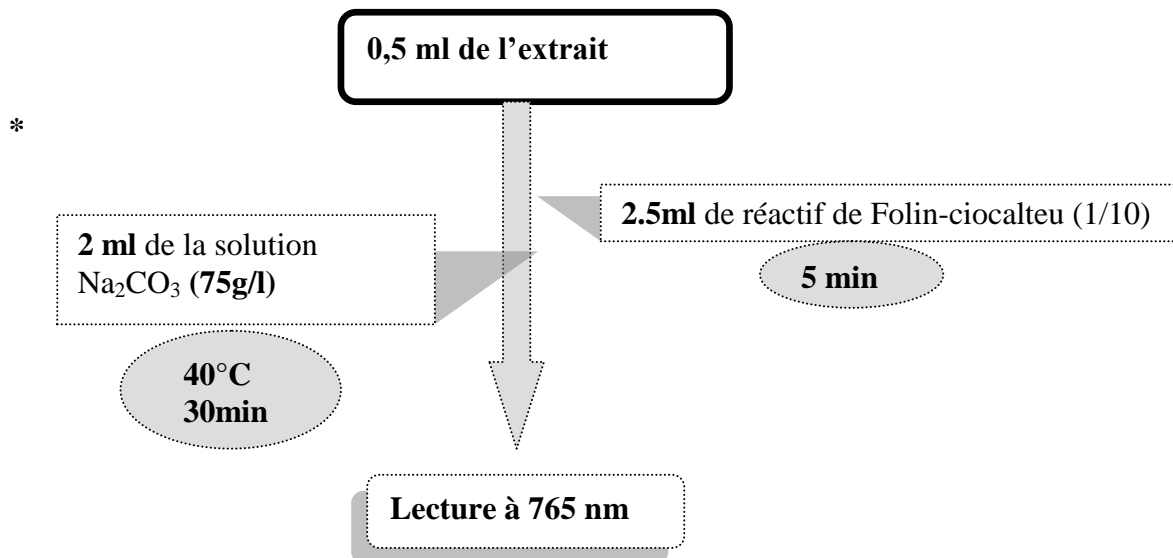


Figure 23: Protocole de dosage des composés phénoliques (**Sousek *et al.*, 1999**).

- ❖ Le blanc est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par le solvant.
- ❖ La concentration des composés phénoliques dans les différents extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'**acide gallique** comme standard, les résultats sont exprimés en $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait.

II.4.2. Dosage des flavonoïdes :

L'estimation quantitative des flavonoïdes (**Figure 23**) présents dans l'extrait de notre plante est réalisée selon la méthode colorimétrique de **Simirgiotis *et al.*, 2013**.

- **Principe**

Le principe est basé sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium qui a un maximum d'absorbance à 430 nm.

- **Mode opératoire :**

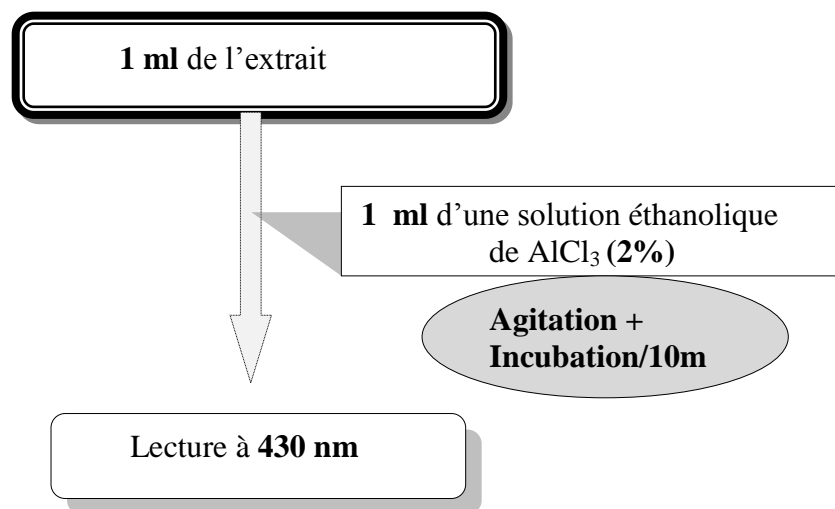


Figure 24 : Protocole de dosage des flavonoïdes (Simirgiotis *et al.*, 2013).

- ❖ Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.
- ❖ La concentration des flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant **la quercétine** comme standard, les résultats sont exprimés en $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

II.5. Détermination de l'activité antioxydant :

II.5.1. Activité scavenging du radical DPPH :

- ❖ **Principe :**

L'effet « scavenger » de nos extraits vis-à-vis du radical DPPH est mesuré selon la méthode de **Zellagui *et al.*, 2012**)^a. C'est une méthode colorimétrique basée sur la capacité des substances dites antioxydants à donner un électron au radical synthétique DPPH. Cette réduction se traduit par le changement de la couleur violette de la solution éthanolique de DPPH vers une coloration jaunâtre (**Molyneux, 2004**).

La méthode DPPH considéré comme simple, rapide et une méthode convenable indépendante de la polarité de l'échantillon pour l'évaluation de l'activité scavenger de

beaucoup d'échantillon (**Koleva et al., 2001**), Le DPPH est un des radicaux synthétiques les plus utilisés pour évalué les propriétés anti-radicalaires des composés bioactives, (**Locatelli et al., 2010**),



Diphenylpicrylhydrazyl + **Antioxydant-OH** → Diphenylpicrylhydrazine + **Antioxydant-O**.
 (Couleur violet) (Couleur jaune)

Figure 25 : Réduction du radical DPPH en présence d'un antioxydant

Le mode opératoire est résumé sur la figure 24 :

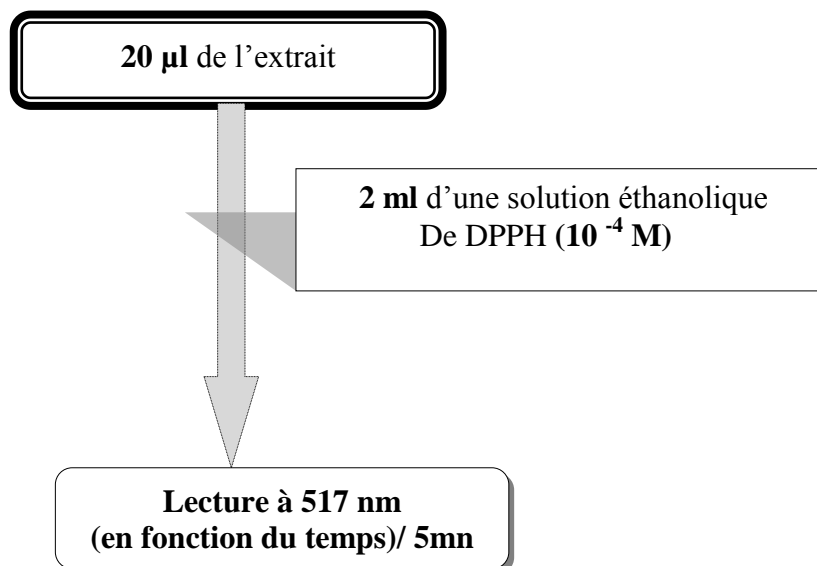


Figure 26 : Le protocole d'étude de l'activité scavenging du DPPH (**Zellagui et al., 2012**)^a

- Le **blanc** est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.
- Le pourcentage **scavenging** est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ scavenging du radical DPPH} = (A_b - A_e / A_b) \times 100$$

- A_b : absorbance du blanc
- A_e : absorbance en présence de chaque concentration d'extrait.

II.5.2. Mesure du pouvoir réducteur :

❖ Principe :

Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode de **Oyaizu et al. (1986)** in **Amaroweiz et al. (2004)**. Ce test est basé sur la capacité de l'antioxydant présent dans l'extrait à réduire le fer ferrique Fe^{+++} ($FeCl_3$) en fer ferreux Fe^{++} ($FeCl_2$) en présence d'un agent chromogène le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (**Pin-Der-Duk, 1998**). L'intensité du complexe de couleur bleu, avec un maximum d'absorbance à **700nm**, est proportionnelle à la concentration en antioxydant. Le mode opératoire est résumé sur la **Figure 25**

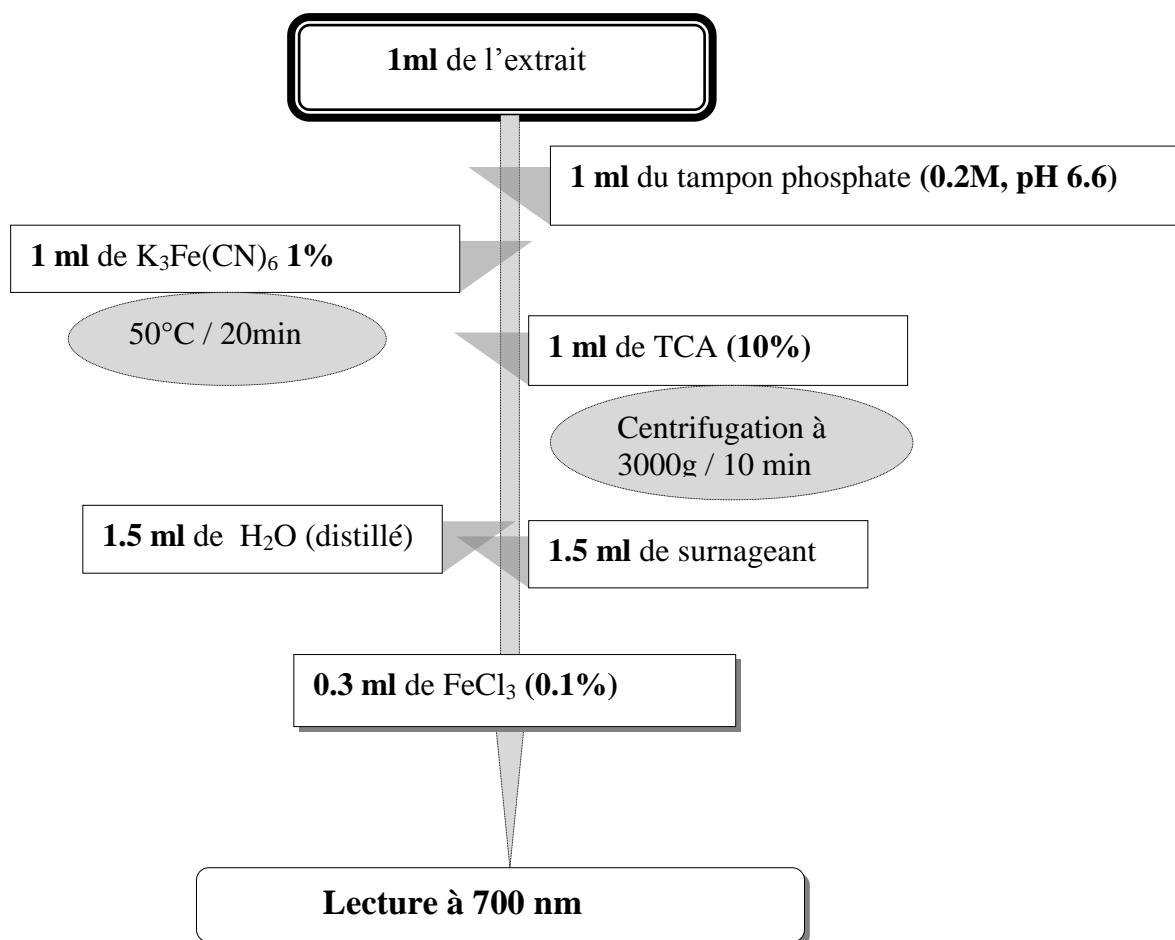


Figure 27 : Détermination du pouvoir réducteur (Oyaizu et al., 1986).

- Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant.

II.5.3. Inhibition de la peroxydation lipidique de l'acide linoléique :

❖ Principe :

La peroxydation lipidique est une mesure des dommages des lipides membranaires causés par l'attaque des espèces oxygénées réactives, génèrent de nombreux produits de dégradation le MDA l'un de ces produit a été étudié largement comme indice de la peroxydation lipidique et un marqueur du stress oxydatif (**Janero, 1990**).

Cette méthode a été choisie pour la mesure de la peroxydation lipidique selon le protocole de (**Choi et al., 2002**). L'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique dans un système d'oxydation catalysé par l'ascorbate de Fe. Les analyses d'anti-peroxydation des différents extraits ont été réalisées à l'aide d'une méthode d'acide thiobarbiturique (TBA) basée sur l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique selon une méthode légèrement modifiée

Le pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique a été défini comme suit: dans l'équation suivante:

Activité d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique :

$$(\%) = \frac{[(A_0 - A_1)]}{A_0} \times 100$$

Où

A₀ : est la réaction d'absorbance de contrôle (contenant tous les réactifs sauf l'échantillon)

A₁ : est l'absorbance de l'extrait d'échantillon ou standard.

Le mode opératoire est résumé sur la figure 27 :

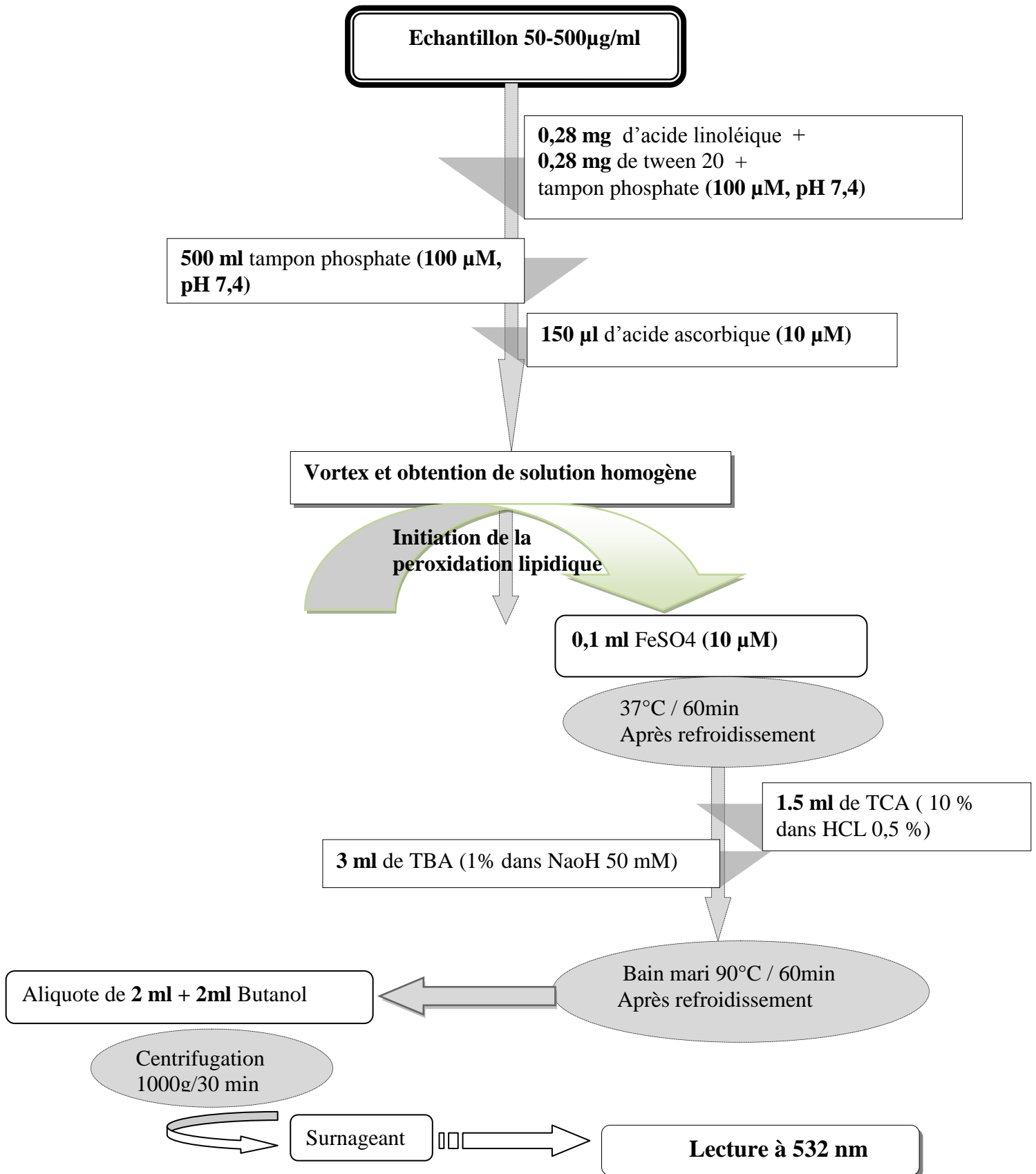


Figure 28 : Mesure de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique (Choi *et al.*, 2002).

II.6. Evaluation du potentiel anti-prolifératif :

L'activité anti-proliférative des extraits a été évaluée sur les lignées cellulaires : la lignée HeLa en utilisant le test xCELLigence et la lignée C₆ (rat brain tumor) en utilisant le test de prolifération *BrdU ELISA assay*.

▪ Culture cellulaire :

Les cellules ont été cultivées dans le milieu (Dulbecco's modified Eagle's medium) (BMEM, sigma), supplémentées avec : sérum de veau fœtal 10 % (v/v) (sigma, Allemagne) et une solution penStrep (sigma, Allemagne), incubées à 37 °C sous 5 % de CO₂.

▪ Détermination de l'inhibition de croissance (CI₅₀ et CI₇₅) :

La détermination de l'activité anti-proliférative est réalisée en évaluant la concentration de l'extrait inhibant 50 % de la croissance cellulaire (CI₅₀) par rapport à un témoin cultivé dans les mêmes conditions en l'absence du composé étudié. Ce test simple et rapide permet de réaliser une sélection rapide de molécules ou composés présentant une activité susceptible de limiter ou stopper la croissance des cellules cancéreuses.

II.6.1. Traitement des cellules et test de prolifération cellulaire :

II.6.1.1. Test ELISA assay :

Ce test est effectué en microplaques à 96 puits (COSTAR, Corning, USA), les cellules ont été déposées dans les plaques à une densité de 3×10^4 cellules par puits.

Les cellules ont ensuite été incubées pendant une nuit avant d'appliquer le *BrdU Cell Proliferation ELISA assay reagent* (Roche, Allemagne), selon les recommandations du fournisseur.

La densité optique est mesurée à 450 nm sur le lecteur de microplaque (Awareness, chromate, USA) afin d'évaluer la croissance cellulaire.

Les résultats ont été rapportés en tant que pourcentage d'inhibition de la prolifération cellulaire où la densité optique est mesurée à partir de cellules témoins traitées dont la prolifération est considérée 100 %.

Le pourcentage d'inhibition de la prolifération cellulaire a été calculé comme suite :

$$\% \text{ d'inhibition} = [1 - \text{Do cellules traitées} / \text{Do témoin}] \times 100$$

- L'activité des échantillons a été évaluée sur des concentrations de 250, 100, 50 µg/ml.
- Le 5-FU a été utilisé en tant que composé standard (contrôle positif).
- Les extraits ont été préparés dans le DMSO (diméthyle sulfoxyde) et dilué avec DMEM (la concentration finale du DMSO est inférieure à 0,1% dans tous les tests).
- Les valeurs IC₅₀ et IC₇₅ ont été déterminées en utilisant ED 50 plus 1.0
- Les résultats de l'étude in vitro sont des moyennes ± SD de six mesures.
- Les différences entre les groupes ont été testées avec l'ANOVA, les valeurs de P qui sont < 0,01 ont été considérées significatives et analysées par SPSS (version 11.5 pour Windows 2000, SPSS Inc).

II.6.1.2. Test xCELLigence (RTCA):

Un instrument d'analyse cellulaire en temps réel (ONE) a été utilisé pour analyser la capacité des extraits à induire la croissance cellulaire de la lignée cellulaire HeLa. Un réseau de capteurs de cellules électroniques nouvellement développé, le xCELLigence RTCA, a été utilisé avec une méthode littéraire récemment publiée aux concentrations de 250, 100 et 50 µg /mL. Toutes les mesures ont été effectuées en intervalles de 10 minutes et triplées. (**Koldaş et al., 2015**).

II.7. Etude statistique

Une étude statistique a été réalisée pour la comparaison des résultats. Le calcul de la moyenne et de l'écart type sont réalisés avec l'Excel 2007, toutes les données représentent la moyenne de trois essais.

Résultats et discussions

III. 1. Extraction par solvants à polarité croissante :

La méthode d'extraction par épuisement successif à l'aide de solvants de polarité croissante a été adoptée, qui repose sur la répartition sélective des composés phénoliques contenus dans l'extrait méthanolique retenu selon leur solubilité entre les phases organiques utilisés : chloroforme, éthyle acétate, *n*-butanol et la phase aqueuse.

Sur le tableau V sont reportées les valeurs des rendements d'extraction en composés phénoliques exprimées en pourcentage enregistrés au niveau des différents extraits obtenus à partir de la partie aérienne des trois espèces du genre *Euphorbia*

Tous les rendements d'extractions sont exprimés en pourcentage de la masse d'extrait par rapport à la masse de la poudre végétale initiale

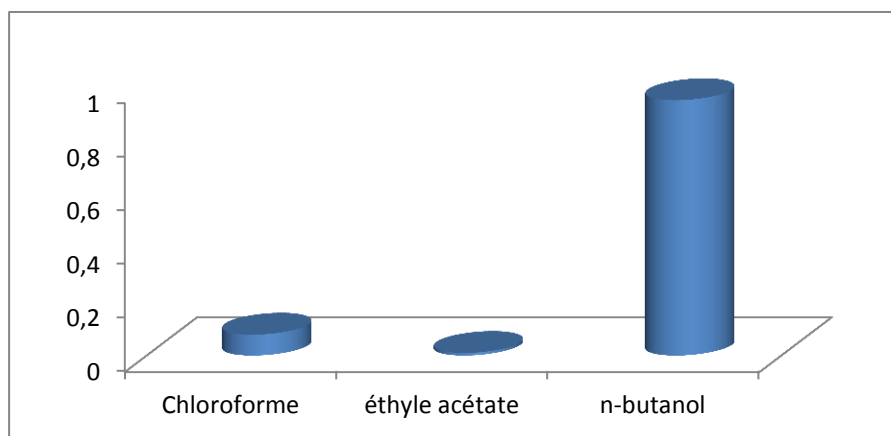


Figure 29 : Le rendement d'extraction chez *E. cornuta Pers*

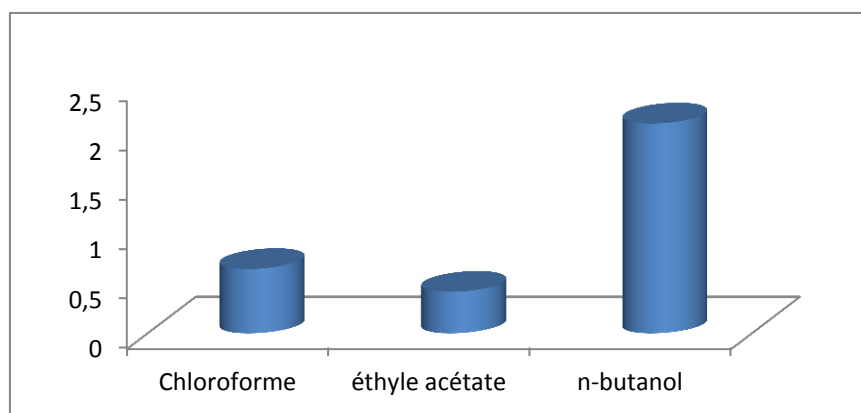


Figure 30 : Le rendement d'extraction chez *E. dendroides L.*

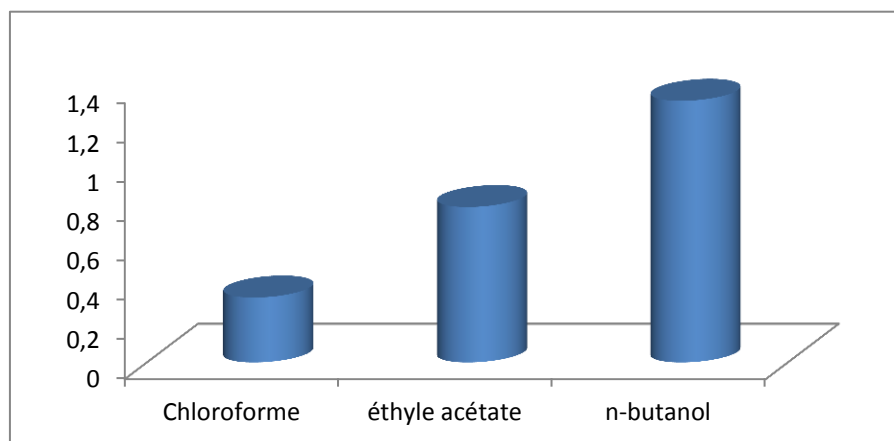


Figure 31 : Le rendement d'extraction chez *E. helioscopia L.*

Considérant la diversité et les propriétés structurales complexes des composés phénoliques, il est difficile de mettre au point une méthode d'extraction exhaustive pour extraire tout les composés phénoliques d'une plante (Nacz et Shahidi, 2006)

Notons également que le taux d'extraction des polyphénols est influencé par le temps d'extraction (Nacz et Shahidi, 2006), tel que le montre le tableau V (annexe), les meilleurs rendements ont été obtenus avec l'extrait *n*-butanol dans le cas des trois espèces du genre *Euphorbia* (*E. cornuta Pers.* ; *E. dendroides L.* ; *E. hélioscopia L.*), cela s'explique par l'épuisement des composés hydrosolubles par la phase aqueuse, le reste des composés sont répartie entre la phase éthyle acétate et chloroforme

D'après ces résultats nous constatons que les rendements d'extractions de *E. cornuta Pers.* pour l'extrait chloroforme et éthyle acétate ont été de 0,078 % et 0,1% respectivement également pour *E. hélioscopia L.* le rendement le plus faible est enregistré avec l'extrait chloroformique avec un taux de 0,33 % suivi par l'éthyle acétate (0,79 %) qui est deux fois plus supérieure. La solubilité des polyphénols est aussi affectée par la polarité du solvant utilisé (Nacz et Shahidi, 2006).

Tandis que chez *E. dendroides L.* l'extrait chloroformique présente un rendement plus élevé (0,65 %) par rapport à celui de l'extrait éthyle acétate (0,42 %), La solubilité des

polyphénols est gouverné par leur nature chimique et varient des formes les plus simple au forme hautement polymérisé (**Naczk et Shahidi, 2006**).

On remarque que le rendement de *E.cornuta* est largement faible par rapport à celui de *E.helioscopia* et *E.dendroides*.

On remarque que ces résultats rapprochent de ceux déjà rapportés dans la littérature avec des solvants de même densité ou avec l'utilisation d'autres méthodes d'extraction

Nos résultat reste inférieur à celui obtenu par (**Qaisar et al., 2012**) qui enregistre un taux de 35,55% au niveau de l'extrait chloroforme chez *E.helioscopia* et que le screening phytochimique révèle que cet extrait est riche en tanins et en terpenoides ce qui explique la teneur faible en polyphenols dans l'extrait chloroformique de notre plante (*E.helioscopia*)

Par contre, ces résultats restent comparable à ceux obtenus par (**Vamsidhar et al., 2000**) chez *E.heterophylla* avec une valeur de 1,4 % pour l'extrait chloroforme et 0,3 % pour l'extrait éthyle acétate cette différence est due à la méthode d'extraction (extraction par soxhlet)

Les résultats trouvé par **Barla et al., 2007** sur deux espèces du genre *Euphorbia* sur l'extrait (éther de pétrole, acétone, éthanol) qui est de (2,14 ; 3,54 ; 11,14) respectivement chez *E. macroclada* et de (4,86 ; 7,12 ; 9,90) chez *E.acanthathamnos* respectivement

III.2.Dosage des composés phénoliques :

III.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

La concentration en polyphénols des différents extraits des espèces du genre *Euphorbia* a été déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme référence (figure 31).

La teneur en composés phénoliques totaux des différents extraits sont reportés dans le tableau V, le taux est exprimé en <<µg>> d'équivalent d'acide gallique par << g>> d'extrait sec, chaque essai a été répété trois fois et chaque valeur rapportée dans le tableau est une moyenne.

L'analyse de ces résultats indique qu'il ya une différence dans la teneur en polyphénol entre les trois espèces étudiées et entre les extraits de chaque espèce, chez *Euphorbia cornuta Pers.* c'est l'extrait éthyle acétate qui est plus riche en phénols totaux avec une valeur de

433,32±20,56 (trois fois plus riche) suivi de l'extrait *n*-butanol et chloroforme qui présentent des valeurs presque similaires de 144,77±14,85 et 139,96±13,20 respectivement

Egalement chez *Euphorbia dendroides* L. c'est l'extrait éthyle acétate qui est le plus riche en polyphénols avec une teneur de 929,15±20,1 suivi par l'extrait *n*-butanol (164,25±16,40) et de l'extrait chloroformique (108,62±19,33)

Tandis que chez *Euphorbia helioscopia* L. la quantité de composés phénoliques varie d'une manière croissante de l'extrait *n*-butanol (156,21±4,55) à l'extrait éthyle acétate (149,91±3,16) et enfin l'extrait chloroformique (104,48±3,26).

En analysant ces résultats, nous remarquons que l'ensemble des extraits éthyle acétate sont riches en polyphénols et les extraits chloroformiques sont relativement pauvres en polyphénols.

La quantification des composés phénoliques dans la matière végétale est influencée par leur nature chimique, la méthode d'extraction, la taille des particules de l'échantillon, le temps et la condition de stockage ainsi que la méthode d'analyse utilisée (**Naczki et Shahidi, 2006**)

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (**Bruneton, 1999 ; Macheix et al., 2005**).

Il y a une possibilité d'interaction des polyphénols avec d'autres composés de la plante tels que les carbohydrates et les protéines, ces interactions peuvent conduire à la formation de complexes qui peuvent être insolubles (**Naczki et Shahidi, 2006**).

Ce résultat est largement supérieur à celui trouvé par **Ganga Rao battu et al, (2011)** chez les *E. heyneana* (extrait éthanolique) qui a trouvé une valeur de 54,21±2,11 mg EAG/g d'extrait.

Ce résultat reste comparable à ceux trouvés par **Loh et al, (2009)** chez *E. hirta* avec une valeur de 268 mg GAE/g d'extrait au niveau de l'extrait aqueux alors que l'extrait méthanolique contient un taux de 93 mg GAE/g d'extrait.

On peut remarquer, d'après les résultats des phénols totaux des différents types d'extraits trouvés par **Barla et al, (2007)** que la teneur en polyphénols totaux chez *E.acanthothamnus* est

de $6,26 \pm 2,21$ (extrait éther de pétrole), $92,12 \pm 1,03$ (extrait acétone), et de $176,01 \pm 1,11$ (extrait éthanol) que les extraits polaires sont marqués par les teneurs les plus élevées en phénols totaux tandis que les extraits apolaire en particulier en sont les plus faibles.

Nous constatons également que le taux des composés phénoliques totaux varie en fonction de la partie utilisé, les résultats apportés par **Arra Basma et al, (2011)** chez *E. hirta* est de $206,17 \pm 1,95$ mg EAG/g d'extrait chez les feuilles suivi par les fleurs, racines et tiges avec des taux de $(117,08 \pm 3,10)$, $(83,15 \pm 1,19)$, $(65,7 \pm 1,72)$ mg EAG/g d'extrait.

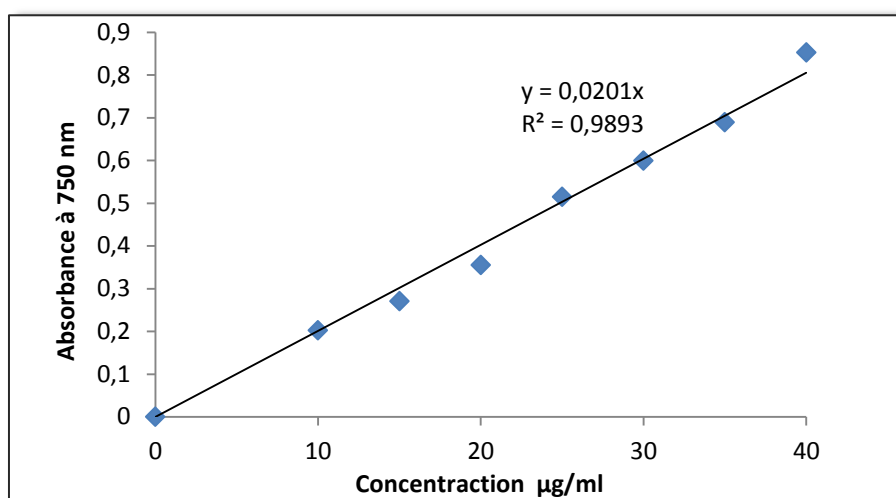


Figure 32: Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols

Tableau V: Teneur en composés phénoliques totaux des extraits obtenus à partir de trois espèces d'euphorbiacée

	Composés phénoliques totaux		
	<i>Chloroforme</i>	<i>Ethyle acétate</i>	<i>n-butanol</i>
<i>E. cornuta.Pers</i>	144,77±14,85	433,32±20,56	139,96±13,24
<i>E.dendroides.L</i>	108,62±19,33	929,51±20,1	164,25±16,40
<i>E.hélioscopia.L</i>	102,48±3,26	149,91±3,16	156,21±4,55

III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux:

Les flavonoïdes sont un groupe de composés naturels les plus répandus et diversifiés et sont vraisemblablement les composés phénoliques les plus importants (Agrawal, 1989).

Les flavonoïdes sont un groupe de composés naturels connue pour ces propriétés pharmacologiques variées comme antioxydant, anti-inflammatoire et diurétique (Havsteen *et al.*, 2002)

La teneur en flavonoïdes de nos échantillons est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine comme référence. (Figure 32). Le taux est exprimé en « μg » d'équivalent de quercétine par « g » d'extrait. Les teneurs en flavonoïdes totaux sont donnés dans le **tableau VI**.

Nous remarquons que chez les trois espèces du genre *Euphorbia* c'est l'extrait éthyle acétate qui présente la teneur la plus élevée en flavonoïde, et les taux les plus faibles sont observés dans l'extrait apolaire chloroformique chez les trois espèces.

On remarque également que les extraits qui sont les plus riches en composés phénoliques sont les plus riches en flavonoïdes chez *E.cornuta Pers.* et *E.dendroides L.* tandis que ce n'est pas le cas chez *E.helioscopia L.* où l'extrait *n*-butanol a exhibé autant de flavonoïde.

De cette présente analyse on déduit que les extraits de la partie aérienne des trois espèces du genre *euphorbia* sont plutôt riches en flavonoïde polaire.

On constate également que tous les extraits présentent une valeur faible en flavonoïde par rapports au taux de composés phénoliques totaux, donc nos extraits doivent contenir d'autres classes de composés phénoliques.

Les résultats menés par *Barla et ses collaborateurs, 2007* chez *E. acanthothotamos* que le taux en flavonoïde est de $04,66 \pm 0,36$ mg EQ/g d'extrait dans l'extrait éther de pétrole, et de $15,15 \pm 0,77$ mg EQ/g d'extrait dans l'extrait acétone, et de $33,72 \pm 3,07$ mg EQ/g d'extrait (extrait éthanol).

Alors que les résultats apportés par *Arra Basma et al, 2011* chez *E. hirta* qui est de ($37,97 \pm 0,003$) mg CEQ /g d'extrait chez les feuilles suivi par les fleurs, la racine et la tige avec des valeurs de $35,200 \pm 0,002$ mg CEQ/g , $24,35 \pm 0,006$ mg CEQ/g et de $24,120 \pm 0,004$ mg CEQ/g d'extrait respectivement

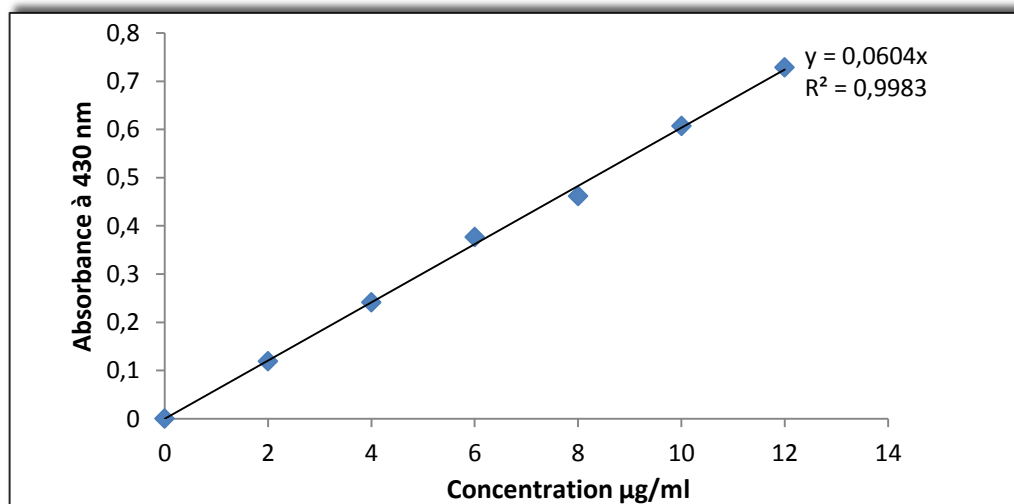


Figure 33 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Tableau VI : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits obtenues à partir de trois espèces du genre *Euphorbia*

	Flavonoïdes totaux		
	Chloroforme	Ethyle acétate	<i>n</i> -butanol
<i>E. cornuta Pers.</i>	14,52±1,73	43,07±8,32	25,15±2,10
<i>E.dendroides L.</i>	12,16±0,2	26,04±0,3	7,83±0,12
<i>E.helioscopia L.</i>	16,91±0,70	25,01 ±0,76	22,08±0,81

III.2.3. Identification par HPLC des composés phénoliques obtenus :

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est un moyen très flexible et simple qui permet d'isoler et d'identifier les composés d'un mélange.

L'identification et la quantification des composés phénoliques présent dans les extraits se fait par comparaison du temps de rétention des spectres de masse obtenus à partir des standards.

Les composés identifiés dans les différents extraits ainsi que leur temps de rétention et leur pourcentage relatif dans les extraits sont présentés aux **tableaux VII, VIII, IX.**

Les profils chromatographiques des différents extraits analysés par HPLC sont présentés en annexe 02.

L'objectif principal est d'identifier les composés responsables de l'activité sélective des extraits, et tous les composés sont identifiés suite à la disponibilité des étalons.

Tableau VII : Composition quantitative en composés phénoliques des extraits de *E.Cornuta Pers.*

Les composés	Tr	Masse	Formule	Extraits (concentration mg phenol/Kg de poudre)		
				Chloroforme	EtOAc	<i>n</i> -butanol
Acide gallique	2,820	170,12	C ₇ H ₆ O ₅	-	1,06	-
Acide gentisique	4,322	154,12	C ₇ H ₆ O ₄	-	2,24	1,014
Acide chlorogénique	6,101	354,12	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-	0,14	3,817
Acide 4-hydroxybenzoïque	6,833	138,12	C ₇ H ₆ O ₃	-	5,14	-
Acide protocatéchique	6,935	154,12	C ₇ H ₆ O ₄	-	0,17	-
Acide vanillique	7,725	168,14	C ₈ H ₈ O ₄	0,2	1,7	-
Acide caféique	7,609	180,16	C ₉ H ₈ O ₄	-	0,64	-
4- hydroxybenzaldehyde	9,141	122,121	C ₇ H ₆ O ₂	0,13	-	-
Rutine	9,444	610,52	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-	-	0,526
Acide P-coumarique	9,913	164,16	C ₉ H ₈ O ₃	-	1,25	-
Acide chicorique	10,622			-	0,02	0,386
Acide férulique	10,695	194,18	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	0,25	1,41	-
Apigénine-7-O- glucoside	12,257	270,236	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	-	0,07	-
Acide rosmarinique	11,878			-	0,13	-
Acide Salicylique	13,284	138,121	C ₇ H ₆ O ₃	0,02	1,16	-
Quercetine	15,430	302,235	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	-	0,21	-

Naringénine	17,042	272,257	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	0,02	-	-
--------------------	--------	---------	--	------	---	---

D'après les profils HPLC des trois extraits obtenus après épuisement de la partie aérienne chez les trois espèces du genre *Euphorbia*, on remarque la présence de flavonoïdes et d'acides phénoliques dans tous les extraits.

Les données correspondantes à l'évaluation quantitative des composés phénoliques identifiés dans la partie aérienne de *E.cornuta Pers.* sont représentés dans le **tableau VIII**

Partons de ces résultats, nous constatons que l'extrait CHCl₃ contient 06 composés, et l'extrait éthyle acétate contient 15 composés alors que l'extrait butanolique comporte 05 composé uniquement.

Tout les composés identifiés dans les différents extraits ont été détectés en faible quantité, la rutine a été détecté uniquement dans l'extrait *n*-butanol (0,526 mg/kg de poudre) et la naringénine dans l'extrait chloroforme (0,02 mg/kg de poudre) alors que la majorité des composés sont trouvés dans l'extrait EtOAc (Apegénine (0,07 mg/kgde poudre) ; Quercétine (0,21mg/ kg de poudre) ; Acide *p*-coumarique (1,25 mg/kg de poudre) ; l'acide caféique (0,64 mg/kg de poudre) ; l'acide 4-hydroxybenzoïque (5,14 mg/kg de poudre) ; acide gallique (1,06 mg/kg de poudre) ; acide protocatéchique (0,17 mg/kg de poudre)

Nos résultats sont inférieure à ceux trouvés par **Trindode et al., 2014** qui ont trouvés suite à une analyse par HPLC-Uv-Vis une quantité plus élevé d'acide férulique dans l'extrait méthanolique et acétonique chez *E. tirucalli* qui est de 0.59 ± 0.028 g/ 100 g d'échantillon et 0.40 ± 0.014 g/100 g d'échantillon respectivement par rapports à nos extraits chloroforme et éthyle acétate ou la teneur est faible (**Tableau VII**)

Caxito et al., 2017 ont reporté la présence dans la partie aérienne chez la même espèce *E.tirucalli* de la quercétine après analyse par (HPLC-UV-DAD)

Tableau VIII : Composés déterminés par HPLC-TOF/MS à partir des extraits (chloroforme, éthyle acétate, *n*-butanol) de *E.dendroides L.*

Composés	Tr	Masse	Formule	Extraits (concentration mg phenol/Kg de poudre)		
				Chloroforme	EtOAc	n-butanol
Acide gallique	2,831	170,12	C ₇ H ₆ O ₅	61,51	614,12	481,94
Acide gentisique	4,358	154,12	C ₇ H ₆ O ₄	2,37	33,61	1,25

Acide chlorogénique	5,984	354,12	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	60,1	642,01	4505,78
Acide 4-hydroxybenzoïque	5,531	138,12	C ₇ H ₆ O ₃	12,72	-	9,35
Acide protocatechique	6,959	154,12	C ₇ H ₆ O ₄	1,37	7,74	3,08
Acide vanillique	7,796	168,14	C ₈ H ₈ O ₄	2,72	10,88	4,05
Acide caféique	7,623	180,16	C ₉ H ₈ O ₄	7,84	67,79	2,51
Rutine	9,081	610,52	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-	0,03	-
Acide P-coumarique	9,917	164,16	C ₉ H ₈ O ₃	1,34	11,64	10,07
Acide chicorique	10,982	474,371	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂	0,16	1,02	3,22
Acide férulique	11,082	194,18	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1,2	8,81	6,84
Hespéridine	12,284	610,5606	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	0,46	-	1,49
Acide salicylique	13,284	138,121	C ₇ H ₆ O ₃	6,91	-	9,70
Resvératrol	14,682	228,243	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	-	-	42,31
Acide cinnamique	15,779	148,1586	C ₉ H ₈ O ₂	1,7	-	10,70

L'analyse par HPLC des extraits obtenue à partir de la partie aérienne de *E. dendroides* *L.* montrent que dans l'extrait chloroforme, éthyle acétate et n-butanol c'est l'acide gallique (61,51 mg/kg de poudre ; 614,12 mg/kg de poudre et 481,94 mg/kg de poudre) respectivement et l'acide chlorogénique qui sont majoritaires avec des valeurs presque équivalentes dans l'extrait chloroformique et éthyle acétate (**tableau VIII**)

On constate également que l'extrait chloroformique contient 13 composés alors que l'extrait éthyle acétate contient 10 composé tandis que dans l'extrait n-butanol on trouve 14

composé et du point de vue quantitatif l'extrait éthyle acétate est meilleures, on remarque que la rutine a été détecté uniquement dans l'extrait éthyle acétate et en faible quantité (0,03 mg/kg de poudre végétale) alors que l'hespéridine est détecté dans l'extrait chloroforme (0,46 mg/kg de poudre) et l'extrait *n*-butanol (1,49 mg/kg de poudre) en faible quantité

Nos résultats sont similaire à ceux trouvé par **Piôro-Jabrucka et al., 2011** ou l'acide chlorogénique constitue le composé majoritaire dans l'extrait méthanolique de la tige de *E.hirta* suite à l'analyse par HPLC avec une quantité de 73,78 mg/100 g de matière sèche

Egalement **Pintus et al., 2016** suite à l'analyse par HPLC-DAD de l'extrait éthanolique des feuilles de *E. characias* ont confirmé la présence de l'acide gallique, la catéchine et l'acide éllagique

Rozimamat et al., 2018 ont identifier pour la première fois le kaempferol (11,71 mg) et la quercétine (32,40 mg) chez *E. alata* (partie aérienne)

Singh et Kumar., 2016 ont également confirmé la présence de la quercétine et du kaempferol dans l'extrait éthyle acétate des tiges de *E.hirta*

Tableau IX : Composés déterminés par HPLC-TOF/MS à partir des extraits (chloroforme, éthyle acétate, *n*-butanol) de *E.helioscopia L.*

Les composés	Tr	Masse	Formule	Extraits (concentration mg phenol/Kg de poudre)		
				Chloroforme	EtOAc	<i>n</i> -butanol
Acide gallique	2,824	170,12	C ₇ H ₆ O ₅	-	2,56	-
Acide gentisique	4,357	154,12	C ₇ H ₆ O ₄	-	5,95	23,29
Acide 4-hydroxybenzoïque	6,532	138,12	C ₇ H ₆ O ₃	-	3,06	-
Acide chlorogénique	6,134	354,12	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-	-	0,2
Acide protocatéchique	6,952	154,12	C ₇ H ₆ O ₄	-	0,72	-
Acide vanillique	7,553	168,14	C ₈ H ₈ O ₄	-	4,18	0,25
4-hydroxibenzaldehyde	9,144	122,121	C ₇ H ₆ O ₂	-	3,06	-
Rutine	9,407	610,52	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-	-	0,46
Acide férulique	10,324	194,18	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	0,07	-	0,11

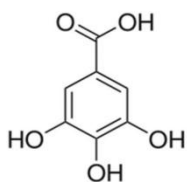
Hespéridine	11,156	610,5606	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	-	0,82	-
Acide salicylique	13,283	138,121	C ₇ H ₆ O ₃	1,46	-	-
Acide sinnamique	15,608	148,1586	C ₉ H ₈ O ₂	1,46	3	-

Les résultats des analyses quantitatives et qualitatives par HPLC des différents extraits de *E. helioscopia* sont donné dans le tableau IX, l'analyse de ces résultats montrent que chez *E. helioscopia* L. c'est l'extrait EtOAc qui est plus riche avec 08 composé qui ont été détectés en faible quantité et le plus abondant étant l'acide 4-hydroxybenzoïque (3,06 mg/kg de poudre), 05 composé en tété détecté dans l'extrait n-butanol et 03 composé dans l'extrait chloroforme (acide ferulique 0,07 mg/kg) , l'acide salicylique et cinnamique en quantité égale de 1,46 mg/kg de poudre.

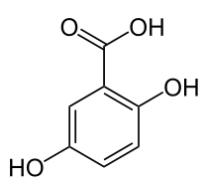
En effet *Loh et al., 2009* avaient également signalé et confirme la présence de la rutine dans l'extrait méthanolique de *E. hirta* par contre la quercétine est détecté dans l'extrait méthanolique après hydrolyse acide a 2 % de l'extrait sec, mais sa teneur est négligeable dans l'extrait aqueux.

Noori et al., 2009 ont confirmé La composition qualitative des flavonoïdes dans l'extrait alcoolique de *E. helioscopia* a indiqué 15 substances à caractère flavonoïdique, par Chromatographie bidimensionnel (2-DPC). L'hydrolyse acide de l'extrait alcoolique de *E. Helioscopia* par Volobueva (1970) a donné la quercétine et le kaempférol.

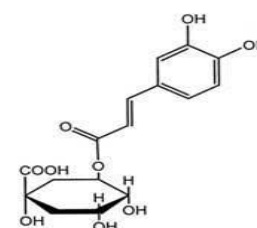
Ghanadian et al., 2012 ont isolé pour la premier fois quatre flavonoïde la quercetin 3-*O*- β -D-rutinoside (Q3Rut), la myricetin 3-*O*- β -D-galactopyranoside (M3Gal), la quercetin 3-*O*- β -D-galactopyranoside (Q3Gal) et la quercetin 3-*O*- β -D-glucopyranoside (Q3Glc) à partir de la partie aérienne de *Euphorbia microsciadia*.



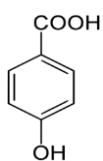
L'acide gallique



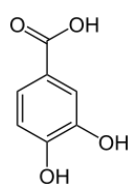
l'acide gentisique



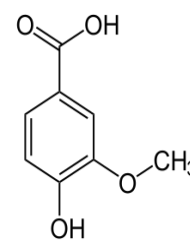
L'acide chlorogénique



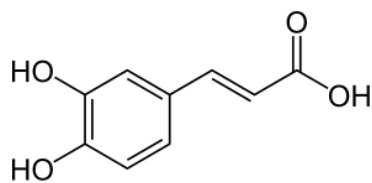
L'acide 4-hydroxybenzoïque



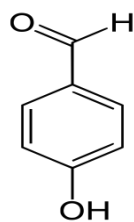
l'acide protocatéchuïque



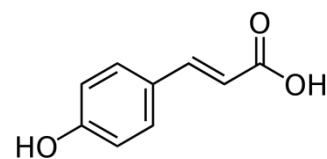
l'acide vanillique



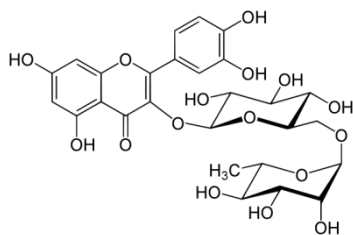
L'acide caféique



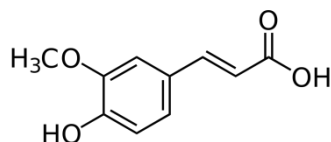
l'acide 4-hydroxybenzaldéhyde



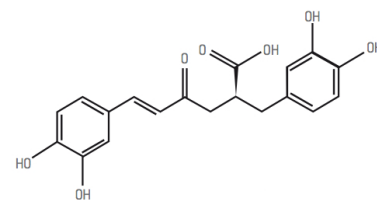
l'acide p-coumarique



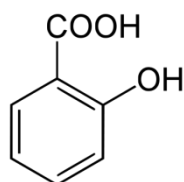
La rutine



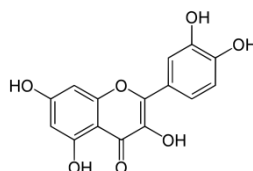
l'acide férulique



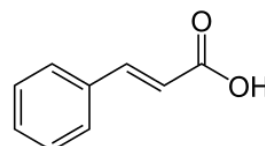
l'acide rosmarinique



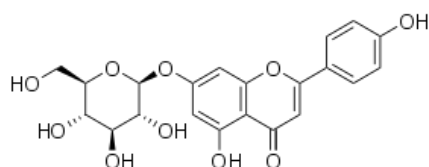
L'acide salicylique



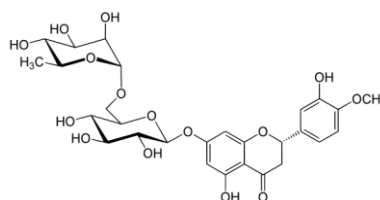
la quercétine



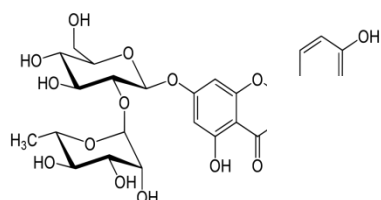
l'acide cinnamique



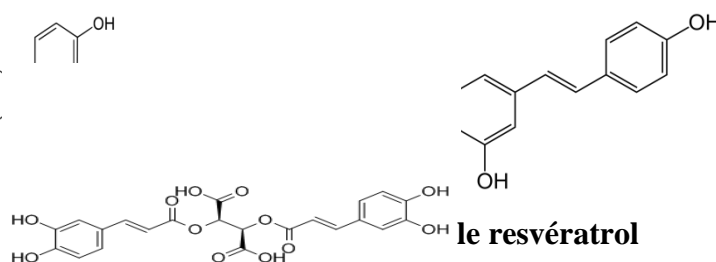
L'apigénine 7-O-glucoside



l'hespéridine



La naringénine



le resvératrol

L'acide chicorique

Figure 34 : Structure des molécules isolées des trois espèces du genre *Euphorbia*

III.3. Etude de l'activité antioxydants :

III.3.1. Effet scavenger du radical DPPH :

Nous avons donc évalué le pouvoir antioxydant de nos extraits qui se sont montrés riche en polyphénols, pour ce faire nous avons utilisé trois méthodes au DPPH et le pouvoir réducteur ainsi que le test d'inhibition de la peroxydation lipidique.

Le résultat est différent selon le test utilisé. Cela pourrait s'expliquer par la sensibilité propre à chaque test.

L'essai DPPH est appliqué pour déterminer l'activité antioxydante des aliments, du vin, des extraits de plantes et des composants pure (Awika *et al.*, 2003 ; Vanden *et al.*, 2000 ; Yu *et al.*, 2002)

Notre étude avait pour but d'évaluer le potentiel anti-radicalaire in vitro de la partie aérienne de trois espèces du genre *Euphorbia* (*E. Cornuta Pers.* ; *E. dendroides L.* ; *E. helioscopia L.*)

Les figures (34 à 43) illustrent respectivement les pourcentages « scavenging » du radical DPPH des standards et des extraits à différentes concentrations en fonction du temps chez les trois espèces d'Euphorbiacées. Une relation proportionnelle est observée entre la concentration en antioxydants (extraits et standards) et le pourcentage d'inhibition du radical DPPH (Kumaran *et al.*, 2006)

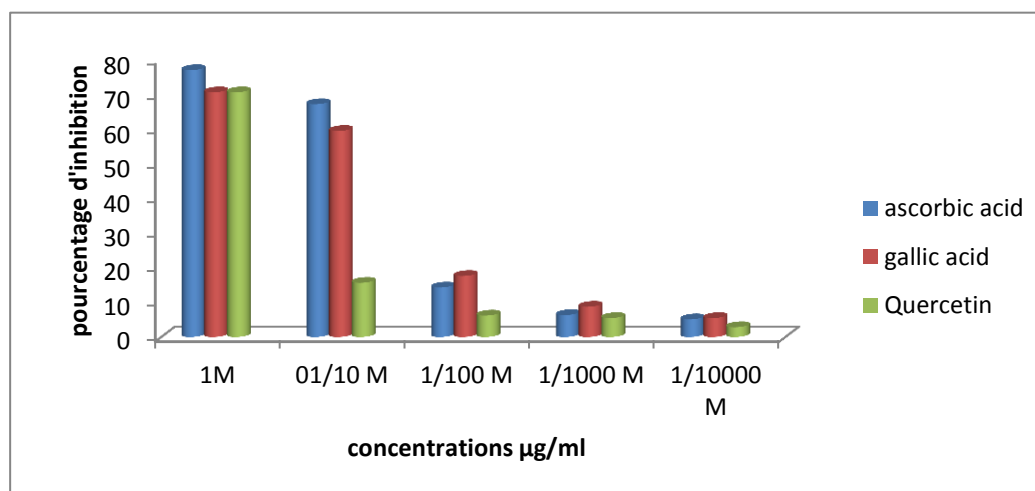


Figure 35 : Effet scavenger contre le radical DPPH des standards testés à différente concentration

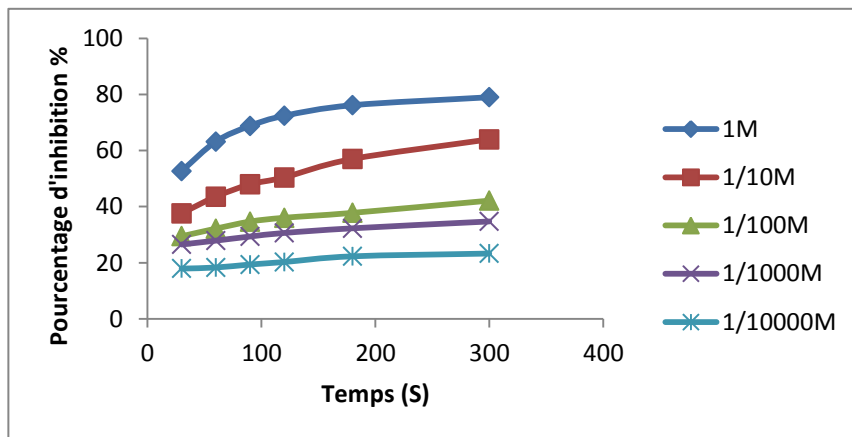


Figure 36 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait chloroforme de *E. cornuta Pers.* en fonction du temps

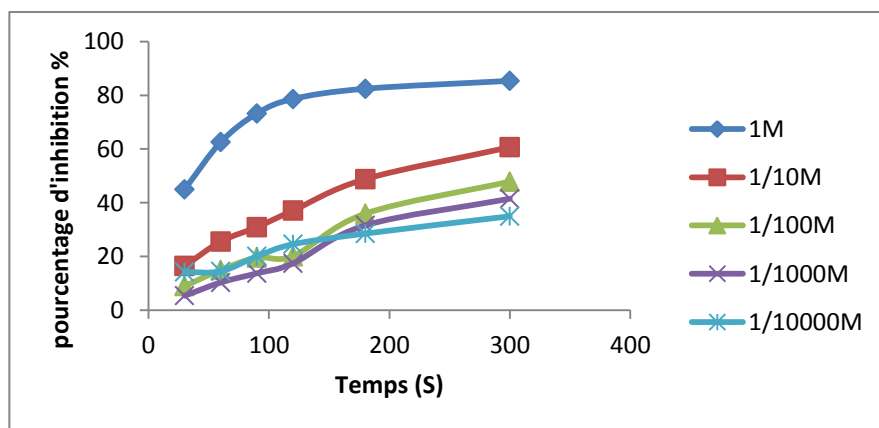


Figure 37 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait éthyle acétate de *E. cornuta Pers.* en fonction du temps

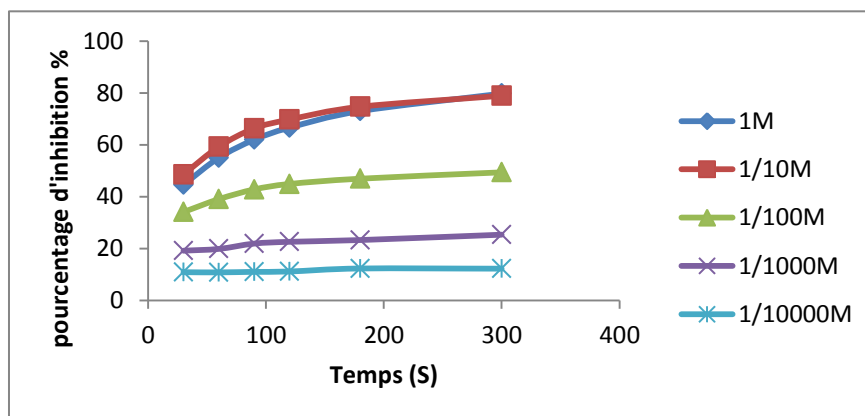


Figure 38 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait n-butanol de *E. cornuta Pers.* en fonction du temps

Les extraits (chloroforme, éthyle acétate, *n*-butanol) de la partie aérienne de *E.cornuta Pers.* ont exhibé un puissant effet scavenger contre le radical DPPH à la concentration de 1M (Figure 35,36,37) , on remarque que l'extrait éthyle acétate exerce la plus grande activité anti-radicalaire avec un pourcentage d'inhibition de 85,35 % à 1 M par rapport aux deux autres extraits CHCl₃ et *n*-butanol qui présentent une activité anti-radicalaire similaire avec un taux de 79,72% et 78,99 % respectivement.

Ces résultats s'expliquent par la richesse de l'extrait éthyle acétate en phénols totaux par rapport à l'extrait chloroforme et *n*-butanol, chose qui a été confirmée par HPLC-TOF-MS, 15 composés ont été détectés dans cet extrait ou l'acide 4-hydroxy-benzoïque est le composé majoritaire (5,14 mg/kg de poudre) (**Tableau VII**) qui est peut-être à l'origine de l'effet scavenger ou des effets synergiques peuvent avoir lieu entraînant ainsi une augmentation de l'activité antioxydante totale de l'extrait éthyle acétate.

L'effet anti-radicalaire de nos extraits reste inférieure à celui exercé par les standards utilisés (**figure 34**) l'ordre d'efficacité à 1 M peut être résumé comme suit :

Acide ascorbique (76,93%) > Acide gallique (70,54 %) = quercétine (70,54%) > éthyle acétate (85,35) > chloroforme (79,72) > *n*-butanol (78,99).

La réaction des phénols avec le radical DPPH diffère d'un composé à un autre, trois types de réaction rapide, intermédiaire et lente ont été distingués pour la réaction entre le radical DPPH et phénols (**Campos et Lissi, 1999 ; Sanchez-Moreno, 2002**)

Le mécanisme de réaction entre l'antioxydant et DPPH dépend de la conformation structurelle de l'antioxydant, certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH pour réduire un certain nombre de molécules de DPPH égale au nombre de groupes hydroxyles (**Bondent et al., 1997**)

L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leur propriété redox ce qui leur permet d'agir comme agent réducteur, des donneurs d'hydrogènes, des piègeurs de l'oxygène singulet, ils peuvent également avoir un potentiel chélateur de métaux (**Rice-Evans et al., 1995**) .

Trindade et al., 2014 ont attribué l'excellente capacité antioxydante des extraits obtenus à partir de *E. tirucalli* à sa forte richesse en acide férulique identifié par HPLC-UV

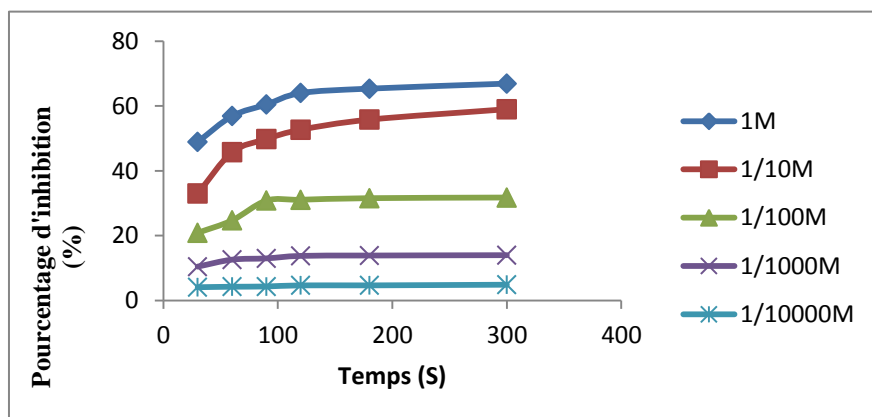


Figure 39 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait chloroforme de *E. dendroides L.* en fonction du temps

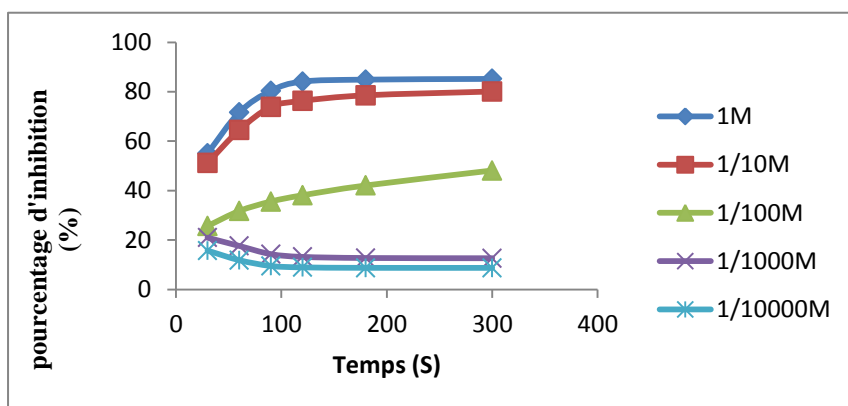


Figure 40 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait éthyle acétate de *E. dendroides L.* en fonction du temps

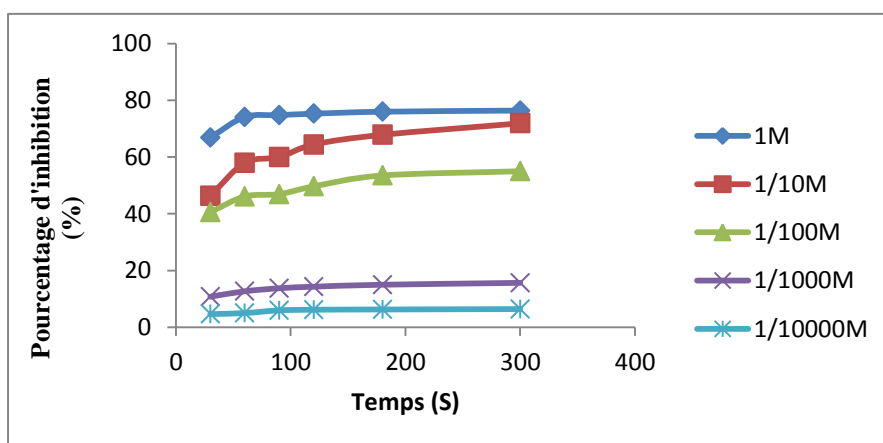


Figure 41 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait *n*-butanol de *E. dendroides L.* en fonction du temps

Comparativement aux standards, qui expriment le potentiel anti-radicalaire important (**figure 34**), Les résultats des **figures (38, 39, 40 41, 42, 43)** nous montrent que l'effet anti-radicalaire des extraits du chloroforme d'éthyle acétate et *n*-butanol de la partie aérienne de *E. dendroides L.* et *E. helioscopia L.* à différentes concentrations et en fonction du temps, diminuent jusqu'à atteindre les taux les plus bas à 1/100 000 M. D'après ces résultats, on conclut que les Extraits d'éthyle acétate possèdent un potentiel anti-radicalaire hautement appréciable contre le radical DPPH qui est de 85,19 % à 1M chez *E. dendroides L.* (**figure 39**) alors que chez *E. helioscopia L.* c'est l'extrait *n*-butanol qui est le plus actif avec un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de 85,91 % à 1M chez (**figure 42**) par contre les extraits du chloroforme n'ont exhibé qu'une modeste activité anti-radicalaire (66,89 % à 1 M chez *E. dendroides L.* (**figure 38**) et de 55,87 % à 1 M chez *E. heliscopia L.* (**figure 41**). Au terme de cette analyse l'activité anti-radicalaire des extraits organiques contre le radical DPPH des espèces étudiées serait étroitement liée à leurs teneurs en phénols totaux.

En effet l'activité de l'extrait éthyle acétate de *E. dendroides L.* est due à sa richesse en acide gallique (614,12 mg/kg de poudre) et chlorogénique (642,01mg/kg de poudre) (**Tableau VIII**) qui sont les composés majoritaires alors que l'extrait *n*-butanol de *E. helioscopia L.* c'est l'acide gentisique qui est le composé majoritaire (23,29 mg/kg de poudre) (**Tableau IX**)

Nos résultats reste supérieure à ceux mené par **Barla et al., 2004** sur l'espèce *E. dendroides* récolté en Italie qui a enregistré un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de 8,35 % à 100 µg /ml et 19,75 % à 500 µg. alors que les résultats apporté par **Arra Basma et al., 2011** sur l'extrait méthanolique de *E. hirta* sur l'extrait des feuilles exercent une activité anti-radicalaire importante (72,96 ±0,78) % à un 1 mg/ml suivi par les fleurs, les racine et les tiges avec un effet scavenger de (52,45±0,66) %, (48,59±0,97) % et (44,42±0,94) % respectivement par contre le standard la BHT possède une activité anti-radicalaire importante qui est de (75,13±0,75) % à 1 mg /ml.

Rozimamat et al., 2018 ont isolé deux flavonoïde par HPLC semi-préparative le kaempferol, et la quercétine à partir de la partie aérienne de *Euphorbia alata* qui ont exercé le meilleur effet scavenger contre le radical DPPH

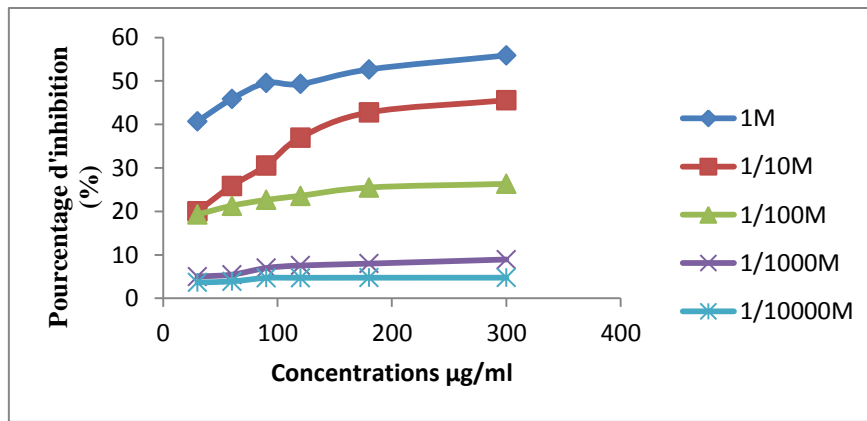


Figure 42 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait chloroforme de *E. helioscopia L.* en fonction du temps

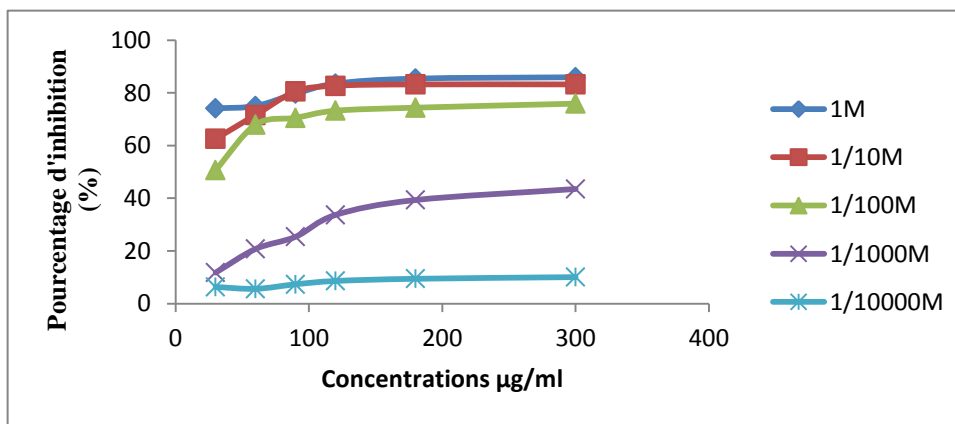


Figure 43 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait *n*-butanol de *E. helioscopia L.* en fonction du temps

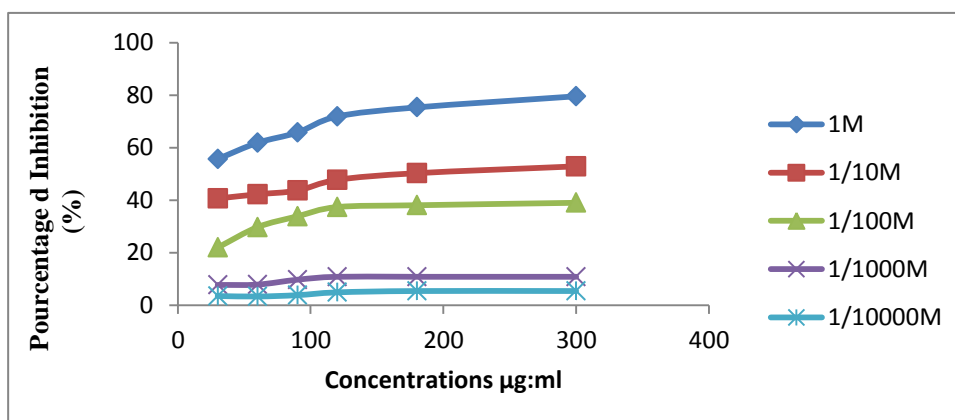


Figure 44 : Effet scavenger contre le radical DPPH de l'extrait éthyle acétate de *E. helioscopia L.* en fonction du temps

III.3.2. Mesure du pouvoir réducteur :

Les mêmes extraits ont été soumis à d'autres tests d'activité biologique disponible au laboratoire, dans ce test, la couleur jaune de la solution d'essai change en différentes nuances de vert et bleu en fonction de la capacité réductrice de chaque composé (Barros *et al.*, 2007)

Des études antérieures ont indiqué que la capacité de réduction d'un composé peut servir d'indicateur important de son potentiel antioxydant (Jeong *et al.*, 2004)

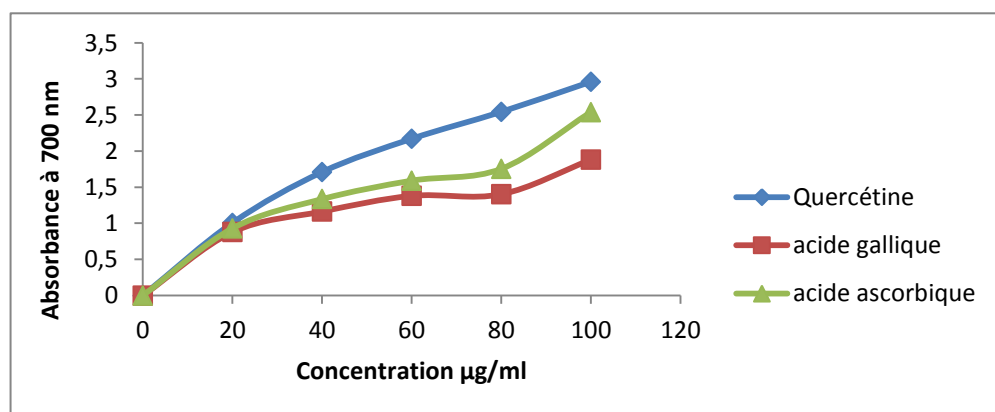


Figure 45: Pouvoir réducteur des standards testés à différentes concentrations.

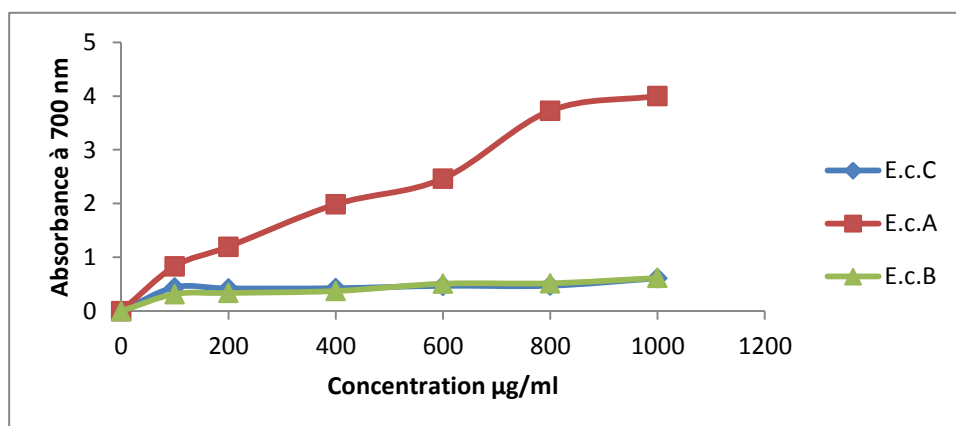


Figure 46 : Pouvoir réducteur des extraits testés à différentes concentrations de l'espèce *Euphorbia cornuta Pers.*

Les résultats du pouvoir réducteur des extraits de *E. cornuta Pers.* présentent un profil comparable à celui de l'effet anti-radicalaire. La figure 45 montre que l'extrait éthyle acétate

de la partie aérienne de *E.cornuta Pers.* présente la meilleure activité réductrice qui reste inférieure à celle des standards (**figure 44**) mais supérieure à celle des autres extraits chloroforme et *n*-butanol.

Ces résultats indiquent que le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait et du standard.

Cet effet réducteur de l'extrait éthyle acétate est due à sa forte teneur en substance active il est plus riche en polyphénols totaux ($433,32 \pm 20,56$) (**tableau V**) et en flavonoïdes (15 composé identifiés par HPLC-TOF-MS) (**tableau VII**) par rapports à l'extraits chloroforme et *n*-butanol qui présentent des valeurs presque équivalente en polyphénols avec des valeurs de ($144,77 \pm 14,85$) et ($139,96 \pm 13,20$) respectivement.

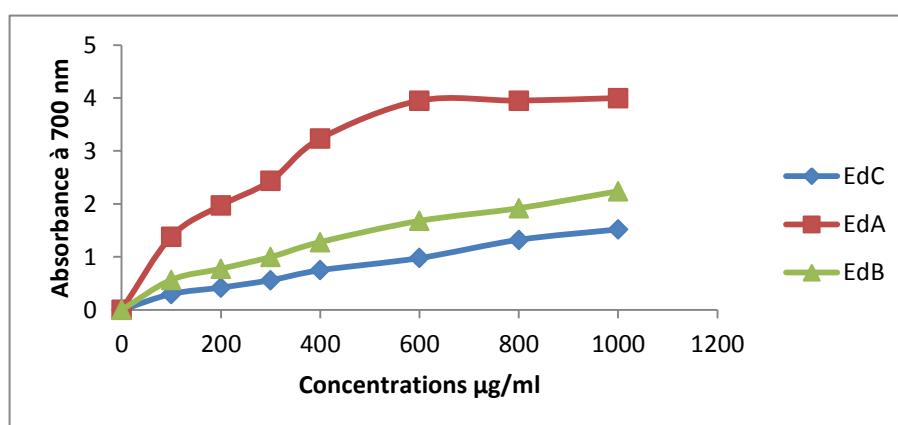


Figure 47 : Pouvoir réducteur des extraits à différentes concentrations de *E.dendroides L.*

Aucune donnée n'a été publiée sur la capacité réductrice des composés phénoliques de *E.dendroides L.*, les extraits (chloroforme, éthyle acétate, *n*-butanol) de *E.dendroides L.* ont montré un effet réducteur potentiel on remarque également que l'activité est dose dépendante et moindre que celle des standards (**figure 46**)

La quercétine est plus active que l'acide ascorbique et l'acide gallique avec une absorbance de 2,96, 2,54 et 1,88 respectivement à 100 µg/ml (**figure 44**).

L'extrait éthyle acétate à une concentration de 1000 µg/ml exerce la meilleure activité réductrice avec une absorbance de 4 suivi l'extrait *n*-butanol avec une absorbance de 2,24 puis de l'extrait chloroformique avec une absorbance de 1,52 l'efficacité de l'extrait éthyle acétate étant due au potentiel réducteur élevé des composés phénoliques présents dans cet extrait

Aussi l'effet réducteur est proportionnel à la teneur en polyphénol (**tableau V**), ce qui suggère leur implication dans cet effet, chose confirmée par l'analyse par HPLC-TOF-MS (**tableau VIII**).

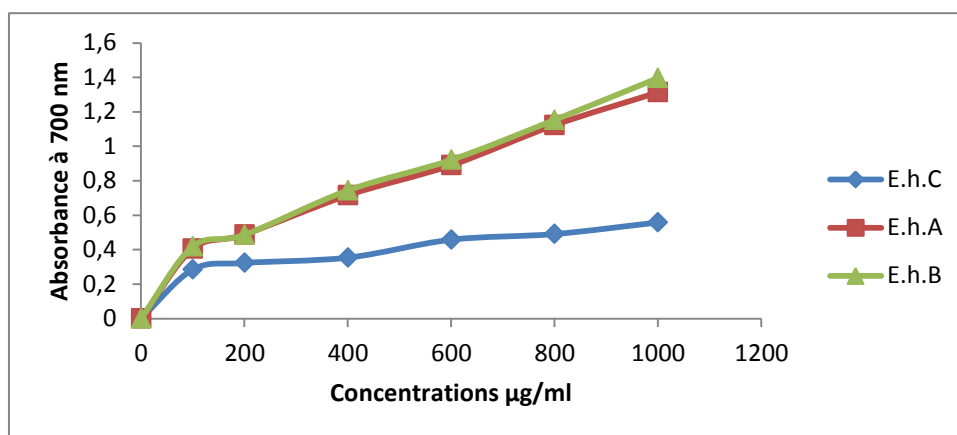


Figure 48 : Pouvoir réducteur des extraits testés à différentes concentrations de *E. helioscopia L.*

D'après les résultats obtenus chez *E. helioscopia L.* (**figure 47**), nous constatons que l'extrait *n*-butanol exprime une activité réductrice assez importante avec une absorbance de 1,396 à 1000 µg/ml suivi par l'extrait éthyle acétate qui a une activité aussi intéressante avec une absorbance relativement proche qui est de 1,313 à 1000 µg/ml alors que l'extrait chloroformique enregistre une faible activité avec une absorbance de 0,558 à 1000 µg/ml.

Comparativement aux standards, l'ordre d'efficacité des extraits et des standards à 100 µg/ml est le suivant :

Quercetine > acide ascorbique > acide gallique > *n*-butanol > éthyle acétate > chloroforme.

Ces valeurs confirment la relation entre la teneur en composé phénolique et l'activité antioxydante, en effet l'extrait *n*-butanol est plus riche en composés phénoliques (156,21±4,55) (**tableau V**) où l'acide gentsique est le composé majoritaire (23,29 mg/kg de poudre) suivi par l'extrait éthyle acétate (149,91±3,16) où 08 composés sont identifiés par HPLC-TOF-MS (**tableau IX**) en faible quantité donc l'activité est due probablement à l'effet synergique, puis par l'extrait chloroformique (102,48±3,25) où 03 composés seulement sont identifiés par HPLC-TOF-MS.

Donc ces résultats se justifieraient par la teneur variable et la diversité de molécules contenues d'un extrait à l'autre.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par (Arra Basma *et al*, 2011) sur les feuilles de *E.hirta* qui atteint une capacité réductrice avec une absorbance de 1,6 à 700 nm à 1 mg /ml et qui reste inférieur à celui du standard l'acide ascorbique qui est de 2,01 à 1 mg/ml.

Il a été rapporté que l'activité antioxydante de nombreux composé d'origine végétale est proportionnelle à la teneur en composés phénolique (Rive-Evans *et al.*, 1997)

On remarque que l'activité est dose dépendante est moindre que celle du standard

III.3.3. Test d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique :

L'inhibition de la peroxydation lipidique par un agent externe est souvent utilisée pour évaluer la capacité antioxydante.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant l'effet inhibiteur des extraits de la partie aérienne de trois espèces du genre *euphorbia* sur l'acide linoléique, le composé de référence utilisé est la BHT.

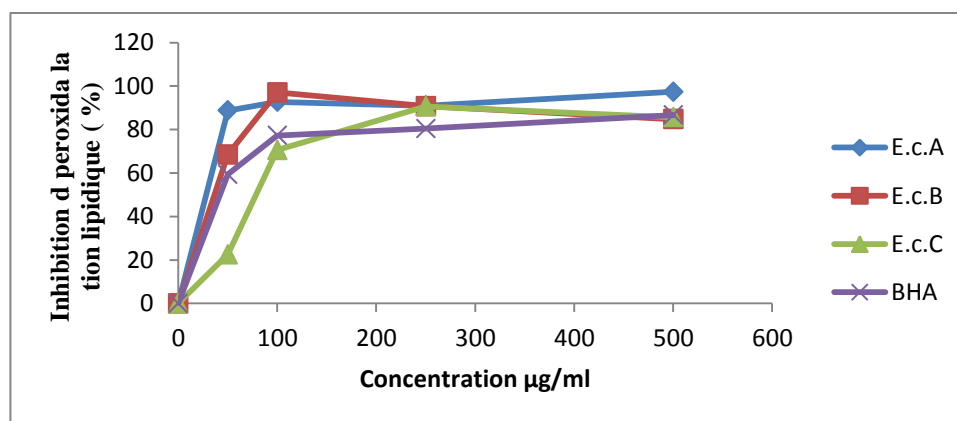


Figure 49 : Pourcentage d'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique des extraits de *E.cornuta Pers.*

Chez *E.cornuta Pers.* on remarque que le pourcentage d'inhibition de la peroxydation est meilleur au niveau de l'extrait éthyle acétate avec un pourcentage d'inhibition de 97,36 % à une concentration de 500 µg/ml qui est supérieure à celle du standard la BHT avec un

pourcentage d'inhibition de 86,65 % à la même concentration (**figure 48**), cet effet est peut être due aux composés phénoliques qu'il contient (15 composé détecté par HPLC-TOF-MS) (**tableau VII**), en effet le taux de composés phénoliques déterminé précédemment dans cet extrait à atteint ($433,32 \pm 20,56$) mg GAE/g d'extrait (**tableau V**), tandis que l'extrait chloroforme et *n*-butanol présente un effet inhibiteur presque équivalent qui est de 85,64 % et 84,80% respectivement et qui est presque similaire à celui exercé par la molécule de référence à la même concentration, l'analyse par HPLC-TOF-MS confirme les résultats obtenus

L'ordre d'efficacité est le suivant : éthyle acétate > BHT > chloroforme > *n*-butanol.

On remarque chez *E.cornuta* Pers. que Les résultats du pouvoir réducteur et l'effet anti-radicalaire de l'extrait chloroforme, éthyle acétate et *n*-butanol présentent un profil comparable aux études sur l'inhibition de la peroxydation lipidique.

L'activité antioxydante des flavonoïdes dépend fortement du nombre et de la position de groupement hydroxyle dans la molécule (**Sharma et Janmeda., 2014**).

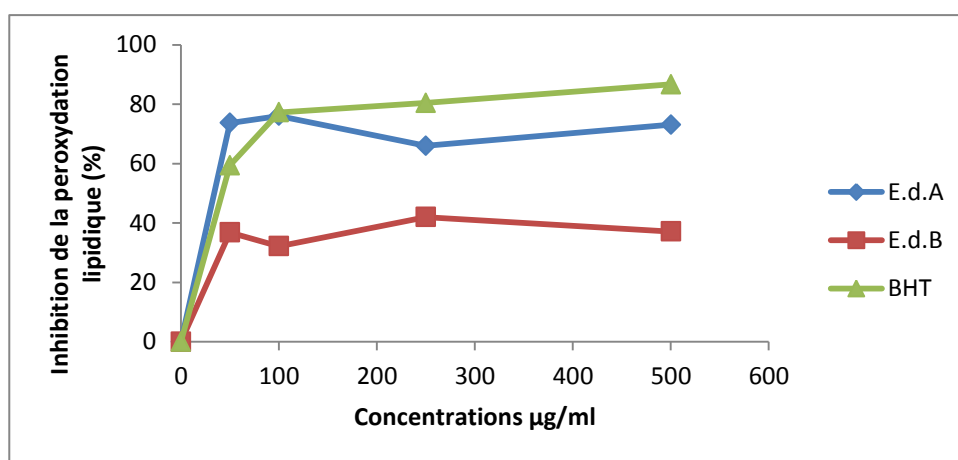


Figure 50 : Inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique des extraits de *E.dendroides* L. à différentes concentrations

L'extrait chloroforme chez *E.dendroides* L. et *E.helioscopia* L. se sont révélés inactifs et enregistre une valeur négative à une concentration de 500 µg/ml qui est de (- 140,24) et (- 28,38) respectivement, alors que l'extrait éthyle acétate et *n*-butanol enregistrent des valeurs positives deux hypothèses pourraient être émises pour expliquer leur inactivité : soit que cet extrait contiendrait peu ou pas de composés phénoliques du fait du caractère peu polaire du

chloroforme, soit que les polyphénols présent ne correspondraient pas à ceux possédant des propriétés antioxydante sur l'acide linoléique.

Chez *E.dendroides L.* l'extrait éthyle acétate présente un pourcentage d'inhibition plus important (73,11%) par rapport à celui de *n*-butanol qui est de 37,12 % (**figure 49**) cette activité est corrélé avec la teneur en polyphénols totaux qui est supérieur dans l'extrait éthyle acétate (929,51±20,1) par rapport à l'extrait *n*-butanol (164,25±16,40) (**tableau V**) et l'analyse par HPLC-TOF-MS (**tableau VIII**) révèle la présence de composés en quantité importante dans l'extrait éthyle acétate (l'acide gallique : 614,12 mg/kg de poudre ; l'acide gentsique : 33,61 mg/kg de poudre) par rapport à l'extrait *n*-butanol (l'acide gallique : 481,94 mg/kg de poudre ; l'acide gentsique : 1,25 mg/kg de poudre) , alors que chez *E.helioscopia L.* l'extrait *n*-butanol est plus efficace que celui de l'éthyle acétate (30,66 %) avec un pourcentage d'inhibition de 44,38 % (**figure 50**) l'analyse par HPLC-TOF-MS montre la différence de composition entre les extraits où l'acide gentsique est le composé majoritaire avec un taux de 23,29 mg/kg de poudre dans l'extrait *n*-butanol et contre une teneur de 5,95 mg/kg de poudre dans l'extrait éthyle acétate (**tableau IX**)

L'activité de nos extraits (éthyle acétate et *n*-butanol) reste inférieure à celle exercée par le standard BHT à la même concentration.

Cette inhibition de la peroxydation lipidique suit le même ordre que celui des teneurs en composé phénolique et en flavonoïdes chez *E.dendroides L.* et *E. helioscopia L.*

En générale, les extraits éthyle acétate (EtOAc) sont les plus actifs que les extraits chloroforme et *n*-butanol donc ce sont les extraits les plus polaires qui ont le potentiel antioxydant le plus marqué.

Les composés phénoliques et flavonoïdes semble avoir un rôle important dans la stabilisation de l'oxydation des lipides et être associé avec l'activité antioxydante (**Duh et al., 1999 ; Zheng et Shetty, 1999 ; Yanishlieva-Maslarova,2001**)

L'utilisation de trois tests antioxydants différents nous a permis d'avoir une meilleure lecture de l'activité antioxydante de nos extraits.

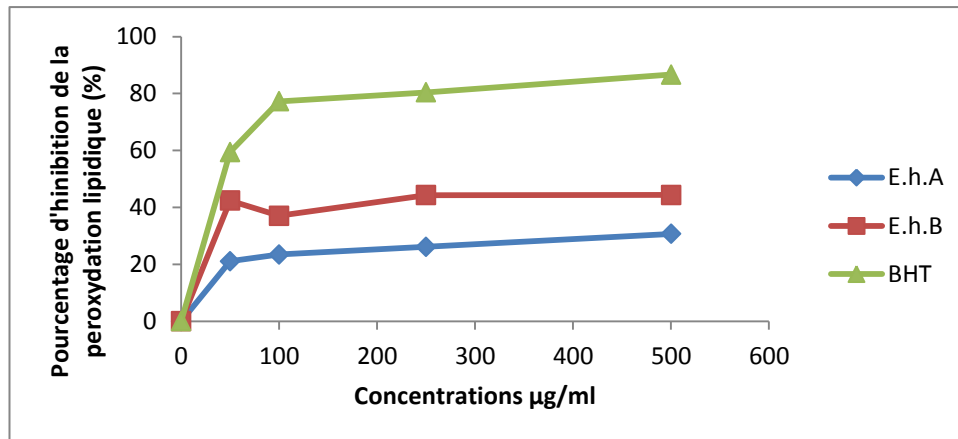


Figure 51 : Pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique à différentes concentrations des extraits de *E. helioscopia L.*

III.4. L'activité anti-proliférative des extraits :

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde, Dans les pays industrialisés, il constitue la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaires (OMS, 2006). Selon des projections de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), d'ici 2020 le nombre de décès dû au cancer va connaître une augmentation considérable dans les pays en développement, aussi bien en Asie, en Afrique qu'en Amérique Latine et ce, principalement en raison du vieillissement constant de la population humaine et de l'augmentation de la pollution (**Rastogi et al., 2004**).

Notre étude a pour but d'évaluer le potentiel anti-tumoral *in vitro* des extraits de la partie aérienne de trois espèces du genre *Euphorbia*. Les extraits ont été préparé de façon successive avec des solvants de polarité croissante (chloroforme, éthyle acétate, *n*-butanol), l'inhibition de la croissance cellulaire de ces extraits a ensuite été évaluées *in vitro* sur deux lignée cellulaires cancéreuses différente : la lignée HeLa (cellule cancéreuse humaine de l'utérus) et la lignée C6 (cellule cancéreuse de cerveau chez le rat)

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antiproliférative est présenté dans le chapitre III, alors que les résultats sont présentés aux **figures (51 à 62)**.

Sur la lignée cellulaire C6 l'activité est évaluée selon la méthode BrdU ELISA assay à trois concentration différente (250 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml) et le composé de référence utilisé est le 5- fluoracil.

Alors que sur la lignée HeLa c'est la méthode xCELLigence RTCA (Analyse Cellulaire en Temps Réelle) qui est adopté. Cet instrument utilise basé sur une mesure d'impédance permettant d'obtenir des informations qualitatives et semi-quantitatives sur l'état biologique des cellules pour faire une analyse dynamique, en temps réel (mesures sur plusieurs jours, 24h/24) et sans marquage, non invasive des événements cellulaires comprenant le changement du nombre de cellules, l'adhésion cellulaire, la viabilité, la morphologie et la motilité cellulaire (**Ke et al., 2011; Moodley et al., 2011; Solly et al., 2004**).

De très nombreuses études sur les propriétés cytotoxiques et anti-tumorales d'extraits végétaux ont montré des résultats variables en fonction des lignées cellulaires utilisés.

L'activité anti-proliférative des extraits de *E.cornuta Pers.* (E.c.C, E.c.A, E.c.B) et le 5-FU a été déterminés contre les cellules C6 (**Figure 51,52,53 ,54**), Les valeurs de L'IC₅₀ et L'IC₇₅ des extraits sont reportées dans le **tableau X**.

L'activité anti-proliférative de l'ensemble des extraits augmentent en fonction de l'augmentation de la dose contre les cellules C6 (**figure 51**).

E.c.C montre un effet anti-prolifératif supérieure au 5-FU contre les cellules C6 à 250 µg/ml (**figure 51**), toutefois l'extrait E.c.A enregistre une bonne activité anti-proliférative comparé avec le standard à une concentration de 250 µg/ml alors que l'extrait *n*-butanol a montré une activité plus faible.

La capacité d'inhibition à 250 µg/ml contre les cellules C6 est : **E.c.C > 5-FU > E.c.A > E.c.B**.

Sur la lignée cellulaire HeLa L'activité antiproliférative la plus élevée a été observée toujours avec l'extrait chloroforme qui est actif avec un effet anti-prolifératif observée uniquement à 250 µg/ml (**figure 53**) alors que la cytotoxicité est faible à 100 µg/ml et 50 µg/ml tandis que l'extrait éthyle acétate (**figure 52**) et *n*-butanol (**figure 54**) ne montrent aucun effet inhibiteur de la prolifération des cellules cancéreuses aux concentrations testées.

Quelques composés phénoliques (les acides phénoliques, les flavonoïdes, les quinones, les coumarines) ont prouvé une activité antioxydante efficace et ont également eu des activités anti-cancéreuses, anti-carcinogéniques et anti-mutagénique (**Ho et al., 1994; Owen et al., 2000; Yang et al., 2001; Tapiero et al., 2002**).

Les composés phénoliques peuvent empêcher la carcinogenèse en affectant les événements moléculaires dans le déclenchement, la promotion et les étapes de progression (Yang *et al.*, 2001)

Ce résultat peut être expliqué par la composition révélée par l'analyse par HPLC-TOF-MS des extraits de *E.cornuta* parmi les composés identifiés et quantifiés seulement dans l'extrait chloroforme on trouve l'acide vanillique, l'acide 4-hydroxybenzaldéhyde et la naringénine qui sont à l'origine l'activité anti-proliférative

Ghanadian *et al.*, 2012 ont isolé quatre flavonoïdes à partir de la partie aérienne de *E. microsciadia* parmi lesquelles la quercetin 3-O- β -D-galactopyranoside (Q3Gal) and myricetin 3-O- β -D-galactopyranoside (M3Gal) ont exercé l'effet anti-prolifératif des lymphocytes le plus important et ont conclu que les flavonoïdes avec un groupe hydroxyle en position 3' et 4' dans le cycle $-\beta$ (Q3Gal) sont plus actifs que ceux en position 3'-4'- et 5'-OH substitution (M3Gal).

Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs dont les travaux de Shekofteh *et al.*, 2017 qui ont travaillé sur l'effet anti-cancéreux de l'extrait hexane de trois espèces du genre *Euphorbia* ils ont observé que l'extrait *E. microsciadia* à 50 $\mu\text{g/ml}$ induit l'apoptose des cellules cancéreuses de la lignée *Hela* (carcinome du col de l'utérus) à 68% alors que l'extrait de *E. heteradenia* induit l'apoptose des cellules K562 (leucémie myéloïde) à 99 % à 100 $\mu\text{g/ml}$, aussi l'extrait de *E. osyridea* induit l'apoptose des cellules *Fen* (carcinome de la vessie) à 86%, la différence d'activité est expliquée par la présence de composés qui exercent différents modes d'actions ou c'est la concentration des composés présents dans ces extraits qui peuvent affecter les résultats obtenus

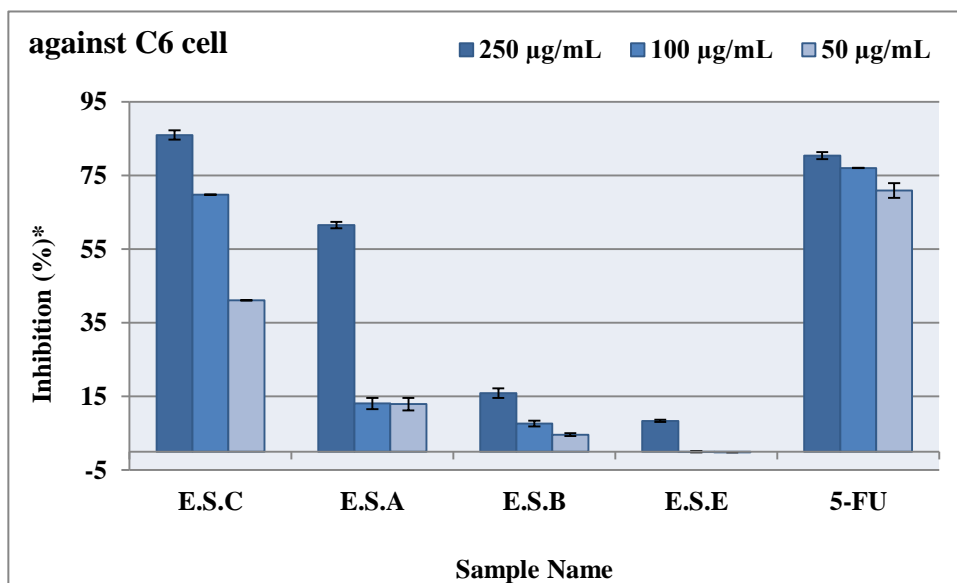


Figure 52: L'activité anti-proliférative des extraits *Euphorbia cornuta* contre les cellules C6 ; chaque substance est testé deux fois en triple contre la lignée cellulaire ; les donnés montrent la moyenne de deux expérience individuelle (P<0.01).

Tableau X. Valeurs d'IC₅₀ et IC₇₅ des extraits de *E. cornuta pers* contre les cellules C6.

	E.c.C	E.c.A	E.c.B
IC ₅₀	*	139.45	107.74
IC ₇₅	127.59	198.25	178.60

*<50 µg/mL

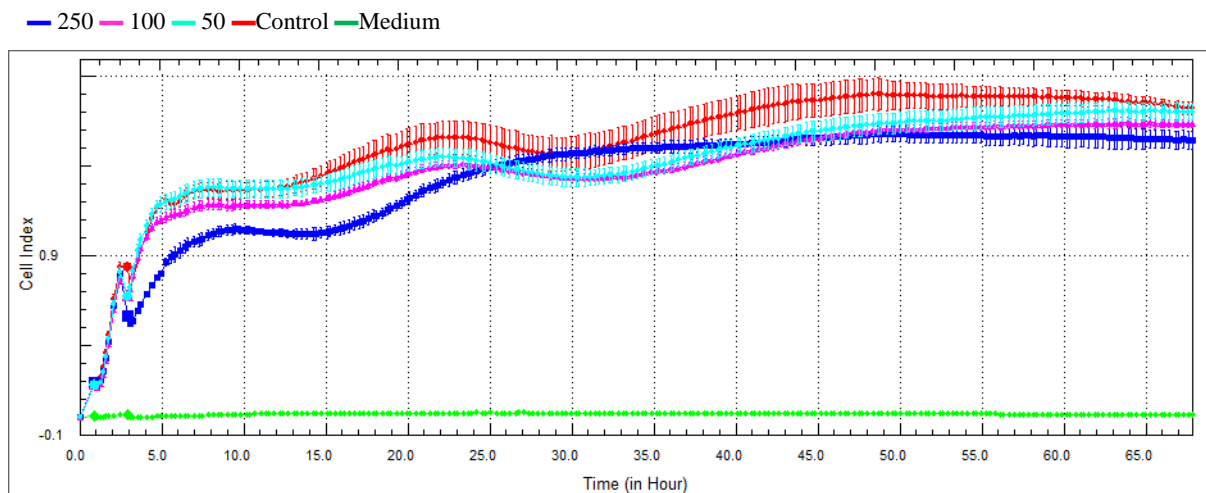
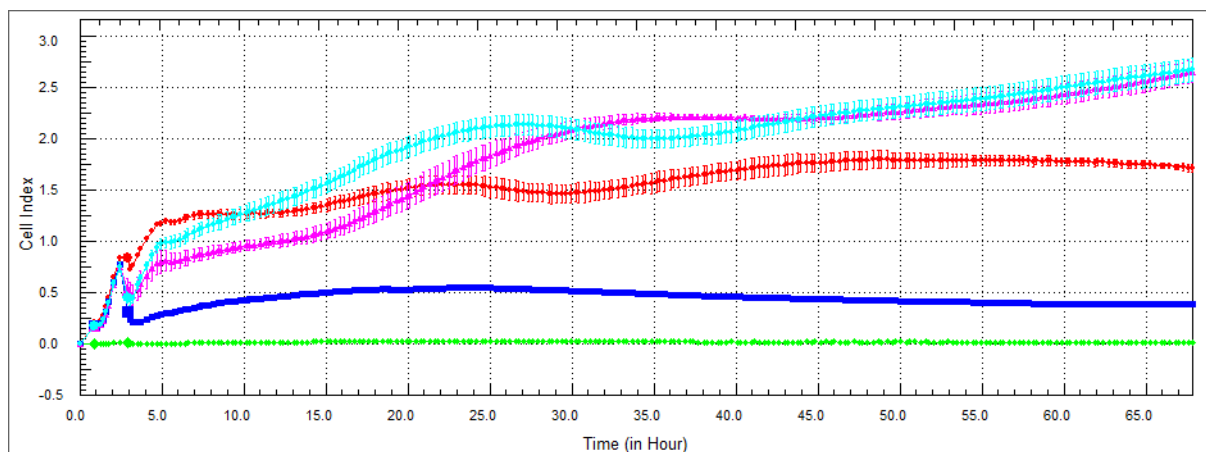


Figure 53: Activité antiproliférative conte la lignée HeLa de l'extrait E.c.A



— 250 — 100 — 50 — Control — Medium

Figure 54 : Activité antiproliférative contre la lignée HeLa de l'extrait E.c.C

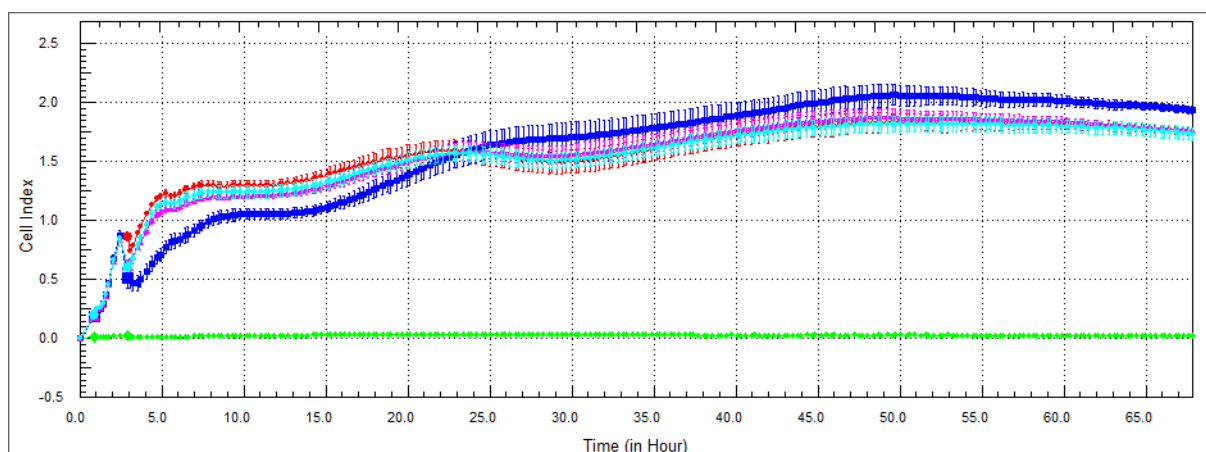


Figure 55 : Activité antiproliférative contre la lignée HeLa de l'extrait E.c.B

L'activité anti-proliférative de E.d.C, E.d.A, E.d.B et le 5-FU a été déterminé contre les cellules C6, les valeurs de IC₅₀ et l'IC₇₅ sont reportés dans le **tableau XI**.

L'activité anti-proliférative contre les cellules C6 augment avec l'augmentation de la dose pour tous les extraits (**figure 55**), les meilleurs résultats sont obtenus avec l'extrait chloroformique avec une IC₅₀ de 113,97 µg/ml suivi par l'extrait éthyle acétate avec une IC₅₀ de 119,49 µg/ml, E.d.C et E.d.A montrent une activité anti-proliférative supérieure au standard 5-FU à la concentration 250 µg/ml, toutefois l'extrait *n*-butanol révèle une activité anti-proliférative modéré comparer avec le standard

La capacité d'inhibition à 250 µg/ml contre les cellules C6 est : **E.d.C**~ **E.d.A**> 5-FU> **E.d.B**.

Et sur la lignée cellulaire HeLa tous les extraits chloroforme, éthyle acétate et *n*-butanol (**figure 56, 57, 58**) respectivement possèdent une cytotoxicité à la plus forte concentration (250 µg/ml) néanmoins cette cytotoxicité est faible à 100 µg/ml et 50 µg/ml

On remarque d'après nos résultats que l'effet des extraits est différent en fonction de la lignée cellulaire, sur la lignée C6 l'extrait *n*-butanol possède la plus faible activité qui peut être expliqué par une teneur en flavonoïdes totaux inférieure ($7,83\pm 0,12$) (**tableau VI**) à celle obtenue dans l'extrait chloroforme et éthyle acétate ($12,16\pm 0,2$; $26,04\pm 0,3$) respectivement alors que sur la lignée HeLa les extraits possèdent une activité similaire l'analyse par HPLC-TOF-MS a révélée un profil chromatographique proches et renferment majoritairement des acides phénoliques dont l'acide gallique et l'acide chlorogénique sont les composés les plus majoritaires dans tout les extraits (**tableau VIII**).

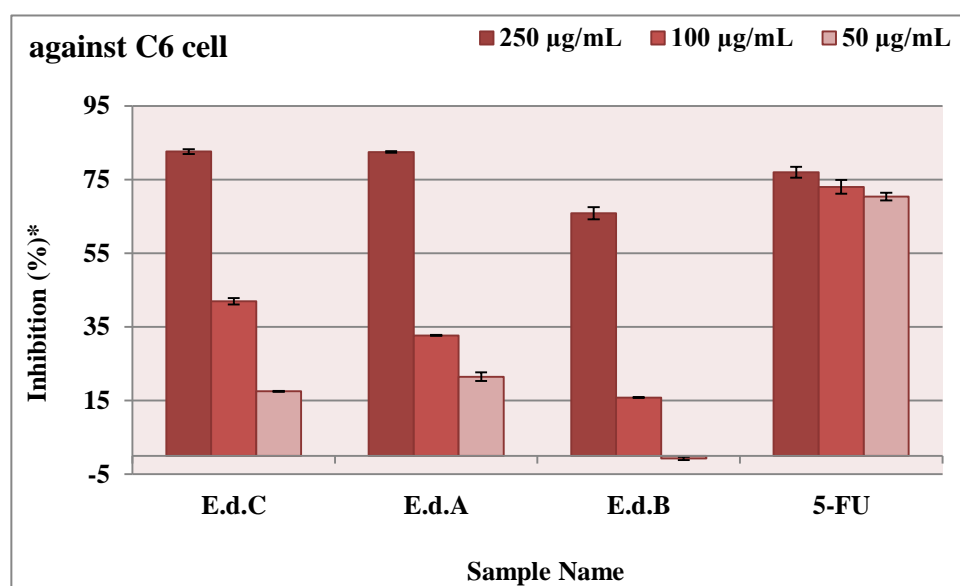


Figure 56: L'activité anti-proliférative des extraits *Euphorbia dendroides* .L contre les cellules C6 ; chaque substance est testé deux fois en triple contre la lignée cellulaire ; les donnés montrent la moyenne de deux expérience individuelle ($P < 0.01$).

Tableau XI: Valeurs d'IC₅₀ et IC₇₅ des extraits d'*E.dendroid.L* contre les cellules C6

	E.d.C	E.d.A	E.d.B
IC ₅₀	113.97	119.49	151.18
IC ₇₅	179.96	185.74	200.62

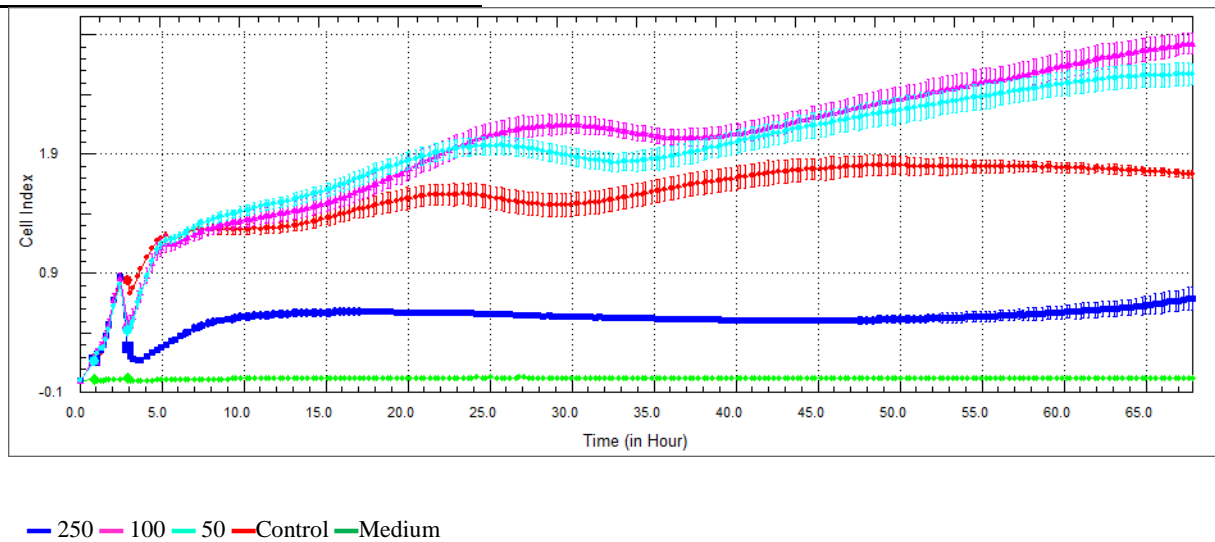


Figure 57 : Activité antiproliférative contre la lignée HeLa E.d.C

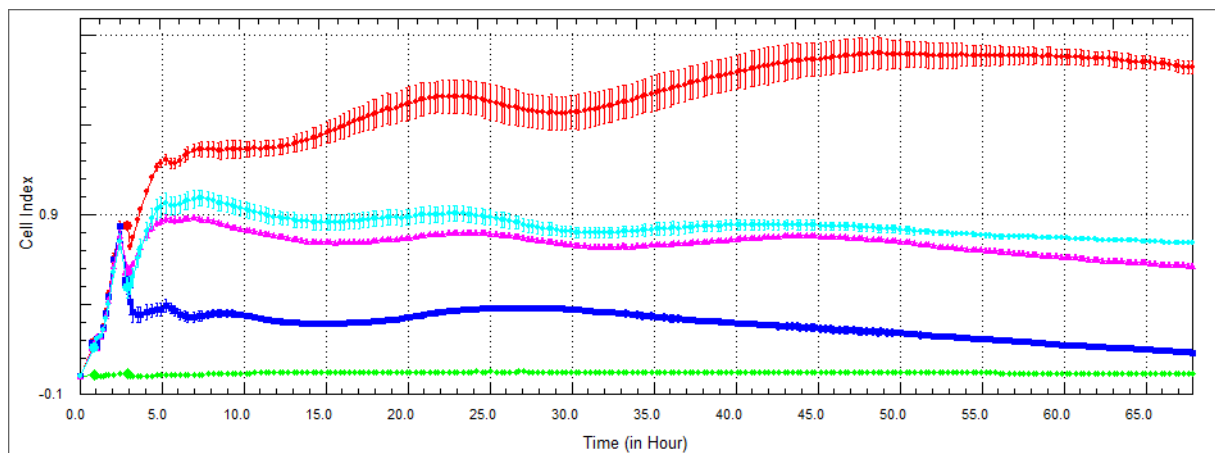


Figure 58 : Activité antiproliférative contre la lignée HeLa E.d.A

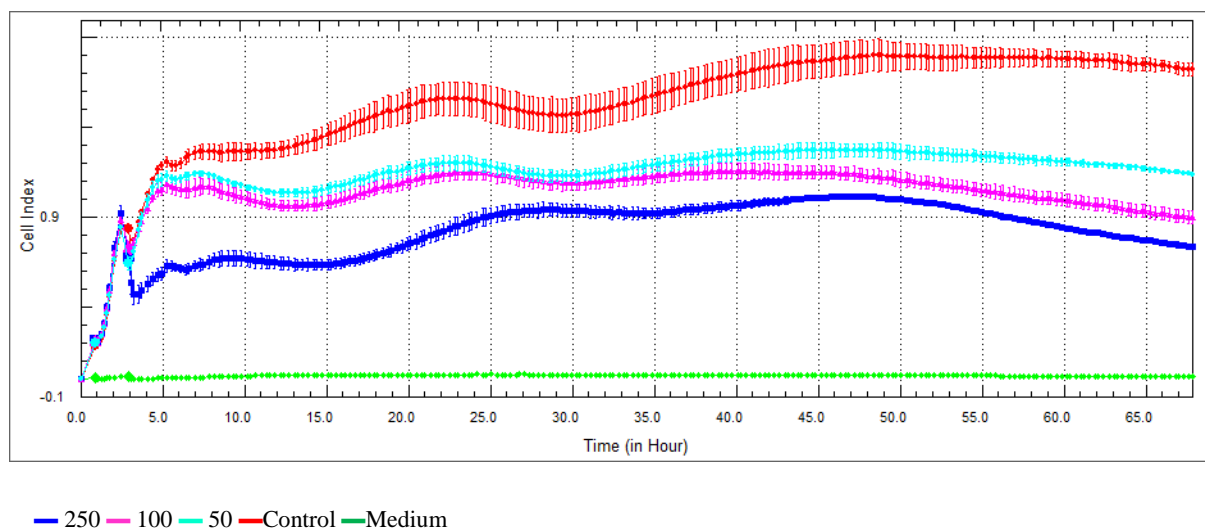


Figure 59 : Activité antiproliférative contre la lignée HeLa E.d.B

Chez *E.helioscopia L.*, l'activité anti-proliférative de E.h.C, E.h.A, E.h.B et le 5-FU a été déterminé contre les cellules C6, les valeurs de IC50 et l'IC75 sont reportés dans le **tableau XII**.

L'activité anti-proliférative contre les cellules C6 augmentent avec l'augmentation de la dose pour tous les extraits, l'extrait éthyle acétate est le plus actif avec un effet anti-prolifératif intéressant (**figure 59**) suivi par l'extrait chloroforme avec une IC50 < 50µg/ml, E.h.A et E.h.C montrent une activité anti-proliférative supérieure au standard 5-FU à la concentration 250 µg/ml.

La capacité d'inhibition à 250 µg/ml contre les cellules C6 est : **E.h.A > E.h.C > 5-FU > E.h.B**.

Sur la lignée cellulaire HeLa toujours les deux extraits chloroforme et éthyle acétate (**figure 62 et 60**) présentent une meilleure activité mais uniquement à forte concentration (250 µg/ml) ces résultats sont confirmés par l'analyse par HPLC-TOF-MS qui révèle la présence de 08 composé dans l'extrait éthyle acétate ce qui explique sa forte activité ou l'acide gentisique est le composé majoritaire et 03 composé ont été identifiés dans l'extrait chloroforme (**tableau IX**)

Toutefois l'extrait *n*-butanol (**figure 61**) présente une très faible activité comparé avec le standard sur les lignées cellulaires C6 et HeLa pour toutes les concentrations testées.

L'étude de l'activité antiprolifératives nous a clairement montré que l'extrait *n*-butanol en avait pratiquement aucune activité sur la prolifération cellulaire globale des lignées cellulaires étudiées bien que contenant des flavonoïdes et des polyphénols ceci pourrait s'expliquer par : la glycosilation des flavonoïdes bloquerait leur entrée dans les cellules cancéreuses d'où inactivité de l'extrait. En effet les flavonoïdes sont généralement cytotoxiques mais cette efficacité dépend d'une part de leur glycosilation éventuelle et d'autre part de leur degré de méthylation (**Kouamé et al., 2009**) donc la structure des flavonoïdes présent dans l'extrait *n*-butanol chez les trois espèces du genre *Euphorbia* ne correspondrait vraisemblablement pas à celle des flavonoïdes à activité cytotoxiques.

Ces résultats corroborent ceux obtenus par d'autres auteurs. **Wang et al., 2012**, a obtenus les mêmes résultats avec les extraits (chloroforme , éthyle acétate, *n*-butanol) avec le même procédé d'extraction chez *E.helioscopia L.* sur 05 lignée de cellules cancéreuses humaines SMMC-7721, BEL-7402, HepG2, lignées cellulaires du carcinome gastrique SGC-7901 et la lignée cellulaire du cancer colorectal SW480)

Ils ont trouvé que E.h.B (extrait *n*-butanol de *E.helioscopia*) exerce aucun effet inhibiteur sur toutes les lignées cellulaires étudiées mais E.h.A (l'extrait éthyle acétate) et E.h.C (extrait chloroforme) sont beaucoup plus actives : Après traitement avec une concentration de 150 and 200 µg/mL en utilisant les cellules SMMC-7721 pour 72 h, EAE (l'extrait d'éthyle acétate) à inhibé la croissance cellulaire à 77.47 et 80.91%, respectivement, par contre CE (l'extrait chloroformique) inhibe la croissance cellulaire à 40.91 et 51.76% respectivement.

D'après **Wang et al., 2012** le composé active majoritaire responsable de l'activité anti-tumoral après analyse par HPLC dans l'extrait éthyle acétate est la quercétine.

Les résultats rapporté par **yang et al., 2008** suite à l'étude de l'activité anti-tumoral contre la lignée LA795 chez *E.helioscopia L.* suite à l'analyse par HPLC dix composés ont été isolés dont l'acide gallique est le composé majoritaire qui exerce le plus fort pouvoir anti-tumorale.

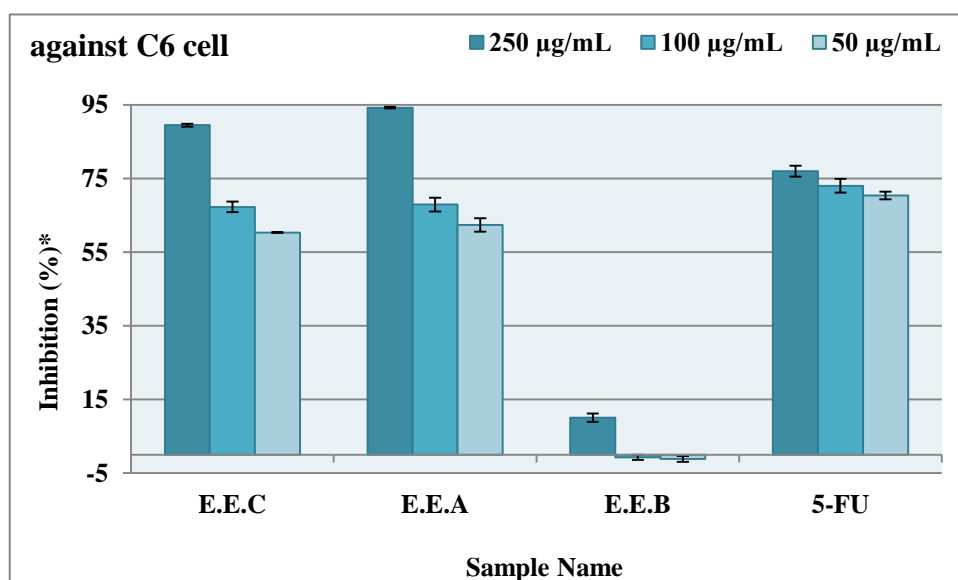


Figure 60: L'activité anti-proliférative des extraits *Euphorbia helioscopia L.* contre les cellules C6 ; chaque substance est testé deux fois en triple contre la lignée cellulaire ; les donnés montrent la moyenne de deux expérience individuelle (P<0.01).

Tableau XII: Valeurs d'IC₅₀ et IC₇₅ des extraits de *E.helioscopia.L* contre les cellules C6.

	E.h.C	E.h.A	E.h.B
IC ₅₀	*	*	171.98
IC ₇₅	97.35	107.74	214.05

*<50 µg/mL

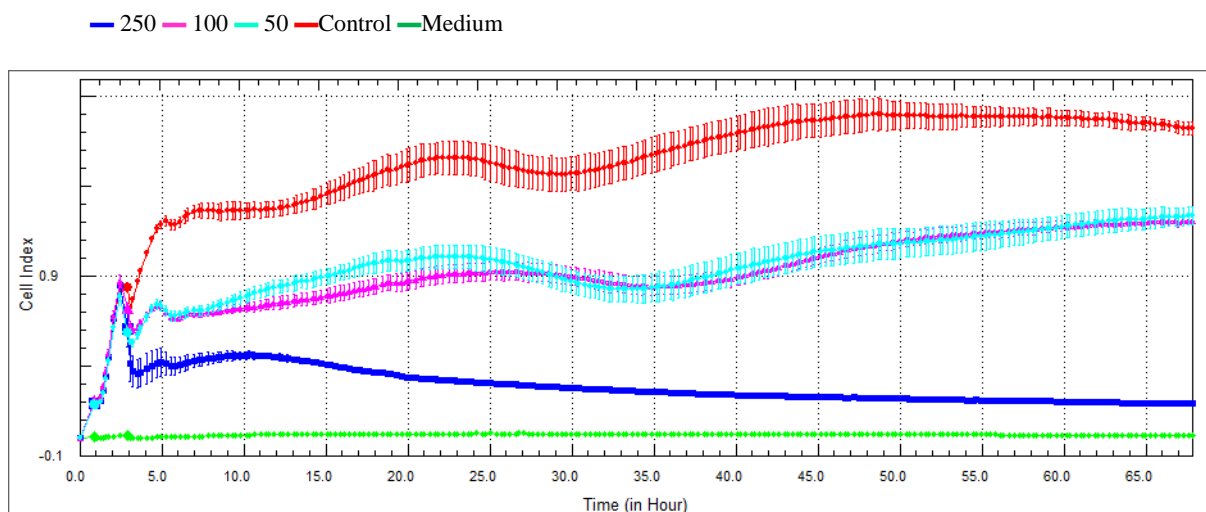
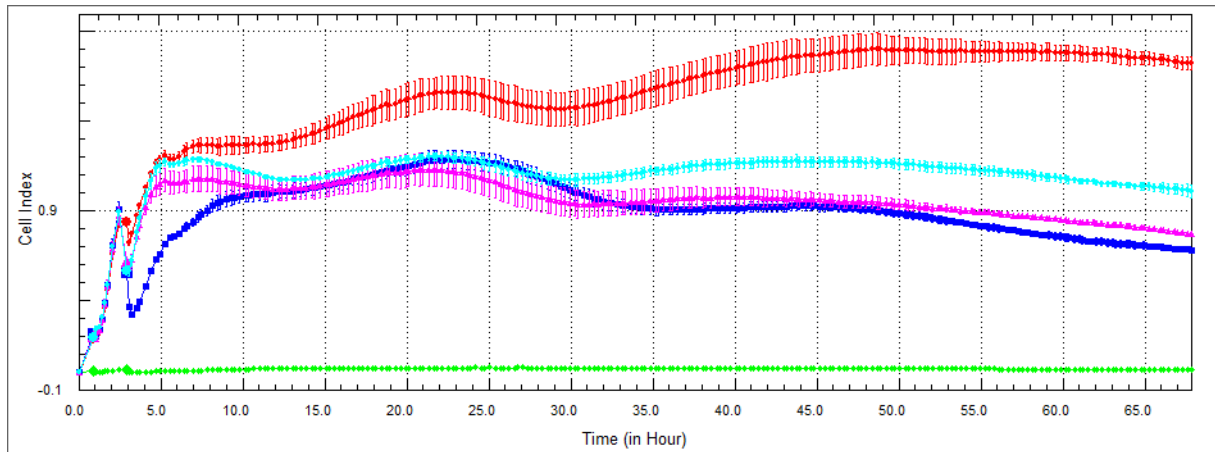
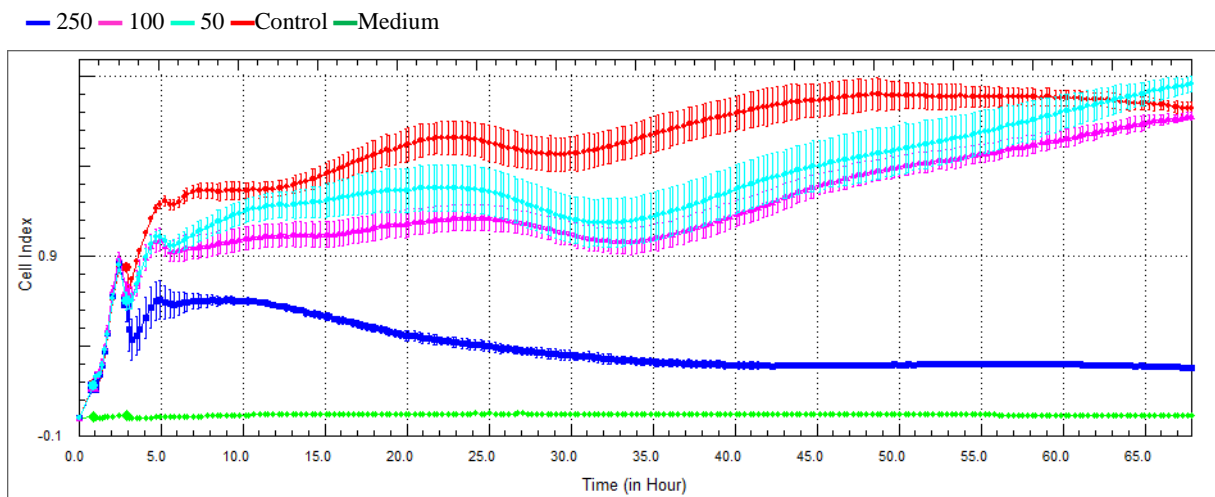


Figure 61 : Activité anti-proliférative sur la lignée HeLa de l'extrait E.h.A



— 250 — 100 — 50 — Control — Medium

Figure 62 : Activité anti-proliférative sur la lignée HeLa de l'extrait E.h.B



— 250 — 100 — 50 — Control — Medium

Figure 63 : Activité anti-proliférative sur la lignée HeLa de l'extrait E.h.C

III.5. Les huiles essentielles de *S. olusatrum* L. :

III.5.1. Le rendement des trois huiles essentielles de *S. olusatrum* L. durant les trois stades végétatif de la plante :

Nous avons entrepris une étude pour évaluer la variation de la composition chimique de l'huile essentielle en fonction du cycle végétatif : nous avons suivi la composition chimique de l'huile essentielle en fonction de l'évolution végétative de la plante du repos hivernal de la plante jusqu'à la floraison : Stade végétatif (fin Décembre), stade de floraison (mi-Février) et stade pleine floraison (début Mars).

La variation du rendement en huile essentielle des parties aériennes de *S. olusatrum* L. avec les trois stades de croissance est présentée dans le tableau 2 (annexe).

Un changement important dans le rendement en huile essentielle était observé au cours des différents stades de croissance. Pendant le début du cycle végétatif, le rendement en huile essentielle était de 0,069% au début du stade de floraison, le rendement a augmenté et atteint 0,071% au stade de la pleine floraison il a considérablement augmenté pour atteindre 0,170% (**figure 63**).

La variation du rendement en huile essentielle peut être attribuée à de nombreux facteurs, tels que le facteur génétique, le stade de développement, la méthode d'extraction et les conditions pédoclimatiques

Il semble que le rendement en huile essentielle au cours de la croissance de la plante est particulièrement sensible aux conditions environnementales (la lumière, la disponibilité des nutriments et la longueur du jour) .

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Marongiu et al., 2012** concernant *S. olusatrum* L. récoltée en Portugal et en Italie a enregistré un rendement de 0,4% pour les ombelles fleuries et de 0,5 à 0,6% pour les ombelles mûres extraites par hydrodistillation alors que le rendement d'extraction au CO₂ supercritique (SFE) était de 1,4% et de 1,4-2,2%, respectivement

Nos résultats restent inférieurs également à ceux obtenus par **Daroui-Mokaddem et al., 2010** sur l'espèce *S. olusatrum* L. récoltée en Algérie qui a obtenue un rendement de 1,2% suite à l'hydrodistillation des feuilles et des tiges

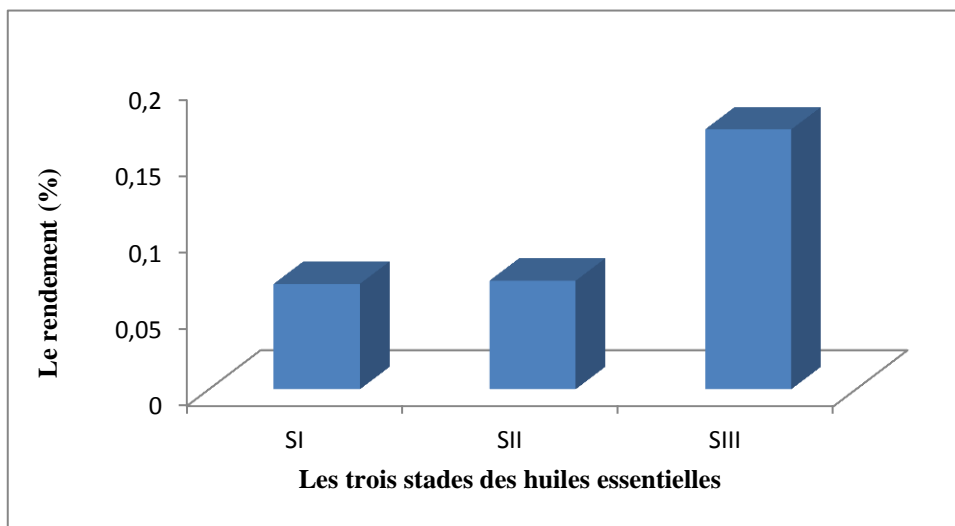


Figure 64 : Représentation du pourcentage des rendements des huiles de *S. olusatrum L.* durant les phases de croissance.

III.5.2. Composition chimique des trois huiles essentielles de *S. olusatrum L.* durant les trois stades végétatifs de la plante :

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des différentes parties aérienne de *S. olusatrum L.* durant les trois stades végétatifs (avant la floraison, pleine floraison, et à la fin de la floraison) ont été analysées par GC-MS et nous a permis l'identification de 23 composés.

Les trois huiles essentielles et leur composition chimiques sont présentées dans le **tableau XV** les composés obtenus sont listés selon leur ordre d'élution dans la colonne.

L'identification des composés est réalisée en comparant leur spectre de masse (SM) et leur indice de rétention avec ceux de la banque des donnés.

La composition chimique de l'huile essentielle de *S. olusatrum L.* varie en fonction de son stade de développement.

Au début du cycle végétatif, 14 composés ont été séparés et identifiés représentant 73,76 % de la composition totale de l'huile, le composé majoritaire était Isogermafurene (24,43%), certains composés sont apparus uniquement durant cette première phase est disparaissent parmi lesquelles : γ -Muurolene (3.10 %), Eremophilene (3.96 %), β -Ionone (2.31%),

Aromadendrene oxide (3.56%), Palmito- γ -lactone (3.62%), Isoaromadendrene epoxide (2.61%), Hexahydrofarnesyl acetone (2.76%), Spiro[4.5]decan-7-one, 1,8-dimethyl-8,9-epoxy-4-isopropyl- (0.80%) (**tableau XIII**)

En ce qui concerne le début de stade de floraison la composition de l'huile essentielle est différente d'un point de vue qualitatif à celle observée dans le stade végétatif, avec une apparitions de nouveau produit parmi lesquelles : Beta-elemene (3.64 %), Phytol (6.59%) et les composés communs possèdent des taux variable par contre l' Isogermafurene reste le produits majoritaires avec un taux de 67,18%, d'autre part, l'huile produite au stade de la pleine floraison était caractérisée par : Myrcene (0.73%), Sabinene (1.33%), beta-Cubebene (3.61%), 2-Furanpropanoic acid, tetrahydro- α -(1-naphthalenylmethyl)-5-oxo- (1.02%), 2-(2,5-Dimethoxyphenyl)cyclohex-2-enone (2.26%), Deoxynivalenol (0.99%).

On constate que uniquement trois composés sont commun entre les trois phase de croissance avec des taux différent (Caryophyllene, gamma-Elemene, Isogermafurene).

Ces huiles sont différentes par la quantité relative de leur composant majoritaire, nous avons constaté que L'Isogermafurene était toujours le principale composé (24,43 %, 67,18 %, 79,04 %).

D'après nos résultats, il semble que la composition chimique de l'huile essentielle de *S. olusatrum L.* varie de manière significative avec les stades physiologiques de la plante. Tout au long de la vie végétative *S. olusatrum L.* produit trois type d'huile essentielle qui différent en fonction du pourcentage et de leur classes de composés.

En effet, ces huiles essentielles ont été récoltée durant des phases de croissances différente, la divergence observé au niveau de la composition chimique des huiles essentielles peut être la résultante d'une différence des niveaux de biosynthèse des enzymes intervenant dans la formation des mono terpènes, l'implication des facteurs héréditaires dans le processus n'est pas à exclure (**Mokaddem-Daroui ,2011**)

La composition chimique de l'huile essentielle de *S. olusatrum L.* varie au sein de la même espèce, la variation de la composition chimique des huiles essentielles peut être due à de nombreux facteurs, tels que les facteurs génétiques, les stades phénologiques, les conditions environnementales et les conditions climatiques.

En comparant nos données avec la littérature, nous notons la variabilité de la composition des huiles de *S. olusatrum* L., en fonction de l'origine des plantes

La composition des huiles essentielles de *S. olusatrum* L. récolté en Angleterre est décrit par **Molleken et al., (1998a)** qui a rapporté la présence de β -phellandrene (20.4%), limonene (11.8%) et furanosesquiterpenoids (49.0%) comme composés majoritaires de la racine

Alors que la plante qui croit dans Urbino (Marche, Italy) étudié par **Bertoli et al., (2004)**, a rapporté que les constituant principaux : la β -phellandrene(34.4%), l'isofuranodiene (16.9%), curzerene (12.1%) pour les racine , et l' isofuranodiene (19.3%), curzerene et myrcene (14.4%) pour les feuilles.

Daroui-Mokaddem et al. (2010) a analysé l'huile obtenue à partir des feuilles récolté en Algérie a détecté : sabinene (27.1%), curzerene (13.7%) et methyl-1-benzyl-2-oxocyclooctane (12.3%) sont les composés les plus abondants.

Les huiles essentielles obtenues à partir des fleurs et fruits de *S. olusatrum* qui croit en portugale et en Italie (Sardinia) sont étudiés par **Marongiu et al. (2011)**, ont rapporté que la β -phellandrene (67.3% ombelle fleurie ; 42,7 % ombelle en fructification) comme étant le composé majoritaire de la population Portugaise et α -pinene (31.9% ombelle fleurie ; 1,2 % ombelle en fructification) et 1β -acetoxyfurano-4(15)-eudesmene (8.3% ombelle fleurie ; 17,6% ombelle en fructification) comme étant les composés volatiles les plus abondant dans la population Italienne, en plus des composé commun entre les deux plantes tels que curzerene (5,2 –7,6%; 8,1 –11%), germacrene B (4,1– 6,0 % ; 3,1 – 4 ,5%) and β -elemene (2,3 – 2,2 % ; 1,0 –2,0%).

Les huiles essentilles des différentes partie de *S. olusatrum* L. suite à l'analyse par GC-MS **Maggi et al., 2012** ont confirmé la présence des furanosesquiterpenoides (54.1–76.2%) avec l'isofuranodiene (19,5– 45,8%) comme principale constituant.

Ces résultats renforcent les données précédentes apporté par la littératures sur la variabilité des huiles en fonction des origine de la plante et durant l'ontogénèse (**Baldovini et al., 2001; Bertoli et al.,2004; Molleken et al., 1998**).

Tableau XIII: Composition des l'huiles essentielles de *S. olusatrum L.*

Pic	Composés	Tr	SI	SII	SIII
1	Myrcene	14.356	-	-	0.73
2	Sabinene	15.925	-	-	1.33
1	γ -Muurolene	28.073	3.10	-	-
2	Eremophilene	28.406	3.96	-	-
1	Beta-elemene	28.426	-	3.64	4.04
3					
3	Caryophyllene	29.510	2.67	5.42	1.45
2					
4					
4	gamma-Elemene	29.709	2.16	3.61	5.53
3					
5					
5	β -Ionone	31.296	2.31	-	-
6	beta-Cubebene	31.500	-	-	3.61
6	Isogermafurene	31.757	24.43	67.18	79.04
4					
7					
5	Caryophyllene oxide	34.587	11.76	4.43	
7		34.592			
8	Aromadendrene oxide	35.275	3.56	-	-
9	Palmito- γ -lactone	35.477	3.62	-	-
6	Phytol	35.989	-	6.59	-
10	Isoaromadendrene epoxide	36.473	2.61	-	-
11	Hexahydrofarnesyl acetone	40.963	2.76	-	-
8	2-Furanpropanoic acid, tetrahydro- α -(1-	41.603	-	-	1.02

	naphthalenylmethyl)-5-oxo-				
7 15	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	41.881	4.99	2.16	
16 8	Eudesma-5,11(13)-dien-8,12-olide	42.657	5.03	3.59	
9	2-(2,5-Dimethoxyphenyl)cyclohex-2-enone	42.799	-	-	2.26
17	Spiro[4.5]decan-7-one, 1,8-dimethyl-8,9-epoxy-4-isopropyl-	42.925	0.80	-	-
10	Deoxynivalenol	43.964	-	-	0.99

III.5.3. Activités antiprolifératives de *S. olusatrum* L. :

Seules quelques études ont été réalisées sur l'activité biologique des huiles essentielles de l'espèce de *S. olusatrum* L.

Cependant l'huile essentielle des ombelles en floraison et des ombelles mures de *S. olusatrum* L. dominées par Isogermafurene (67,18 %, 79,04%) présente une activité modéré (**figure 64 et 66**) en comparaison avec la première phase de croissance qui exerce une meilleure activité antiproliférative sur la lignée HeLa (**figure 65**) cela peut être expliqué par la richesse de cet extrait en deux composés majoritaires qui sont l'isogemafurène (24,43%) et le caryophyllene oxide (11,76%) nous avons donc un effet synergique.

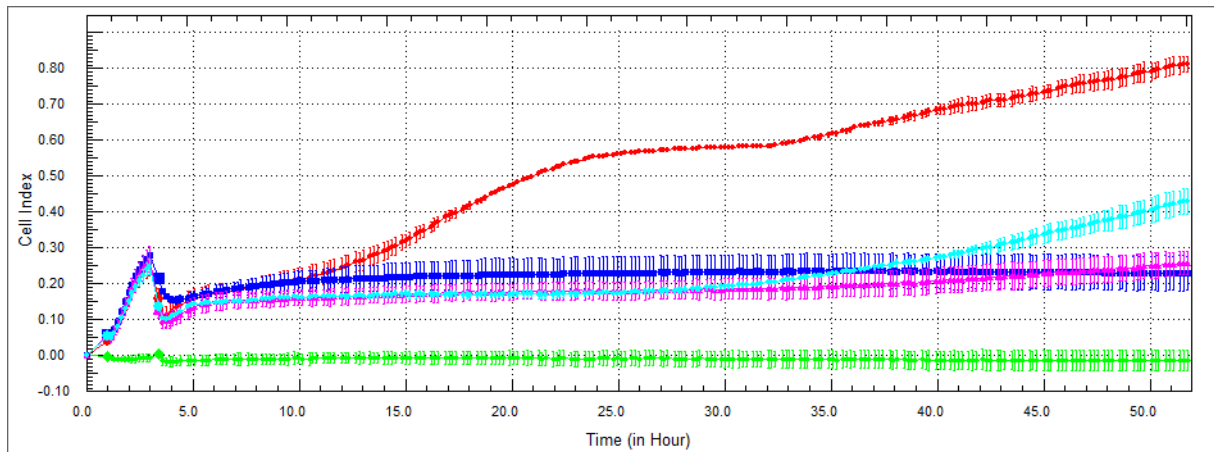
par contre sur la lignée C6 la phase SII est actif uniquement à 250 µg/ml (**figure 67**) cela s'explique par le nombre de composé détecté par GC-MS qui est de 08 composé alors que la plante en phase de pleine floraison (SIII) l'huile essentielle enregistre une grande activité à toutes les concentrations 50,100 et 250 µg/ml (IC₅₀ inférieure à 50µg/ml) car la quantité de l'isogemafuren le composé majoritaire est élevée (79,04%) aussi le nombre de composé détectée par GC-MS est supérieur à la phase SII (10 composés)

Mustafa et al., 2016 ont utilisé la lignée (PC-12) qui dérive du phéochromocytome chez le rat (tumeur rare des glandes surrénales) pour évalué l'activité cytotoxique par le test

MTT de l'isofuranodiène (composé majoritaire de *S. olusatrum L.*) à différente concentration (12,5 et 25 µg/ml) ainsi que la prolifération et la différenciation des cellules (PC-12) avec le test xCELLigence (TRCA) une analyse des cellules en temps réelle à été réalisé, l'isofuranodiène exerce une différenciation et une prolifération significative aux concentrations étudiées alors que le test MTT montre un effet anti-prolifératif moins important à faible concentration

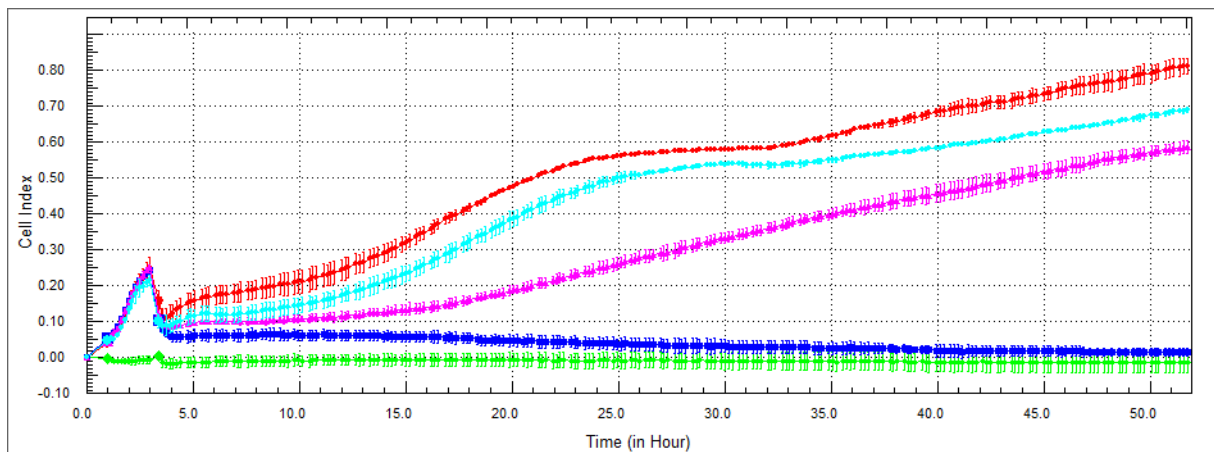
Buccioni et al., 2014 ont également évalué l'activité anti-cancéreuse de l'isofuranodiène isolé par cristallisation des huiles essentielles des fleurs de *S. olusatrum L.* par le test MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfenyl)-2H-tetrazolium], essai de la viabilité cellulaire en utilisant la lignée cellulaire de rein humain *HEK-293* (Human Embryonic Kidney) et deux lignées cellulaires tumorales mammaires MDA-MB 231 et BT 474 où l'isofuranodiène exerce une bonne activité anti-proliférative avec des IC₅₀ de 59 µM et 55µM respectivement alors que sur la lignée HEK-293 on remarque une activité modéré avec une IC₅₀ de 130µM où la mort cellulaire est induite par un mécanisme apoptotique

Quassinti et al., 2014 a travaillé sur l'activité antiprolifératif de la lignée cellulaire tumorale HCT116 (human colon carcinoma cells) par le test MTT (3-(4,5-dimethylthiozol-2-yl) 2-5 diphenyl-tetrazolium bromide) qui mesure la viabilité cellulaire de l'huile essentielle des fleurs de *S. olusatrum L.* récolté en Italie, l'analyse par GC-MS a révélé que l'isofuranodiène est le composé majoritaire (48%) suivi par le Germacrone (12,7 %) et d'autre furanosesquitérpenoides en faible quantité , l'isofuranodiène exerce une bonne activité anti-proliférative sur la lignée HCT116 avec une IC₅₀ qui est de 21.6 ± 0.82 µg/ml, la littérature à rapporté que l'isofuranodiène et le germacrone induit l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M et l'apoptose dans les cellules cancéreuses du sein et de foie (**Zhong et al., 2011 ; Liu et al., 2013**)



— 250 — 100 — 50 — Control — Medium

Figure 65 : Activité anti-proliférative de *S. olusatrum L.* en phase SII



— 100 — 50 — 10 — Control — Medium

Figure 66 : Activité antioroliférative de *S. olusatrum L.* en phase SI

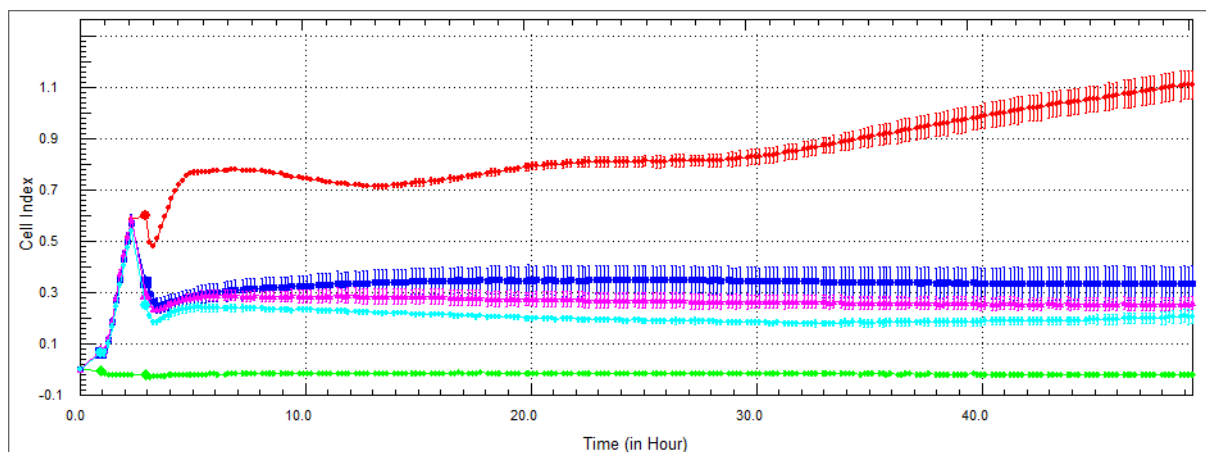


Figure 67: Activité antiproliférative de *S. olusatrum L.* en phase SIII

against C6 cell

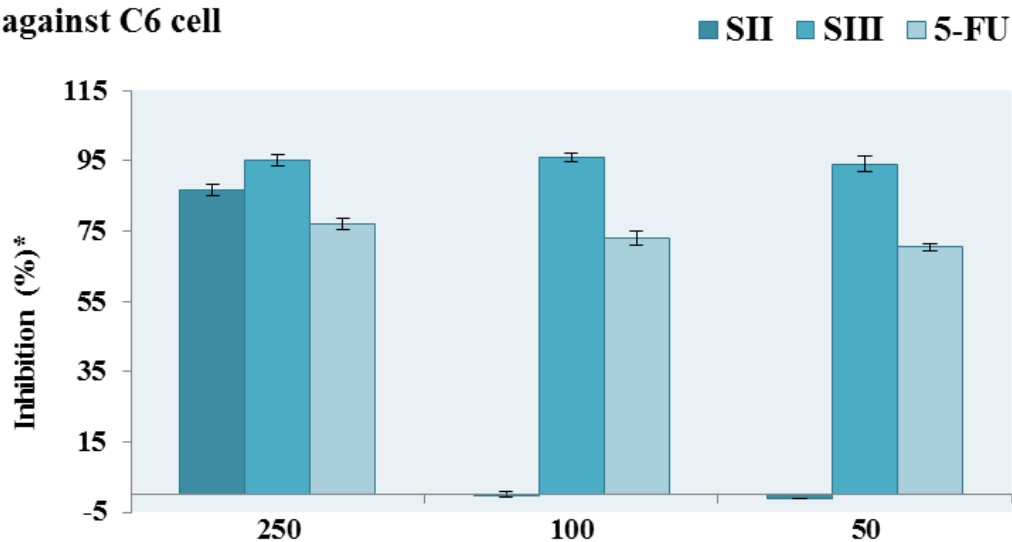


Figure 68: L'activité anti-proliférative des extraits *S. olusatrum L.* contre les cellules C6 ; chaque substance est testé deux fois en triple contre la lignée cellulaire ; les donnés montrent la moyenne de deux expérience individuelle (P<0.01).

Tableau XIV : Valeurs d'IC₅₀ et IC₇₅ des huiles essentielles contre les cellules C6

	S II	S III
IC ₅₀	164.85	*
IC ₇₅	210.83	*

*<50µg/ml

CONCLUSION

Conclusion

Notre étude s'inscrit dans le cadre d'une contribution à la valorisation des ressources naturelles, les résultats de nos recherches bibliographiques et de nos études expérimentales nous ont permis de mieux connaître certains effets thérapeutiques de trois espèces du genre *Euphorbia* (*E.cornuta Pers.* ; *E.dendroides L.* ; *E.helioscopia L.*)

La présente étude a permis de mettre en évidence par des tests validés l'activité antiproliférative et antioxydante des différents extraits bruts obtenus après une extraction par des solvants de polarité croissante.

Les résultats montrent que les différents solvants utilisés pour l'extraction possèdent une capacité différente pour l'extraction des phénols à partir de la poudre végétale. Nous avons constaté que la majeure partie des composés phénoliques de l'extrait brut de la partie aérienne des trois espèces du genre *Euphorbia* a tendance à se retrouver dans l'extrait *n*-butanol dont le taux d'extraction atteint une moyenne de 2,12 % chez *E.dendroides L.* et 1,33% chez *E.helioscopia L.* et 0,95 % chez *E.cornuta Pers.*

L'activité antioxydante de chaque extrait dépendait de la nature et de la puissance de leurs composés phénoliques. L'extrait éthyle acétate de *E.cornuta Pers.* et *E.dendroides L.* était plus concentré que les autres extraits en composés phénoliques ce qui expliquait son effet antioxydant plus efficace, il enregistre le meilleur effet scavenger contre le radical DPPH avec un taux de 85,35 % chez *E.cornuta Pers.* et 85,19 % chez *E.dendroides L.* Les résultats du pouvoir réducteur et l'inhibition de la peroxydation lipidique présentent un profil comparable à celui de l'effet anti-radicalaire.

Alors que chez *E.helioscopia L.* c'est l'extrait *n*-butanol qui est plus riche en composés phénoliques et enregistre une meilleure activité réductrice qui est de 1,396 à 1000 µg/ml et un grand effet inhibiteur sur la peroxydation lipidique qui est de 44,38 % à 500 µg/ml et inhibe le radical DPPH à 85,91 à 1M

Il est clair que le rôle des EOA n'est qu'un maillon de la chaîne pouvant expliquer la genèse du cancer, l'étude de l'activité anti-proliférative de l'ensemble des extraits augmente en fonction de l'augmentation de la dose contre les cellules C6 et qui est supérieure au standard 5-FU, chez *E.cornuta Pers.* et *E.dendroides L.* c'est l'extrait chloroforme qui est actif avec une IC50 inférieure à 50 µg/ml chez *E.cornuta Pers.* et de 113,97 µg/ml chez *E.dendroides L.* par contre chez *E.helioscopia L.* contre C6 c'est l'extrait éthyle acétate qui est le plus actif avec un effet anti-prolifératif intéressant.

Conclusion

Sur la lignée cellulaire HeLa, L'activité antiproliférative la plus élevée a été observée toujours avec l'extrait chloroforme qui possèdent une cytotoxicité à la plus forte concentration (250 µg/ml) chez *E.dendroides L.* et *E.cornuta Pers.* et *E.helioscopia L.*, on remarque que l'extrait *n*-butanol présente une très faible activité comparer avec le standard sur les lignée cellulaire C6 et HeLa pour toutes les concentrations testées chez les trois espèces bien que contenant des flavonoïdes et des polyphénols.

La comparaison des compositions chimiques des huiles essentielles de *S.olusatrum L.* obtenues à partir des trois stades de développement, montre des différences significatives

Chez *S.olusatrum L.* la variation de la composition chimique de l'huile essentielle en fonction du cycle végétatif on constate que trois composés sont communs entre les trois phases de croissance avec des taux différent (Caryophyllene, gamma-Elemene, Isogermafurene), le composé majoritaire étant L' sogermafurene avec un taux de 24,43 % Au début du cycle végétatif, et de 67,18% aux stade de floraison et enfin 79,04 %.

C'est l'huile en la phase de croissance (SI) qui exerce une meilleure activité antiproliférative sur la lignée *HeLa* alors que sur la lignée C6 c'est la SIII qui est la plus active

D'après nos résultats, on conclut que nos différents extraits de la partie aérienne des trois espèces possèdent un potentiel antioxydant appréciable et une activité antiproliférative significative.

Les activités biologiques des différents extraits nous ont permis de confirmer certaines indications thérapeutiques des espèces du genre *Euphorbia*.

Ces extrais pourraient contenir des composés d'intérêt pour la découverte de nouvelle molécules bioactives, il serait intéressant d'évaluer le spectre sur d'autres lignée de cellules cancéreuses.

Cette étude pourrait éventuellement être complétée par un fractionnement bio-guidé de nos extraits, cela va consister à fractionner l'extrait brut et à purifier les fractions les plus actives une analyse approfondie par RMN et vérifier leur potentiel anticancéreux et à déterminer la structure chimique du composé responsable de l'effet cytotoxique.

Références bibliographiques

Références bibliographique

- Abadollahi, A. (2013)**. Plant Essential Oils from Apiaceae Family as Alternatives to Conventional Insecticides. *Ecologia Balkanica*. volume (5) N° 1 ; p : 149-172.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007)**. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*. 74; 636–643.
- **Aquilano, K., Baldelli, S., Rotillo, G., Ciriolo, M.R. (2008)**. Role of nitric oxide synthases in parkinson's disease: A review on the antioxidant and anti-inflammatory activity of polyphenols. *Neurochem Re.* (33); 2416-2426.
- Anamaria, J. (2008)**. acute cerebral ischemia and oxidative stress. *Romanian Journal Of Neurology*. Volume VII, N°. 2; 45-56.
- Abu Arra, B., Zuraini, Zakaria., Lacimanan Yoga, L., Sreenivasan, S. (2011)**. Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 386 - 390.
- **Ahmed, M.M., Maggi,F., Papa,F., Kaya,E., Dikmen,M., Öztürk,Y. (2016)**. Isofuranodiene: A neuritogenic compound isolated from wild celery (*Smyrniolum olusatrum* L., Apiaceae). *Food Chemistry*. 192; 782–787
- **Ayachi, A. (2014)** Etudes chimique et biologique des extraits de trois *Daucus* (*D. crinitus*, *D. muricatus* et *D. carota* ssp *hispanicus*) de la région de Tlemcen. *Thèse DOCTORAT EN SCIENCES* Option : Chimie Organique Appliquée Université Abou Bekr Belkaïd De Tlemcen.
- Agrawal, P. K. (1989)**. Carbon-13 NMR of flavonoids. New York: Elsevier. Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 75; 199–212
- **Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., & Cisneros-Zevallos, L. (2003)**. Screening methods to measure antioxidant activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51; 6657–6662.
- **Barla, A., Öztürk, M., Kültür, S., Öksüz, S. (2007)**. Screening of antioxidant activity of three *Euphorbia* species from Turkey. *Fitoterapia* . 78 ; 423–425.
- Bahorun, T. (1997)**. Substances naturelles actives la flore Mauricienne une source d'approvisionnement potentielle .Food agricultural research council,réduit Mauritius.Université de Maurice.
- **Bakkali, F., S. Averbek, D., Averbek, M. Idaomar (2008)** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46 ; 446–475.

- **Baldovini, N., Tomi, F., & Casanova, J. (2001).** Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ¹³C-NMR. *Phytochemical Analysis*, 12, 58–63.
- **Barros, L., Baptista, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2007).** Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and Chemical Toxicology*. doi:10.1016/j.fct.2007.03.00.
- **Barth Rolf, F., and Balveen, K. (2009)** Rat brain tumor models in experimental neurooncology : the c6, 9l, t9, rg2, f98, bt4c, rt-2 and cns-1 gliomas. *J Neurooncol*, 94 (3) : 299-312.
- **Bennick, A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology Medicine*. 13 (2).184-196.
- **Bondent, V., Brand-Williams, W., & Bereset, C. (1997).** Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical methods. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 30, 609–615
- **Benjlali, B. (2014).** Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements Chapitre 2. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique p : 18-57
- **Berger, M. M. (2006).** Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20 ; 48–53
- **Bertoli, A., Pistelli, L., Morelli, I., Fraternali, D., Giampieri, L., & Ricci, D. (2004).** Volatile constituents of different parts (roots, stems and leaves) of *Smyrniololus atratum* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 522–525.
- **Bruneton, J. (1987).** Elément de phytochimie et de pharmacognosie .1^{ère} édition. *Technique et Documentation Lavoisier* p : 345-510.
- **Bruneton, J. (1993).** Phytochimie, plante médicinale, pharmacognosie. 2^{ème} édition. *Lavoisier*. p : 224-228.
- **Bruneton, J. (1999).** Phytochimie, plante médicinale, pharmacognosie. 3^{ème} édition. *Technique et documentation Lavoisier*. p : 783-800.
- **Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Beaudoux, J.L., Peynet, J., Legrand, A. and Delattre, J. (2001).** Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? *Ann. Biologica et Clinica* 59, 453-459.
- **Bodin, L. (2007).** Cancer, mode d'emploi Les chemins de la Guérison. *Editions Dauphin* p : 2-41.

- **Bothorel, P. (2011)**. Implication du stress oxydant dans la biologie tumorale & Intérêt d'une supplémentation en antioxydants au cours d'une chimiothérapie. *Thèse de Doctorat en pharmacie*.
- **Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Maggi, P., Papa, F., Ajiroghene, T., Santinelli, C., and Marucci, G. (2014)**. Antiproliferative Evaluation of Isofuranodiene on Breast and Prostate Cancer Cell Lines. *The Scientific World Journal*. Article ID 264829, 6 pages
- Burt, S. (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microb.* 94 ; 223–253.
- Buxeraud, J., Lagarde, A., Vuillet-A-Ciles, H. (2014)**. L'hormonothérapie anticancéreuse. *Actualités pharmaceutiques* n° 540. *Elsevier Masson SAS*. P : 25-29.
- **Chaabi, M., Freund-Michel, V., Frossard, N., Randriantsoa, A., Andriantsitohaina, R., Lobstein, A. (2007)**. Anti-proliferative effect of *Euphorbia stenoclada* in human airway smooth muscle cells in culture. *Journal of Ethnopharmacology* 109; 134–139.
- Catier, O., Roux, D. (2007)**. Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie. 3^{ème} édition ; Cahiers du préparateur en pharmacie. *Wolters Kluwer*.
- **Castro, L., Freeman, B.A. (2001)**. Reactive oxygen species in human health and disease *Nutrition* .17; 63–65.
- **Campos, A. M., & Lissi, E. A. (1996)**. Kinetics of the reaction between 2,2-azino bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cation and phenols. *International Journal of Chemical Kinetics*, 29; 219–224.
- **Cavallaro, R. (2014)**. L'aromathérapie : Un Remède Essentiel. *Capital Santé* 09 : 36-38.
- **Caxito, M. L., Cristiane, C. P. V., Da Costa, H.B., Wanderson, R., Kuster, R.M., and Gattass, C.R. (2017)**. Antiproliferative activity of extracts of *Euphorbia tirucalli* L (Euphorbiaceae) from three regions of Brazil. *Trop J Pharm Res.* 16(5): 1013
- **Couderec, L. V. (2001)**. Toxicité des huiles essentielles. thèse de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse.
- Crozier, A., Clifford, M.N., Hashihara, A. (2006)**. Plant secondary metabolites Occurrences, Structure and Role in the Human diet. *Blackwell Publishing Ltd*
- **Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., & Kim, S. K. (2002)**. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity

- between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant science*,163(6) , 1161-1168.
- Clevers, E. (2011)**. La chimiothérapie Orale : Amélioration de la prise en charge du patient et du lien ville-hôpital. Thèse de doctorat, université de Rouen.
- **Cushnie, T.P., Andrew, T., Lamb, J. (2005)**. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26; 343–356.
- Demirtas, I., Sahin Yaglioglu, A. (2012)** .Bioactive Volatile Content of the Stem and Root of *Centaurea carduiiformis* DC. subsp. *carduiiformis* var. *carduiiformis* *Journal of Chemistry* doi: [10.1155/2013/125286](https://doi.org/10.1155/2013/125286)
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stoker, P., Vidal, N.(2006)**.Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.*Food chemistry*. 97; 654-660.
- Daroui-mokaddem, H. (2012)**. Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae) *Thèse de doctorat*. Option Biochimie Appliquée
- **Daroui-Mokaddem, H., Kabouche, A., Bouacha, M., Soumati, B., El-Azzouny, A., Bruneau, C., et al. (2010)**. GC/MS Analysis and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Fresh Leaves of *Eucalyptus globulus*, and Leaves and Stems of *Smyrniium olusatrum* from Costantine (Algeria). *Natural Product Communications*, 5, 1669–1672.
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Ketaki, S.S., Saroj, S. G., Lele, R.D. (2004)**. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Phys Ind* . 52 ; 794- 804.
- Delhedde, M. (2006)**.Que sait-on du cancer.*EDP Sciences*. p : 5-195.
- Dimitrios, B. (2006)**. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*.17; 505–512.
- Duh, P. D., Tu, Y. Y., & Yen, G. C. (1999)**. Antioxidant activity of water extract of harn jjur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie*. 32 ; 269 - 277.
- Ducros,V., Favier, A. (2004)**. Métabolisme du sélénium Selenium metabolism. *EMC-Endocrinologie*. 1 ; 19–28.
- Edeas. M. (2007)**. Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*. 5 : 264–270.
- El Haib, A. (2011)**.Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques .*Thèse de doctorat* .Université de Toulouse.
- Filliat,P. (2012)**. Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Thèse De Docteur En Pharmacie Sciences pharmaceutiques. Université Joseph Fourier Grenoble.

- Maggi,F., Barboni , L., Papa,F., Caprioli,G., Ricciutelli,M., Sagratini,G., Vittori,S. (2012) .A forgotten vegetable (Smyrniolus L., Apiaceae) as a rich source of isofuranodiene. *Food Chemistry*. 135; 2852–2862
- Fraga, C.G. (2010).Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition and Pharmacology. A JHON WILEY & SONS , INC, PUBLICATION.
- Faure, S. (2010).Anticancéreux cytotoxiques. pharmacothérapie pratique p : 51-54. n° 497
- Faussadier, X. (2017). HeLa cells : Origin of this important cell line in life research .Technology Supplying Discovery Tools.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? Mécanisme Biochimique. *L'actualité chimique*. 91-96.
- Ghedira, K. (2005).Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. N° (4) .162-169.
- Giammarioli, S., Filesi, C., Sanzini, E. (1999) . Oxidative stress markers: specificity and measurement techniques.*Ann.Ist.Super.Sanita* vol 35; N°4: p563-576.
- Gilgenkrantz, S. (2014). Regard sur soixante années de culture de cellules HeLa HISTOIRE DES SCIENCES MEDICALES - TOME XLVIII - N° 1 ; 139-144.
- Guignard, J.L. (2000).Biochimie végétales. 2^{ème} édition .Dunod.Paris .
- Rao Battu, G., Rao Ethadi, S., Veda Priya, G., Swathi Priya, K., Chandrika, K., Venkateswara Rao, A., Obbala Reddy, S. (2011).Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S191-S194.
- Ghanadian, S.M., Ayatollahi, A.M., Afsharypour, S., Hareem, S., Abdallad, O.M., and Kezetas Bankeu, J.J. (2012). Flavonol Glycosides from *Euphorbia microsciadia* Bioss. with their Immunomodulatory Activities. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11 (3): 925-930
- Gonzalez M.I. J., D.Sc., Ph.D., FACN, Hugh, D., Riordan, M.D., Jorge, R., Massari,M., Pharm, D. (2002).Vitamin C and Oxidative DNA Damage Revisited. *Journal of Orthomolecular Medicine*. Vol. 17, No. 4,225-228.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55 (6) ; 481–504.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).Polyphénols végétaux sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif .*Phytothérapie* .Numéro (1).3-6.

- Hilan, C., Sfeir,R., et Aitour,S. (2011). chimiotypes de plantes communes au liban du genre *Origanum* et du genre *Micromeria* (*lamiaceae*). *Lebanese Science Journal*, Vol. 12, No. 1.79-91.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., and Rikke, L. M. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *FRONTIERS IN MICROBIOLOGY*,volume 3.
- Halliwell, B. (2001). Free Radicals and other reactive species in Disease. *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCE*. 1-7.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1984). Oxygen toxicology, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*. 219 ; 1–4.
- Houbairi, S., Elmiziani, I., Lamiri, A., & Essahli, M. (2015). Comparison of the Antioxidant Activity of Aromatic Medicinal Plants of Moroccan Origin. *European Journal of Medicinal Plants*, 10 (4): 1-10.
- Hoffmann, L. (2003).Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes : analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMTT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase ,l'hydroxynnamoyl-coa : shikimate / quinatehydroxynnamoyl transférase(HCT) .thèse dedoctorat de l'université de Louis Pasteur-Strasbourg I.
- Hofnung Maurice, J. (1978) Introduction l'étude des relations entre mutagenèse et cancérogenèse. *Biochimie*. 60; 1151-1171.
- Hon, R. M., Howes, M.D. (2006). Hydrogen Peroxide :Antioxidant Vitamins A, C & E. Free Radical Publishing Co.
- Ho, C.T., Ferraro, T., Chen, Q., Rosen, R.T., (1994). Phytochemical in teas and rosemary and their cancer-preventive properties. In: Ho, C.T., Osawa, T., Huang, M.T., Rosen, R.T. (Eds.), *Food Phytochemicals for Cancer Prevention. II. Tea, Spices and Herbs*. ACS Symposium Series 547, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 2–9.
- Iserin, P. (1999): l'action des plantes médicinales .Encyclopédie des plantes médicinales *larousse*.Edit. p: 10.
- Janero, D. R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*. 9; 515–540.
- Tripti, J., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., and Shukla, S.S. (2009). Microwave assisted extraction for phytoconstituents – An overview. *Asian J. Research Chem*. 2(1) ; 19-25
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C., Ahn, D. U., et al. (2004). Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52; 3389–3393.

- **Jordan, B. (2013).** Chroniques génomiques Henrietta Lacks et les cellules HeLa Les leçons d'une histoire. *Médecine/Sciences* . 29 ; 1051-3.
- Kemassi, A., Boual, Z., Ould El Hadj- Khelil, A., Dadi Bouhoun, M. Et Ould El Hadj, M. D. (2010).** Activité biologique de l'extrait d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae) sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Acrididae). *Annales des Sciences et Technologie* Vol. 2, N° 1 ; 61-70.
- **Ke, N., Wang, X., Xu, X., & Abassi, Y. A. (2011).** The xCELLigence system for real-time and label-free monitoring of cell viability. *Methods in Molecular Biology*, 740, 33–43.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20 ; 165–177.
- Koldaş, S., Demirtas, I., Ozen, T., Demirci, M.A., Behçet, L., (2015).** Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. viride (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.95:786-1482.
- **Koleva, I. I., Niederlander, H., & van Beek, T.A. (2001).** Application of ABTS radical cation for selective on-line detection of radical scavengers in HPLC eluates. *Analytical Chemistry*. 73 ; 3373–338.
- **Kone, S. (2001).** Extraction des huiles essentielles par distillation. gate Information Service
- **Kouamé, J., Gnoula,C., Palé,E., Bassolé, H., Guissou,I.P., Simporé, J., Nikiéma, J.B. (2009).** Study of cytotoxicity and anti-radical properties of leaves and galls extract from *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique*, Sciences de la santé. Vol. 32, n°s 1 et 2 ; 9-23.
- **Kumaran, A., Joel Karunakaran, R. (2006).**Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*. 97 ; 109-114.
- Labbé, D. (2008).**Les flavonoïdes d'origine alimentaire et le cancer inhibition de l'angiogénèse tumorale et du potentiel invasif des médulloblastomes .thèse de doctorat de l'université du Québec à Montréal.
- Laurent-puig, P. (2003)** .Biologie des cancers. p :1-27.
- **Li Ying, L., Sylvie,A., Tixier,F., line,M., Vian,A., Chemat,F., (2013).** Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 47 ; 1-11.
- Lardry, J.M., haberkorn, V.(2007).** Les huiles essentielles : principes d'utilisation. *Kinesither Rev* . 61 ;18-23.

- Lhuillier, A. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes Malagaches : *Agaura salicifolia* Hook. Fex olivier, *Agaura Polyphyllia* Backer (Ericaceae), *Tambourissa Trichoochylla* Backer (Monimiaceae) et *Embeliaconcinna* Backer (Myrsinaceae). thèse de doctorat de l'université de Toulouse.
- **Liang, Q.L., Chuan-Chao, D., Ji-Hong, J., Yu-Ping, T., Jin-Ao, D. (2009).** A new cytotoxic casbane diterpene from *Euphorbia pekinensis*. *Fitoterapia*. 80; 514–516.
- Liu, Y., Wang, W., Fang, B., Ma, F., Zheng, Q., Deng, P., et al. (2013).** Anti-tumor effect of germacrone on human hepatoma cell lines through inducing G2/M cell cycle arrest and promoting apoptosis. *Eur J Pharmacol* .698: 95–102.
- **Leh, B. (2011).** Caractérisation par auto-fluorescence de tissus cérébraux tumoraux : Mesures sur fantômes et modèle animal. Thèse de Docteur en Science.
- Loh, D. S. Y., Hui, M. Er, Yu, S. C. (2009).** Mutagenic and antimutagenic activities of aqueous and methanol extracts of *Euphorbia hirta*. *Journal of Ethnopharmacology*. 126; 406–414
- **Locatelli, M., Fabiano, T., Coissn, J. D., Martelli, A., Stevigny, C., Arlorio, M. (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola Piemonte* PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*. 119 ; 1647–1655.
- Lonjon, M. , Mondot, L., Lonjon, N., and Chanalet, S. (2010).** [clinical factors in glioblastoma and neuroradiology]. *Neurochirurgie*, 56 (6) :449-454.
- Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. THESE DOCTORAT EN SCIENCES . UNIVERSITE DE LA REUNION.
- Lucey, B.P., Nelson-Reeswa, Hutchins, G.M. (2009)** - Henrietta Lacks, HeLa Cells, and Cell Culture Contamination. *Arch Pathol Lab Med*, 133, n°9, 1463 -1476.
- **Quassinti, L., Maggi, F., Barboni, L., Ricciutelli, M., Cortese, M., Papa, F., Garulli, C., Kalogris, C., Vittori, S., Bramucci, M. (2014).** Wild celery (*Smyrniololus atrum* L.) oil and isofuranodiene induce apoptosis in human colon carcinoma cells. *Fitoterapia*. 97. 133–141
- **Lykkesfeldt, J. and Svendsen, O. (2007).** Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal*. 173; 502-511.
- **Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Frau, M. A., Maxia, A., et al. (2012).** Antifungal activity and chemical composition of essential oils from *Smyrniololus atrum*

olusatrum L. (Apiaceae) from Italy and Portugal. *Natural Product Research*, 26, 993–1003.

-**Molyneux, P. (2004).**The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarim J.sci.Technol.* 26 (2) ; 211-219.

-**Moreau, D. (2006).** Étude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques. *Thèse de doctorat.* Université De Nantes.

-**Mahantesh, S.P., Gangawane, A.K. And Patil, C.S. (2008).**Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines in human health: future prospects. *World Research Journal of Medicinal & Aromatic Plants.* Volume 1; p: 06-10.

-**Maggi, F., Papa, F., Giuliani, C., Maleci Bini, L., Venditti, A., Bianco, A., Nicoletti, M., Iannarelli, R., Caprioli, G., Sagratini, G., Cortese, M., Ricciutelli, M., and Vittori, S. (2014)** Essential oil chemotypification and secretory structures of the neglected vegetable *Smyrniolusatrum* L. (Apiaceae) growing in central Italy. *Flavour Fragr. J.*, 30; 139–159

-**Marija, B., Baltić Ž, M., Ivanović, J., Đurić, J., Lončina, J., Dokmanović, M., Marković, R. (2013).** Use of essential oils in order to prevent foodborne illnesses caused by pathogens in meat. *Tehnologija mesa.* 54 1; 14–20.

- **Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* 51 ; 304–315.

- **Martin, R. K., Appel, C. L. (2010).** Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutrition and Dietary Supplements.* 2 ; 1–12.

-**Macheix, J. J., Fleuriet, A., et Jay-Allemand, C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.

-**Meziti, A. (2009).**Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L étude in vitro et in vivo. Thèse de magister de l'université d'El-Haj Lakhdar de Batna.

-**Mioulana, P. (2004).** Encyclopédie universelle des 15 000 plantes et fleurs de jardin. *Euphorbia.* Paris : Larousse-Bordas, p.421-425.

-**Moro, B. A. (2008).**Grand guide des huiles essentielles : Santé, beauté, Bien-être. *HACHETTE Pratique.*

- **Moodley, K., Angel, C. E., Glass, M., & Graham, E. S. (2011).** Real-time profiling of NK

cell killing of human astrocytes using xCELLigence technology. *Journal of Neuroscience Methods*, 200, 173–180.

- **Molleken, U., Sinnwell, V., & Kubeczka, K.-H. (1998a)**. Essential oil composition of *Smyrniolus olusatrum*. *Phytochemistry*, 49, 1709–1714.

-**Mauricio Rostagno,A., and Prado, J.M. (2013)**. Natural Product Extraction Principles and Applications. *The Royal Society of Chemistry*. p: 1-469.

-**Mompou, B ., Lemanie, B., Surbled, M.(1998)** . Extraction des polyphénols du laboratoire à la production industrielle .In : Polyphénols 96. *Edition INRA*. p : 31-43.

-**Nacz, M., Shahidi, F. (2006)**. Phenolic in cereals fruits and vegetables: occurrence extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomédical analysis*. (41). 1523-1542.

- **Namaki, S., Mohsenzadegan, M., Mirshafiey, A. (2009)**.Superoxide dismutase: A light horizon in treatment of multipl sclerosis.Journal of Chinese clinical medicine. volume 4, Number 10 : 585-591.

- **Noda, N., and Hiro, W. (2001)**. Cancer and Oxidative Stress. *JMAJ* 44(12): 535–539.

- **Noori, M., Chehrehgani, A., Kaveh, M., (2009)**. Flavonoids of 17 species of *Euphorbia* (*Euphorbiaceae*) in Iran. *Toxicological & Environmental Chemistry*. Vol. 91, No. 4, 631–641

-**Oldham, K.M. (1998)**.Oxidative stress in critical care: Is antioxidant supplementation beneficial ?. *Journal Of American Dietetic Association*.Volume 98, Number 8 1001-1008.

-**Okafor, J., Ham, R.(1999)**.Identification ,utilization et conservation des plantes médicinales dans le sud est du Nigeria.*Thème de la biodiversité Africaine*.N°(3).

-**Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., et al (2000)** .Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignansand squalene. *Food Chem Toxicol*. 38; 647-59.

-**Oyaizu, M. (1986)**. Studies on products of the browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese J. Nutr.* 44; 307–315.

- **Pahlevani, A.H. (2007)** . Notes On Some Species Of The Genus *Euphorbia* In Iran. *Rostaniha*, Vol. 8 (2) ; 90-103.

- **Paris, R.R., Moyse, H., (1967)**. Précis de Matière Médicale. Tome 2, *Masson et Cie*, Paris.

- **Pereira, P.C., Cebola, M.-J., Bernardo-Gil, M.G., (2009)**. Evolution of the yields and composition of essential oil from Portuguese myrtle (*Myrtus comunis* L.) through the vegetative cycle. *Molecules*. 14, 3094–3105.
- **Paschaki , M. (2005)**. Effets de la régulation de Notch1 sur le devenir des cellules souches neurales et sur des lignées tumorales du système nerveux. *Docteur De L'université Louis Pasteur*.
- **Pelt, J.M. (1979)** . Les plantes Médicinales un savoir à réinventer. *Le Courrier de l'Unesco* : 9-16
- **Pin-Der-Duh, X. (1998)**. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 75; 455-461.
- **Pincemail, J.; and Defraigne, J. O. (2004)**. Les antioxydants : Un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, *Symposium «Antioxydant et alimentation » institut Danone*, 1-2.
- **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet,R., Defraigne, J.O. (1999)**. Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* -Vol 4 - N°4
- Poljsak, B., and Milisav,I., (2013)**. Aging, Oxidative Stress and Antioxidants. A Role for Antioxidants. Chapter 14 ; licensee InTech.
- **Portet, B., Nicolas, F., Rozenberg, R., Habib-Jiwan, J.L., Moulis, C., Quetin-Leclercq, J. (2008)** Analysis of minor flavonoids in *Piper hostmannianum* var. *berbicense* using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1210 ; 45–54
- **Ponsinet, G., Ourisson, G. (1965)**. Biosyntese *In Vitro* Des Triterpbnes Dans Le Latex *D'euphorbia*. *Phytochemistry*, Vol. 6. pp. 1235-1243.
- **Pióro-Jabrucka , E., Pawelczak, A., Jarosław, L., Katarzyna Bączek, P., Węglarz, Z. (2011)**. Accumulation of phenolic and sterol compounds in *Euphorbia hirta* (L.). *Herba Polonica*. Vol. 57 No. 2.31-35.
- Quezel, P., Santa, S. (1963)**. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2
- Qaisar, M., Syed Naeemuddin, G., Shahid, F., Absur, R., Rifat, N., Shaista and Samreen, P. (2012)**. Preliminary comparative phytochemical screening of *Euphorbia* Species. *American-Eurasian J. Agric.and Environ. Sci*, 12(8): 1056-1060.

- Rastogi, T., Hildesheim, A., Sinha, R. (2004). « Opportunities for cancer epidemiology in developing countries.» *Nat Rev Cancer* 4(11) : 909-917.
- Ribereau-Gayon, P. (1968). Notion générales sur les composés phénoliques .In «Les composés phénoliques des végétaux » .Ed : Dunod. 1-27.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B., (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad. Res.* 22; 375–383.
- Rahman I., Biswas, S.K., Kirkham, P.K. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology.* 72 ; 1439–1452
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller, and G. Paganga. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-159.
- Rozimat, R., Nurmuhimmat, K., & Haji Akber, A. (2018). New compound from *Euphorbia alata* Boiss. *NATURAL PRODUCT RESEARCH.* p : 1-6.
- Saleem, U., Ahmad, B. (2016). *Euphorbia Helioscopia*: A Review On Pharmacological Activities. *Newsletter* .vol (1) p: 1-6.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. Jr., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture.* 16; 144–158.
- Sibenaller Zita, A., Arnold, B.E., Mushtaq, M. A., Manali, B., Braun, T.A., Casavant, T.L., and Ryken, T.C. (2005). Genetic characterization of commonly used glioma cell lines in the rat animal model system. *Neurosurg Focus,* 19(4) ; 122
- Scheibmeir Heath, D., Katie Christensen, Sally H., Whitaker, Jay Jegaethesan., Clancy, R., Pierce, J.D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing.* 21; 24-28.
- Sivanandham, V. (2011) .Free radicals in health and diseases — a mini review. *Pharmacologyonline* 1; 1062-1077
- Singh, G., Kumar, P. (2013). Phytochemical study and screening for antimicrobial activity of flavonoids of *Euphorbia hirta*. *International Journal of Applied and Basic Medical Research* Vol 3, Issue 2. 111-116.
- Shivanna, V., Shipra, G. (2013) .Antioxidants; Stressbusters In Dentistry- A Review .*Journal of Dental Practice and Research.* Vol 1; p: 9-19.

- Shlamovitz, G. Z., Malkeet Gupta, M.D., MD, MS, and Jorge A. Diaz, MD, FACEP (2009). A Case Of Acute Keratoconjunctivitis From Exposure To Latex Of *Euphorbia Tirucalli* (Pencil Cactus). *The Journal of Emergency Medicine*, Vol. 36, No. 3; pp. 239-24.
- Sharma, v., Janmeda, P. (2014). Extraction, isolation and identification of flavonoid from *Euphorbia neriifolia* leaves, *Arabian Journal of Chemistry*.
- Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science & Technology International*. 8; 121-137.
- Shinde, A., Jayashree, G., Pankaja, N. (2012). Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *Journal of Dental & Allied Sciences* 1(2); 63-66
- Shekofteh, N., Mehri Ghafourian, B., Neda, K., Kurosh, K., Saeed, M., Haideh, N., and Amirghofran, Z. (2017). Apoptosis-inducing Effect of the Hexane Extracts from Three Native Iranian *Euphorbia* Plants. *Cancer Manag. In Press*(In Press):e8306.
- Skloot, R. (2011). - *La vie immortelle d'Henrietta Lacks*. Calmann-Levy, Paris.
- Solly, K., Wang, X., Xu, X., Strulovici, B., & Zheng, W. (2004). Application of real-time cell electronic sensing (RT-CES) technology to cell-based assays. *Assay and Drug Development Technologies*. 2; 363–372.
- Tapiero, H., Tew, K.D., BA, N., Mathé, G. (2002). *Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies?* *Biomedicine and Pharmacotherapy* 56 (4) : 200-207.
- Tessier, F., Marconnet, P. (1995) . Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice *Science & Sports* 10 : 1-13
- Tanguy, J. (1971). Quelque aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les Nicotina hypersensible au virus de la mosaïque du tabac souche commune (V.M.T). *Physiol. vég* 9 (2) ; 169-187.
- Trindade, Da. R. A. , Medeiros de Araújo, K., de Lima, A., Jurandy, do. N., Silva , L. L., Rodrigues, A. G., Amorim, N., Quelemes , P.V., Raimundan, C., Santos, D., Jefferson, A. (2014). Identification of Phenolic Compounds and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Euphorbia Tirucalli* L. *Antioxidants*. 3, 159-175.
- Éryka, O. de Andrades , Leite, J.R.S.A., Mancini-Filho, G., and Tubiana, M. (1999). Les effets cancérogènes des faibles doses de radiations. *Cancer/Radiother* 3 : 203-14.
- Vamsidhar, I., Habeeb, A., Mohammed, B., Nataraj, C., Madhusudana, R., Mullangi, R. (2000). Antinociceptive activity of *Euphorbia heterophylla* roots. *Fitoterapia*. 71 ; 562-563.

- **Vertuani, S., Angusti, A., and Manfredini, S. (2004).** The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*. 10; 1677-1694.
- **Vignaud, J.M. (2008).** Cours de Pathologie Tumorale. p : 1-88.
- **Winther, C. (2003).** Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé. Dossier De Presse. Aprifel

- **Wang, J. L., Liu, K., Gong, W.Z., Wang, Q., Xu, D.T., Liu, M.F., Bi, K.L., Song, Y.F. (2012).** Anticancer, antioxidant, and antimicrobial activities of anemone (*Anemone cathayensis*). *Food Sci. Biotechnol.* 21; 551-557.
- **Wicky, M. (2014).** Est-ce que les recherches sur les lignées cellulaires doivent être soumises pour autorisation à une commission d'éthique de la recherche? *Commission cantonale d'éthique de la recherche sur l'être humain*. 1-8.

- **Yanishlieva-Maslarova, N. V. (2001).** Inhibiting oxidation. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, & M. H. Gordon (Eds.), *Antioxidants in food: Practical applications* Cambridge: CRC Press, Woodhead Publishing Limited. (pp. 22-70).

- **Yang, J.-H., Lin, H.-C., & Mau, J.-L. (2001).** Non-volatile taste components of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*. 72; 465-471.

- **Yu, C. F., Liu, Z. X., and Cantley, L. G. (2002).** ERK negatively regulates the epidermal growth factor-mediated interaction of Gab1 and the phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem*. 277; 19382-19388.

- **Uzair, M., Loothar, B.A., Choudhary, B.A. (2009).** Biological screening of *Euphorbia helioscopia* L. *Pak J Pharm Sci*. 22; 184-186.

- **Zellagui, A., Gherraf, N., Akkal, S. (2012).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Oenanthe virgata* Poiret aerial parts, endemic in north Africa. *Int.J.Med.Arom.plants*, ISSN 2249-4340. Vol 2. N° 2 ; p: 235-239.

- **Zheng, Z., & Shetty, K. (1999).** A mathematical model for the growth kinetics and synthesis of phenolics in oregano (*Origanum vulgare*) shoot cultures inoculated with *Pseudomonas* species. *Process Biochemistry*. 35; 227-235.

- **Zhang, B., Xue-lian, H., Qian, J., Zhi-xin, L., Chao, L., Yan-bo, Q. (2012).** Triterpenoids of *Euphorbia kansuensis* Proch. *Fitoterapia*. 83; 1242–1247

- **Zhong, Z., Chen, X., Tan, W., Xu, Z., Zhou, K., Wu, T., et al (2011).** Germacrone inhibits the proliferation of breast cancer cell lines by inducing cell cycle arrest and promoting apoptosis. *Eur J Pharmacol* 667; 50–5.

- **Zhiri, A., & Baudoux, D., (2005).** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies, Aromathérapie scientifique. *Ed. Inspir Development, Luxembourg.*

- **Znati, M., Filali, I., Jabrane, A., Casanova, J., Bouajila, J., and Ben Jannet, H. (2016)** .Chemical Composition and In Vitro Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Antigerminative Properties of the Seed Oil from the Tunisian Endemic *Ferula tunetana* POMEL ex BATT. *Chem. Biodiversity* . 13; 1 – 8.

ANNEXES

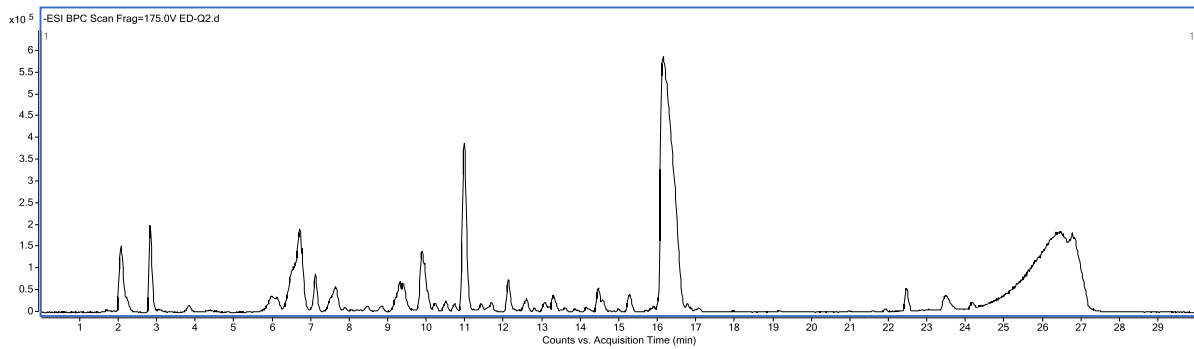
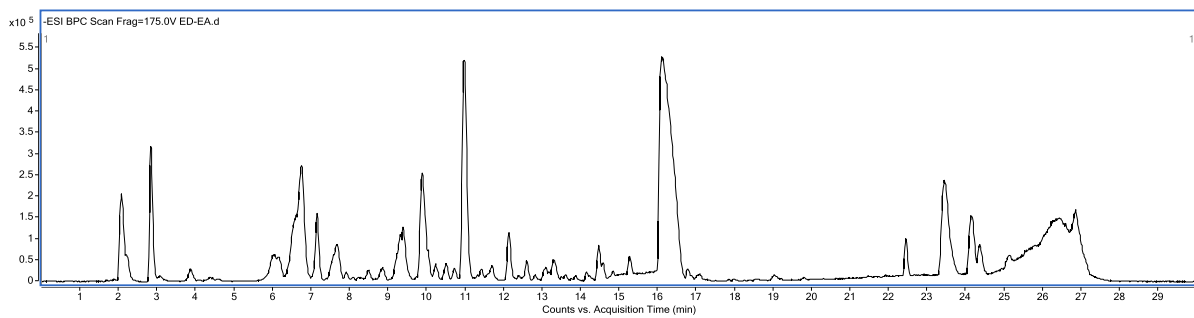
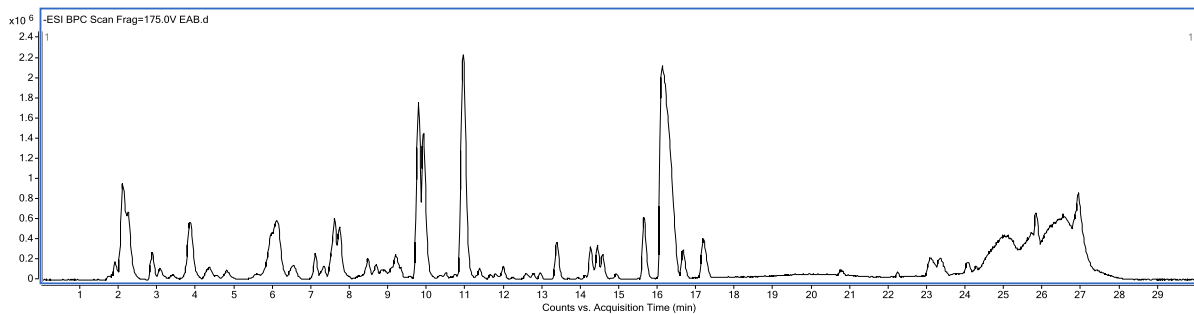
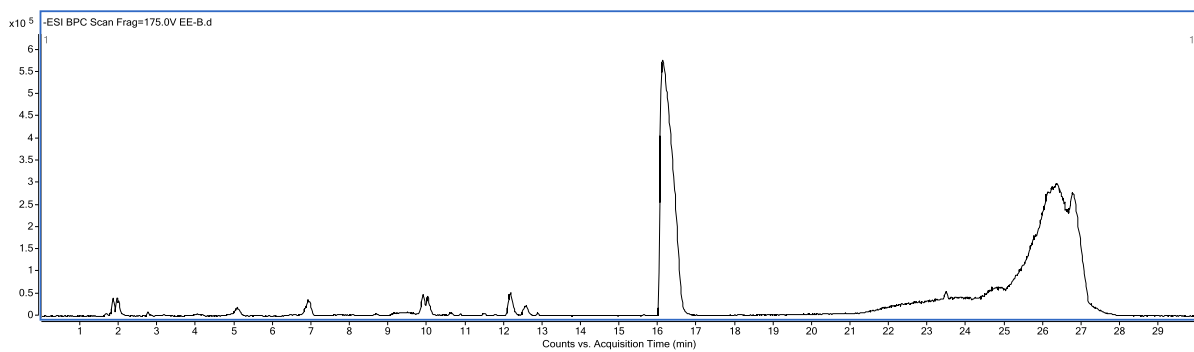
Annexe 1. Les rendements d'extraction

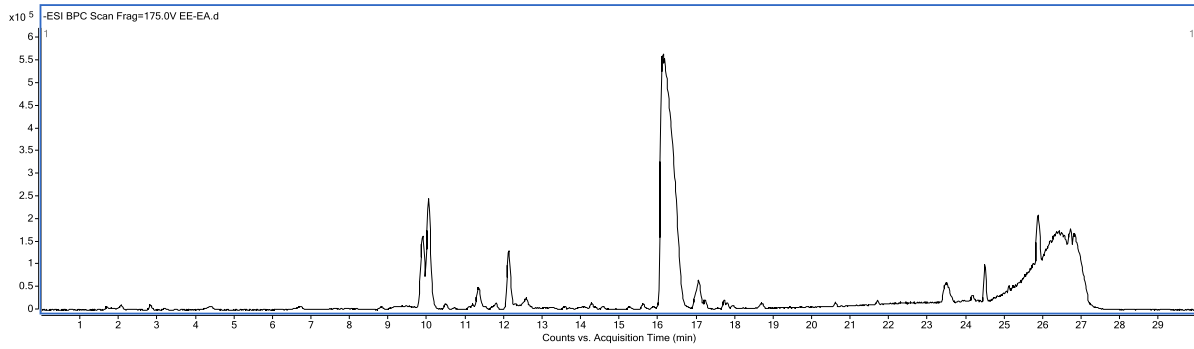
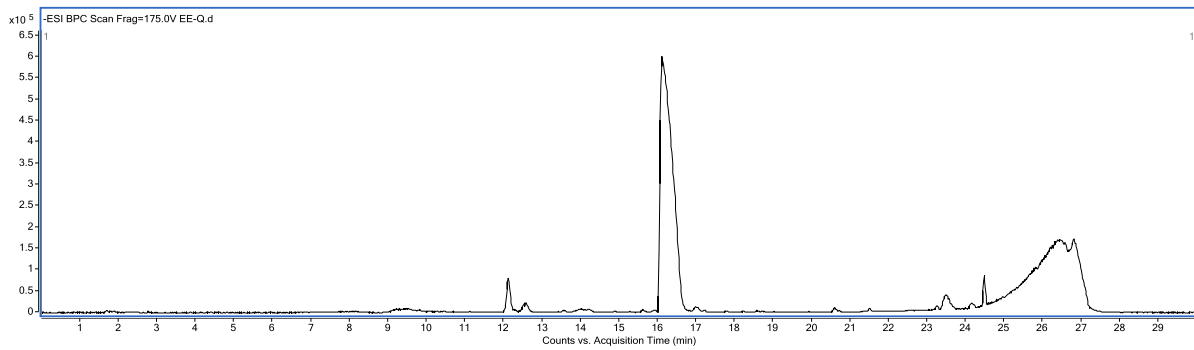
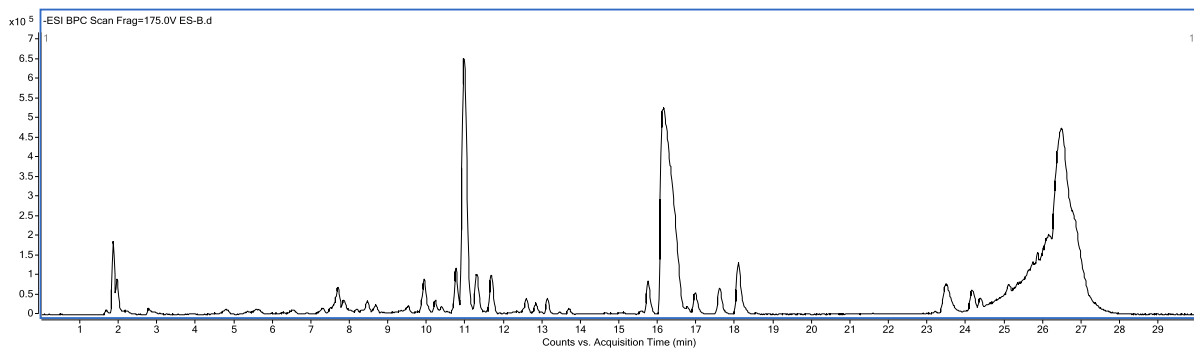
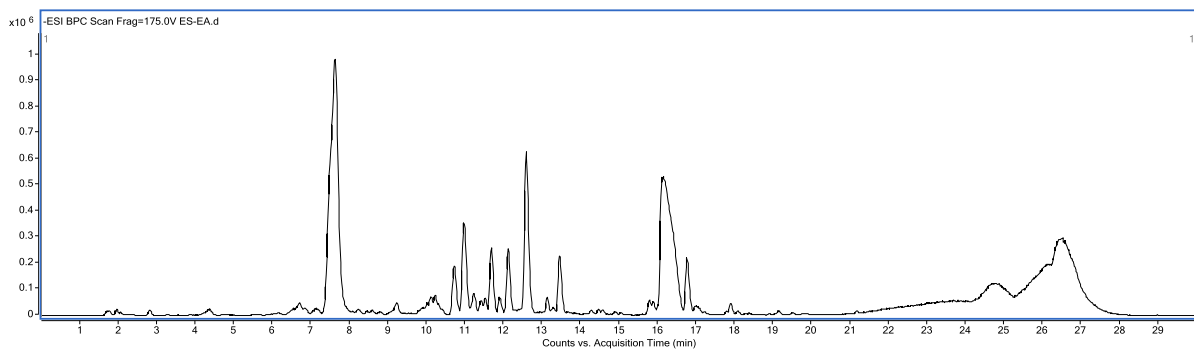
Tableau 1 : Le rendement d'extraction en pourcentage des différents extraits de trois espèces du genre *Euphorbia*

Les espèces	Rendement selon les solvants d'extraction (%)		
	Chloroforme	Ethyle acétate	<i>n</i> -butanol
<i>E.cornuta Pers.</i>	0,078	0,1	0,95
<i>E.dendroides L.</i>	0,65	0,42	2,12
<i>E.helioscopia L.</i>	0,33	0,79	1,33

Tableau 2: Le rendement des huiles essentielles de *S. olusatrum L.*

<i>Les stades végétatifs</i>	<i>Le rendement en %</i>
<i>SI</i>	<i>0,069</i>
<i>SII</i>	<i>0,071</i>
<i>SIII</i>	<i>0,170</i>

Annexe 2. Les chromatogrammes des différents extraits analysés par HPLC-Tof-MS**Figure 1 : chromatogramme de l'extrait E.d.C****Figure 2 : chromatogramme de l'extrait E.d.A****Figure 3 : chromatogramme de l'extrait E.d.B****Figure 4 : chromatogramme de l'extrait E.h.B**

**Figure 5 : chromatogramme de l'extrait E.h.A****Figure 6 : chromatogramme de l'extrait E.h.C****Figure 7 : chromatogramme de l'extrait E.c.B****Figure 8 : chromatogramme de l'extrait E.c.A**

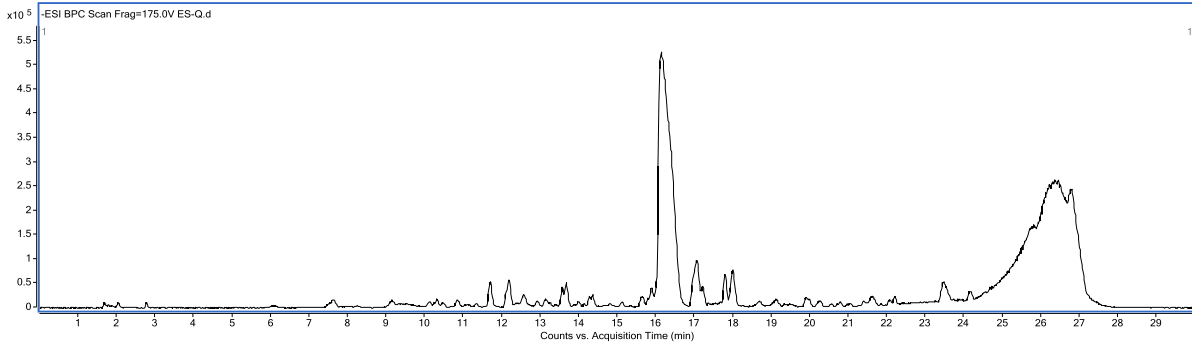


Figure 9 : Chromatogramme de l'extrait E.c.C

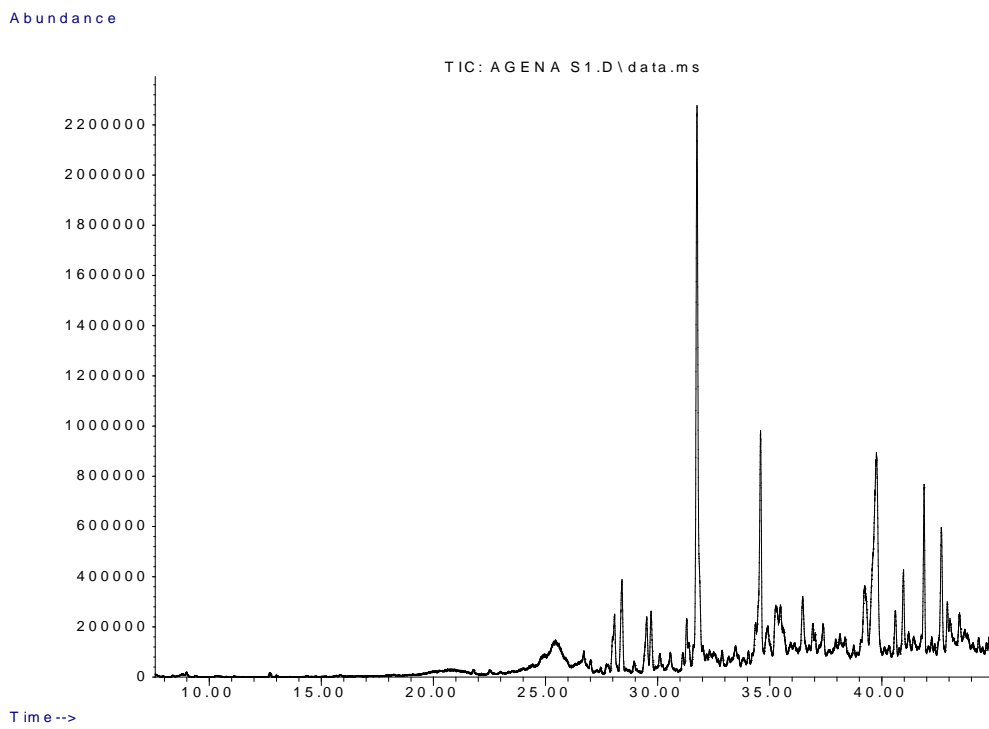


Figure 10 : Chromatogramme de l'huile essentielle S1

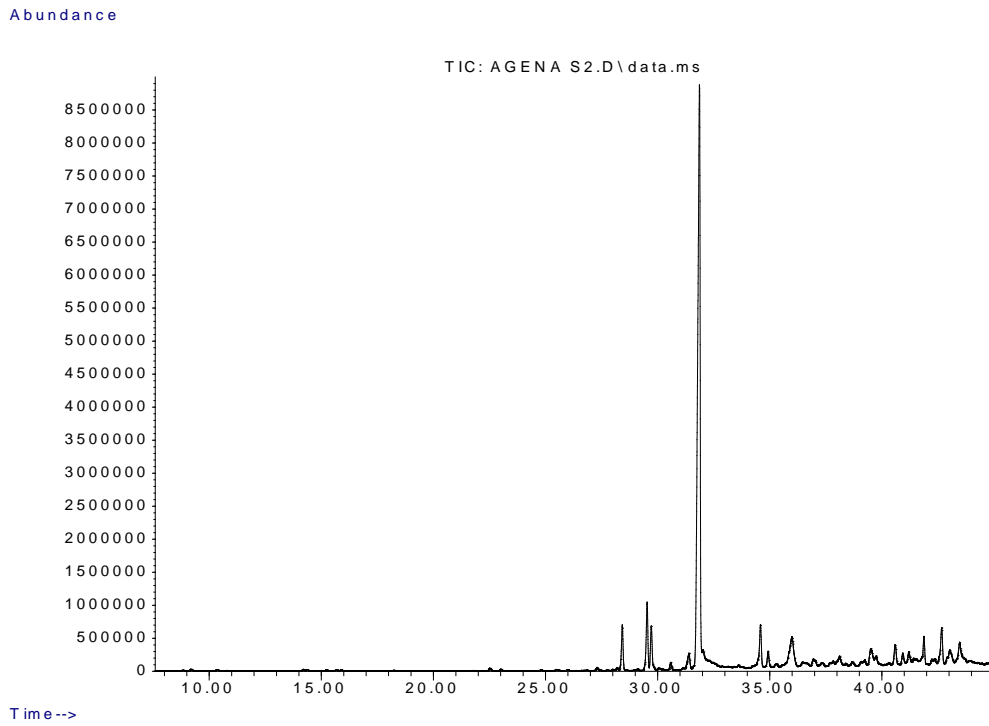


Figure 11 : Chromatogramme de l'huile essentielle S2

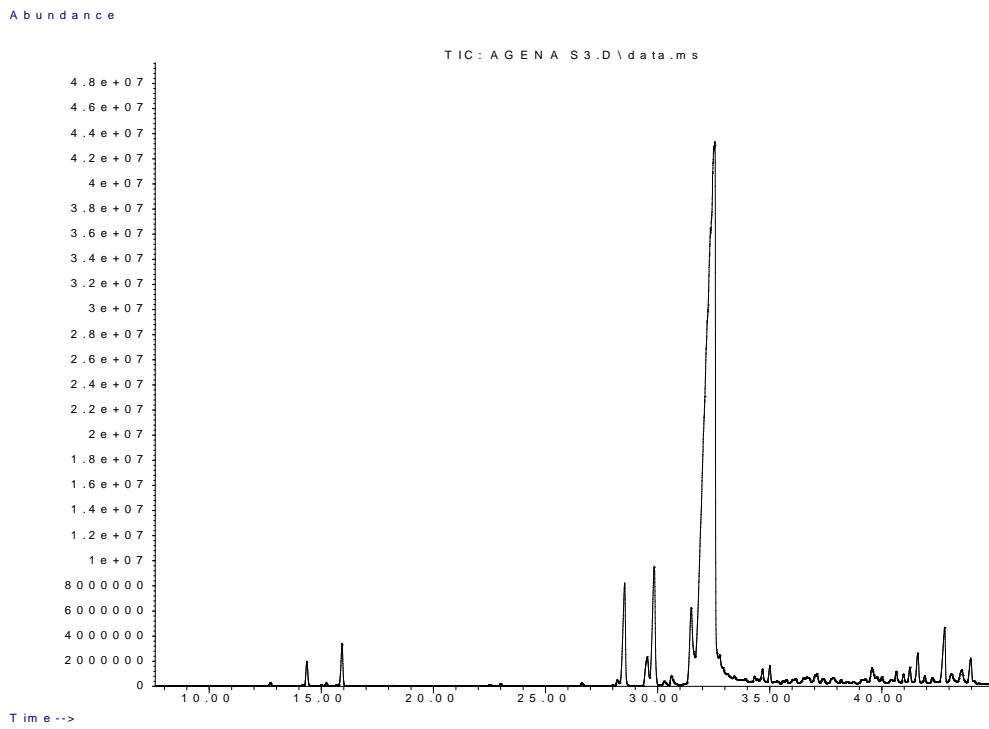


Figure 12: Chromatogramme de l'huile essentielle S3

ملخص:

يتركز هذا العمل على استخلاص المركبات الفينولية من الجزء الهوائي لـ *E.helioscopia*, *E.dendroïdes*, *E.cornuta* و الزيوت الأساسية، *S.olusatrum* خلال ثلاثة مراحل من النمو. ثم جميع العينات من الجزائر. الاستخلاص عن طريق الاستخلاص عن طريق الإنهاك المتتابع تحقق باستعمال المذيبات ذات القطبية المتزايدة تليها دراسة النشاط المضاد للأوكسدة و المضاد للتضاعف الخلوي على نوعين من الخلايا السرطانية C6 و HeLa *E.dendroïdes* , *E.cornuta*, *E.helioscopia*,

مستخلص *éthyle acétate* أظهرت أكثر فعالية ضد الجذر DPPH و بين كذلك قدرة تراجعية كبيرة في *E.cornuta* ، و *E.dendroïdes* وتثبيط بيروكسيد الدهون بنسبة 97,36% و 37,12% على التوالي في تركيز 500 ug/ml ، بينما عند *E.helioscopia* مستخلص n-butanol هو الأكثر فعالية ، لكن هذا النشاط هو أقل بكثير من النشاط المتعلق بالمعايير المستخدمة.

أكبر نسبة للنشاط المضاد للتضاعف الخلوي لوحظت عند استعمال مستخلص chloroforme لـ *E.dendroïdes* ، عند *E.cornuta* ضد الخلايا C6 و عند *E.helioscopia* مستخلص *éthyle acétate* هو الأكثر نشاط على الخلايا HeLa ، هو الأكثر فعالية خاصة في أعلى تركيز 250 ug/ml

عند *S.olusatrum* التحليل بـ GC - MS بين أن Isogermafuéne هو المركب الأساسي خلال مراحل النمو بنسب مختلفة 24,43% ، 67,18% و 97,04% على التوالي. SI. تمارس نشاط أفضل ضد التضاعف الخلوي على الخلايا HeLa بينما النبتة خلال مراحل الازهار تسجل نشاط كبير على الخلايا C6 .

مفتاح : متعدد الفينول ، DPPH ، *Smyrniium* ، *Euphorbiaceae* ، النشاط مضاد للتكاثر، مضادات الأوكسدة
الكلمات

Abstract:

This work is about the extraction of phenolic compounds from the aerial part of *E.cornuta*, *E.dendroides* and *E.helioscopia* and the essential oils of *S.olusatrum* during three growth phases harvested in Algeria. Successive exhaustion was carried out using solvents of increasing polarity followed by the study of the antioxidant and antiproliferative activity on two cancer cell lines (Hela, C6) of *E.cornuta*, *E.dendroides* and *E. helioscopia* was performed.

The ethyl acetate extract proved more effective against the DPPH radical also show a significant reducing capacity in *E.cornuta* and *E. dendroides* and inhibits lipid peroxidation with a percentage of 97.36%, 37.12% to 500 µg / ml respectively, whereas in *E.helioscopia* it is the n-butanol extract that is the most active However, this activity is significantly lower than that of the standards used, the highest antiproliferative activity was observed with the chloroform extract in *E.cornuta* and *E.dendroide* against the C6 line and in *E.helioscopia* it is the ethyl acetate extract which is the most active and on the HeLa cell line all the extracts have a better activity only at high concentration (250 mcg / ml). In *S.olusatrum* GC-MS analysis revealed that isogermafirene is the major compound during the three vegetative stages with different levels 24.43%, 67.18%, 79.04% respectively, the SI exerts a better antiproliferative activity on the HeLa line whereas the plant in full flowering phase (SIII) records a high activity on the line C6.

Key words: Polyphenols, DPPH, Euphorbiaceae, Smyrnum, antiproliferative activity, antioxidant

Résumé :

Ce présent travail porte sur l'extraction des composés phénoliques de la partie aérienne de *E.cornuta*, *E.dendroides* et *E.helioscopia* et les huiles essentielles de *S.olusatrum* durant trois phases de croissance, récoltées en Algérie. Une extraction par épuisement successif a été réalisée à l'aide de solvants de polarité croissante suivi de l'étude de l'activité antioxydante et antiproliférative sur deux lignées de cellules cancéreuses (*HeLa*, *C6*) de *E.cornuta*, *E.dendroides* et *E.helioscopia* a été réalisée. L'extrait éthyle acétate s'est révélée plus efficace contre le radical DPPH montrent aussi une capacité réductrice importante chez *E.cornuta* et *E.dendroides* et inhibe la peroxydation lipidique avec un pourcentage de 97,36 %, 37,12 % à 500 µg/ml respectivement, alors que chez *E.helioscopia* c'est l'extrait *n*-butanol qui est le plus actif. Toutefois, cette activité est nettement inférieure à celle des standards utilisés, L'activité antiproliférative la plus élevée a été observée avec l'extrait chloroforme chez *E.cornuta* et *dendroïde* contre la lignée C6 et chez *E.helioscopia* c'est l'extrait éthyle acétate qui le plus actif et Sur la lignée cellulaire HeLa l'ensemble des extraits présentent une meilleure activité uniquement à forte concentration (250 µg/ml). Chez *S.olusatrum* l'analyse par GC-MS révèle que c'est l'Isogermafurane qui est le composé majoritaire durant les trois stades végétatifs avec des taux différents 24,43 %, 67,18 %, 79,04 % respectivement, la SI exerce une meilleure activité antiproliférative sur la lignée HeLa alors que la plante en phase de pleine floraison (SIII) enregistre une grande activité sur la lignée C6.

Mots clés : Polyphénols, DPPH, Euphorbiacées, *Smyrniium*, activité antiproliférative, antioxydant.