

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Physico-Chimie
Spécialité Biochimie Appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Activité antioxydante d'une plante
de la région de Kabylie**

Présenté par :

MAKHLOUFI Nassima & TALBI Massinissa

Soutenu le : **26 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme KASMI S.

Mme KHETTAL B.

Mr BELKACEM N.

MAB

Professeur

MAA

Présidente

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

*Le thème fait partie de projet de recherche de l'équipe de recherche professeur **Khettal B.** Du Laboratoire de biotechnologie végétale et ethnobotanique.*

Au terme de ce modeste travail, nous tenons tout d'abord à remercier le « bon dieu » le tout puissant, de nous avoir accorder le courage, la patience et surtout la santé pour réaliser et mener au bien notre travail.

*Nous tenons à remercier infiniment professeur **Khettal B.** pour nos avoir proposé le thème et **M^{me} Mezahem T.** (Doctorante à FSNV) pour son encadrement pendant notre partie expérimentale.*

*Nos profonds remerciements s'adressent aussi à **M^{me} Kasmi S.** pour l'honneur qu'elle nous a fait de présider ce jury.*

*Nous adressons aussi nos plus vifs remerciements à **M^r Belkacem N.** d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorés de sa présence dans ce jury.*

*Nous remercions aussi les ingénieures de laboratoire **Meme Mamass Habiba** (laboratoire d'enzymologie, FSNV) et **Meme Hassaine Samia** (laboratoire biotechnologie végétale et ethnobotanique).*

Enfin nous remercions toutes les personnes qui nous ont aidé de près et de loin pour la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avec ma gratitude et tout mon amour, Je dédie ce modeste travail

À Mamounette, un grand merci pour le soutien, l'amour et l'attention que tu me portes, toujours là pour moi à me rassurer et m'épauler. Cette réussite je te la dois car je trouve en toi l'encouragement, le réconfort et la sécurité que nulle autre personne ne peut m'apporter.

À l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, mon père que j'aime.

*À ceux qui m'ont aidé et m'ont donné joie et bonheur, Un grand merci à mes trois sœurs « **Siham, Nadjet et Kafya** »*

*À mes deux beaux-frères adorés « **Lounis et Yanis** »*

À ma « mémé » chérie, la meilleure des grand-mères.

*Je remercie également ma copine la plus chère « **KENZA YESSAD** », pour son soutien et ces conseils qui m'ont été d'une grande utilité.*

À ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie.

NASSIMA

Dédicace

*Je rends grâce, à mon dieu de m'avoir donné la
force, la volonté, l'intelligence et la sagesse d'être
patient dans mes études.*

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents, sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, en
reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant
toutes mes études.*

*. A mes chers frères et sœurs, Farid, Malika, Zina, Salima, Toufik, Antar et
Sadek ainsi qu'à leurs petites familles.*

*A tous mes chers amis, pour leurs soutiens et leurs conseils qui m'ont été d'une
grande utilité.*

Massinissa

Glossaire

Étiologie : l'étude des causes et facteurs d'une maladie et l'ensemble de ces causes elles-mêmes.

Espèce endémique : est particulier à une localité ou une région donnée.

Végétaux hétéromorphes : sont des végétaux qui utilisent uniquement ou en partie une source de carbone organique pour se développer.

Végétaux Angiospermes : sont des végétaux dont les organes reproducteurs sont condensés en une fleur et dont les graines fécondées sont enfermées dans un fruit.

Monocotylédones : possèdent des feuilles avec des nervures parallèles, une fleur possédant trois sépales et trois pétales, trois carpelles.

Hétérotrophes : sont des organismes capables de se développer uniquement à partir d'éléments minéraux.

Dioïque : Dont les individus ne portent qu'un type de gamète mâle ou femelle.

Pérennants : Qualifie les plantes, ou simplement les parties de celles-ci, qui subsistent plusieurs années.

Grimpante : Une plante grimpante est une plante capable de s'élever verticalement en s'appuyant, en s'accrochant ou en s'enroulant sur ou autour d'un support vertical.

Rhinovirus : appartenant à la famille des picornavirus Leur nom provient du fait que ces virus possèdent une adaptation spéciale pour croître dans les voies nasales.

Acide hyaluronique : C'est l'un des principaux composants de la matrice extracellulaires. Il contribue de façon significative à la prolifération et à la migration des cellules. Il peut se trouver impliqué dans la progression de certaines tumeurs malignes.

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2- azino-bis-3-éthyl-Benzo thiazoline Sulfonique

BHA : le butyl hydroxy anisole

BHT : le butyl hydroxyle toluène

DPPH : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl

EAG : Equivalent d'acide gallique

EAG/ g EXS : équivalents de l'acide gallique par gramme d'extraits sèche.

EAA/g EXS : équivalents de l'acide ascorbique par gramme d'extraits sèche

EXS : Extraits sèche

Fe-SOD : La superoxyde dismutase ferreux

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur du fer

GPx : La glutathion peroxydase

GSH : le glutathion réduit

IC 50 : concentration d'inhibition de 50%

Mn-SOD : La superoxyde dismutase à manganèse

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

NADPH : Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate

RNS : les espèces réactives de l'azote

ROS : les espèces réactives de l'oxygène

SOD : La superoxyde dismutase

Trolox : Acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylique

W₈ O₂₃ : Tungstène

Liste des Figures

Figure 1 : Représentation de quelques espèces de Dioscorea (Dioscoréacées) (Maurin et al., 2016)	5
Figure 2 : Classification et Structure des squelettes des polyphénols (Rigacci et al., 2015)....	12
Figure 3 : mecaniseme d'action de des polyphenoles (Apak et al., 2007).....	13
Figure 3 : La localisation géographique du lieu de récolte de Tamus sp (google maps)	14
Figure 4 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH • des extraits de Tamus sp et BHA a différente concentration.....	24
Figure 5 : Pourcentages de l'activité anti radicalaire par ABTS des extraits de Tamus SP et le Trolox.....	25
Figure 6 : Activité antioxydante des extraits bruts de Tamus sp déterminée par le test FRAP, exprimée en mg EAA /g EXS.....	26
Figure 7 : Activité antioxydante des extraits de plante étudié déterminée par les tests ABTS, DPPH et FRAP exprimée en mg/ml.....	26

Liste des tableaux

Tableau I : Rendement d'extraction des composés phénoliques dans les extraits bruts du Tamus sp.....	20
Tableau II : teneur en phénols totaux des extraits du Tamus sp en mg EAG/ g EXS.....	21
Tableau III : Teneur en Flavonoïdes des Extraits du Tamus sp en mg EQ/g EXS.....	22
Tableau VI : IC50 des standard BHA, Trolox et acide ascorbique oxydantes de différentes testes	27

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Glossaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction-1-

Synthèse Bibliographique

Partie I : Etude ethnobotanique de Tamus sp

1. Dioscoreales L- 3 -
2. La Systématique- 3 -
3. Tamus sp- 3 -
 3.1. Description de quelques espèces de genre Tamus :.....- 4 -
 3.2. Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales :.....- 5 -
 3.3. Les travaux antérieurs sur le Tamus :.....- 6 -

Partie II : Stress oxydatif et antioxydante végétale

1. Définition de stress oxydante :.....- 7 -
2. Origines de stress oxydatif.....- 7 -
3. Les Radicaux libre :.....- 8 -
 3.1. Définition :.....- 8 -
 3.2. Production des radicaux libres :- 8 -
 3.3. Mécanismes d'oxydation des radicaux libres.....- 9 -
4. Les conséquences du stress oxydatif :- 9 -
5. Les antioxydants :- 9 -
 5.1. Définition :.....- 9 -
 5.2. Le système de défense des antioxydants :- 10 -
 5.2.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques) :.....- 10 -
 5.2.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques) :.....- 10 -
6. Polyphénol comme antioxydante :.....- 11 -
 6.1. Définition :.....- 11 -
 6.2. Biosynthèse des composés phénoliques :.....- 11 -
 6.3. Structure et Classification des poly phénols :.....- 12 -

6.4. Propriétés antioxydantes des polyphénols :.....- 12 -

Parties pratiques

Partie I: Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal :- 14 -

2. Extraction et dosage des composés phénoliques :- 15 -

 2.1. Préparation des extraits bruts éthanoliques :- 15 -

 2.2. Estimation quantitative des phénols totaux :- 15 -

 2.3. Estimation quantitative des flavonoïdes totaux :- 16 -

3. Evaluation de l'activité antioxydants par les extraits :- 17 -

 3.1. Le test de piégeage du radical DPPH :- 17 -

 3.2. Le teste de réduction du radical ABTS :- 18 -

 3.3. Pouvoir réducteur « FRAP » :- 18 -

4. Etude statistique :- 19 -

Partie II : Résultats et Discussions

1. Rendements des extractions :- 20 -

2. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes totaux :- 20 -

 2.1. Teneur en polyphénols totaux :- 21 -

 2.3. Teneur en flavonoïde totaux :- 22 -

3. Evaluation de l'activité antioxydants par les extraits de plante étudiée :- 23 -

 3.1. Test de piégeage du radical DPPH :- 23 -

 3.2. Activité anti-radicalaire de l'ABTS :- 24 -

 3.3. Test pouvoir réducteur :- 25 -

4. Efficacité antioxydante des extraits brute de *Tamus sp*:- 26 -

Conclusion et perspectives.....-29-

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Introduction

Bien avant la médecine moderne, la guérison par les plantes était utilisée par nos ancêtres depuis plusieurs siècles. Ainsi, l'Homme a remarqué que les préparations à base des racines, d'écorces, des feuilles et des fleurs de certaines espèces végétales (plantes médicinales) pouvaient soulager ses douleurs et ses maux divers. Mais, le développement du domaine chimique a orienté les chercheurs vers la synthèse de principes actifs d'une manière abondante et hâtive. Néanmoins, le traitement avec ces molécules chimiques, a laissé apparaître des effets secondaires au niveau de l'organisme.

Les radicaux libres d'oxygène, plus généralement connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que les espèces réactives de l'azote (RNS), sont bien connus pour jouer un double rôle en tant qu'espèces à la fois délétères et bénéfiques « caractère double face » (**Valko et al., 2006**), sont particulièrement instables et vont réagir rapidement et de manière non spécifique avec la plupart des molécules biologiques. Ces agents oxydants peuvent endommager les cellules en commençant par des réactions chimiques en chaîne telle que la peroxydation des lipides, ou par oxydation de l'ADN ou des protéines (**Sies, 1997**) Des dommages à l'ADN peuvent provoquer des mutations et, éventuellement, le cancer, tandis que les dommages aux protéines provoquent une inhibition de l'enzyme, la dénaturation et la dégradation des protéines et par conséquent des pathologie lie au stress oxydatifs (**Valko et al., 2006**).

Les dommages oxydatifs provoqués par le stress oxydant sont impliqués dans l'étiologie du cancer, des maladies cardiovasculaires et d'autres maladies dégénératives, Au cours de ces dernières années, un nombre croissant de rapports confirment que beaucoup de fruits et légumes peuvent offrir une protection contre certaines maladies chroniques causées par le stress oxydatif (**Sun et al., 2009**), et une attention considérable a été portée aux propriétés antioxydantes des plantes qui peuvent être utilisés pour la consommation humaine. Les composés phénoliques suscitent un intérêt considérable dans le domaine de l'alimentaire, de la chimie et de la médecine en raison de leur potentiel antioxydant prometteur Les éventuels avantages de la consommation des polyphénols pour la santé ont été suggérés (**Kalia et al., 2008**), Les composés phénoliques ou polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes, Ces métabolites comprennent de nombreuses

classes de composés allant des acides phénoliques simples aux flavonoïdes complexes (**Nawaz et al., 2006**).

Par ailleurs, Les antioxydants artificieux, tels que le butyl hydroxy anisole (BHA), le butyl hydroxyle toluène (BHT), ont été largement utilisés dans les denrées alimentaires pour prévenir les radicaux libres, mais leur utilisation est progressivement restreinte dans l'industrie alimentaire car ils sont soupçonnés d'être toxiques et cancérigènes. Pour cette raison, le développement d'antioxydants plus efficaces d'origine naturelle est souhaitable, même si elles ne pas être comparable en efficacité aux agents synthétiques (**Namiki, 1990**).

La valorisation des plantes médicinales en vue d'exploiter leurs extraits ou leurs principes actifs représente donc un potentiel économique énorme.

Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude est de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des extraits de plante médicinale spontanée du la région de Kabylie qu'est le Tamus .

Synthèse
Bibliographique

Partie I
Etude ethnobotanique
de Tamus sp

Partie I : Etude ethnobotanique de *Tamus sp*

1. Dioscoreales :

Est un ordre largement diversifié et hétéromorphes de angiospermes monocotylédones qui comprend trois familles : le Burmanniaceae myco hétérotrophes, le Nartheciaceae autotrophique et le Dioscoreaceae, ce dernier inclus genre *Tamus*, il se présente que dans le sud, Centre-Sud et de l'Ouest du Europe (**Shaheen et al., 2009**).

2. La Systématique :

La classification botanique de *Tamus sp* est présentée comme suite (**Belkhiri, 2018**) :

Règne : Plantae ;

Embranchement : Spermatophytae ;

Sous-embranchement : Angiospermae ;

Classe : Monocotylédoneae ;

Ordre : Dioscoreales ;

Famille : Dioscoreaceae ;

Genre : *Tamus* (Dioscorea, selon la classification moderne (**Maurin et al., 2016**))

3. *Tamus sp* :

Est un genre de plantes monocotylédones qui est très diversifié dans de nombreuses régions tropicales du monde, avec relativement peu de taxons trouvés dans les latitudes tempérées. Il comprend plus de 600 espèces, dont la plupart ont toutes des organes pérennants (rhizome et/ou tubercule). Ces organes donnent naissance à des tiges herbacées, généralement jumelles, portant des feuilles basale et apicale et des nervations. La plupart des espèces sont dioïque, avec des fleurs trimères relativement petites, typiquement monocotylédones, dans des inflorescences partielles, avec des plantes femelles contenant habituellement jusqu'à six graines ailées dans chaque ovaire inférieur. La plus grande diversité d'espèces par unité de surface se trouve dans les zones tropicales, par exemple, le sud du Brésil, certaines parties du Mexique, l'ouest l'Asie (**Maurin et al., 2016**).

3.1. Description de quelques espèces du genre *Tamus* :

❖ *Tamus communis* :

Une plante herbacée vivace, rhizomateuse, grimpante, lianescente de 2 à 3 m d'hauteur, dioïque, glabre, à tige grêle, cylindrique, striée, dépourvue de vrilles ; la racine est grosse noirâtre tubérisée, ressemblant à un gros navet. Les feuilles sont alternes en forme de fer de lance ou cordiformes très effilées en pointe, aux nervures fortement marquées et pourvues de deux stipules épineux (**Krache, 2009**). Les fleurs femelles étoilées (5-7 mm) de couleur jaune verdâtre, les mâles sont réunis en panicules assez (**Schols et al., 2003**). Les fruits sont sous forme de baies charnues rouges, juteuses, renfermant 5 graines sphérique.

❖ *Tamus sylvatica* :

Est une plante herbacée, vivace, non armée (sans glabre), plus de 4 m de long, tiges (1 à plusieurs) annuelles d'un tubercule souterrain pérenne solitaire à 30 cm , entières à profondément lobées, irrégulièrement ovoïdes; surface de tubercule liégeuse, rugueuse, craquelée, parfois réticulée, avec des feuilles alternes, entières à 3-lobées, en forme de cœur à deltoïdes; apex triangulaire, 1-2 mm de long ; inflorescences racémeuses; mâle simple, fleurs solitaires sur pédicelles ,la femelle à 10 cm de long; tépales de 1,9-3,2 mm de long, graines ailées à l'apex, parfois avec une aile basale très étroite. Souvent dans les endroits rocheux, Tolérant des sols riches en métaux lourds ("**CJB - Base de données des plantes d'Afrique - Détail,**" n.d.).

❖ *Tamus Elephantipes* :

Est une plante grimpante, qui pousse jusqu'à 1.5 m de long, le tubercule a un diamètre allant jusqu'à 75 cm de diamètre, parfois jusqu'à 3 m de large et 1 m de haute, il se trouve en grande partie au-dessus du sol, la du tubercule est gris – brun et dure, avec des plaques épaisses de liège qui sont semblable aux plaques d'une tortue. Le tissu intérieur est blanc jaunâtre, opaque et friable. La tige mesure jusqu'à 90 cm de long et 15 mm de diamètre de base, brun foncé, glabre et ramifiés, les feuilles sont petites, généralement jusqu'à 3cm de large et long, la base est arrondie ou en forme de cœur. la plante est dioïque les fleurs mâles et femelles sont sur des plantes séparées. Les fruits est une capsule a 3 ailerons de 2cm de long et 1,8 cm de diamètre. Cette plante est d'origine de l'Afrique du sud, se situe dans des pentes rocheuses en sol sec, a 150 – 1200 m d'altitude ("**Dioscorea elephantipes - Jungle Tropicale,**" n.d.).

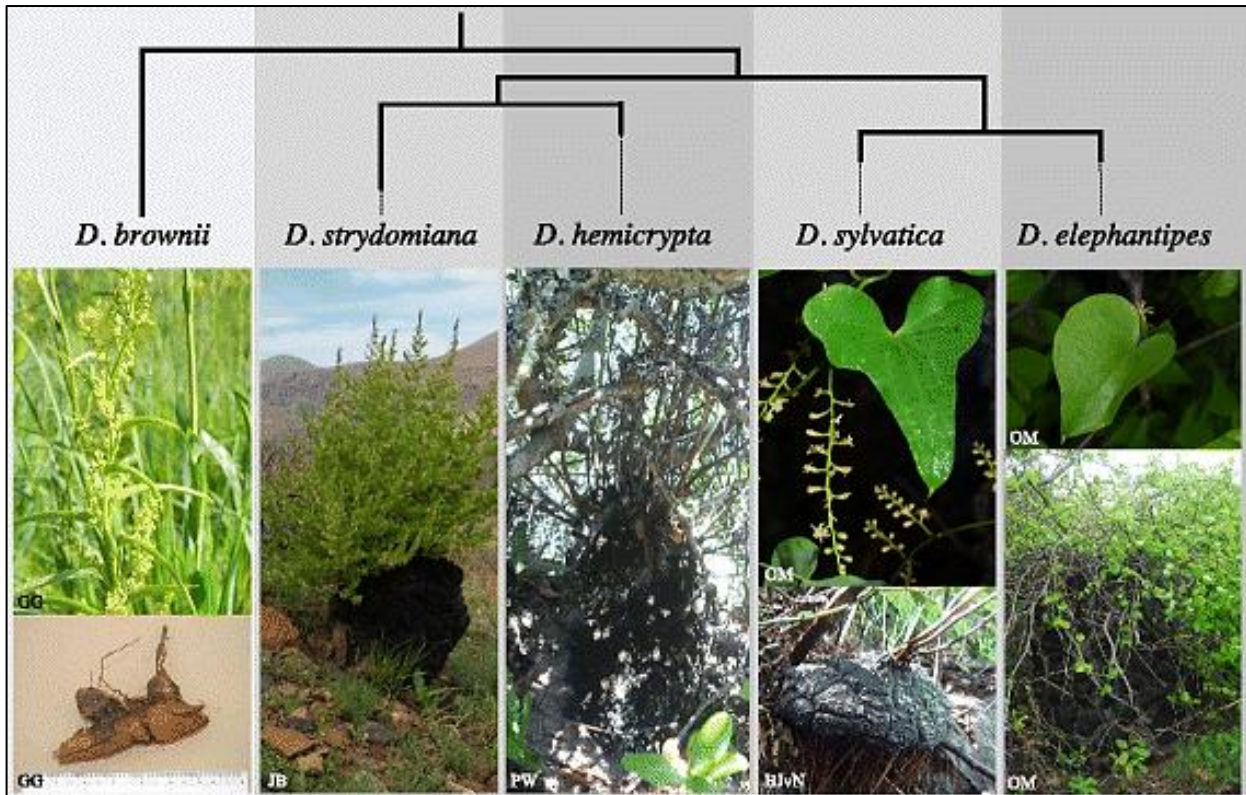


Figure 1 : Représentation de quelques espèces de *Dioscorea* (*Tamus* sp) (Maurin *et al.*, 2016).

3.2. Propriétés d'utilisation traditionnelles et médicales :

Le Tamier est dans son ensemble un gros rhizome noirâtre contient un lait astringent (oxalates de calcium) qui peut provoquer des dermatites de contact (Schmidt et Moul, 1983). La pulpe était autrefois prescrite comme purgatif et diurétique, est principalement utilisée pour ses propriétés antinévralgiques en usage externe sous forme de cataplasme (racine cuite) pour traiter les hématomes et les ecchymoses, d'où son nom vernaculaire d'herbe aux femmes battues (Krache, 2009).

Les racines sont douées d'activité diurétique, hémolytique, émétique, cathartique et rubéfiante. Elle est même recommandée dans le traitement de la coqueluche, bronchite et contusions (Capasso *et al.*, 1983). Les rhizomes et tubercules sont utilisés en médecine folklorique comme rubéfiant, dans le traitement du rhumatisme, arthrose, lumbago et dermatose (Leporatti et Ivancheva, 2003).

Les fruits, doués d'activité anti-inflammatoire sont frottés sur la peau pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales (**Guarrera et Lucia, 2007**). D'autres part, différentes parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des tumeurs et polypes (**Kovács et al., 2007**).

3.3. Les travaux antérieurs sur le *Tamus* :

Les seules études qui ont été réalisées sur ce genre sont focalisées autour l'espèce *Tamus communis L*

❖ Effets anticancéreux :

Des études *in vitro* ont démontré l'activité cytotoxique des phénanthrènes dérivés des rhizomes contre les cellules cancéreuses du col de l'utérus (**Kovács et al., 2007**).

❖ Effets antioxydantes :

Des études ont été effectuées sur les extraits méthanoliques obtenus à partir de fruits mûrs, ont révélé des propriétés antioxydantes proche de 50% pour la puissance réductrice et de piégeage de β -carotène / linoléate (**Rafael et al., 2011**).

❖ Effets anti-inflammatoires :

Les études réalisées par (**Capasso et al., 1983**), ont illustré des effets anti-inflammatoires et analgésiques de l'extrait éthanolique de racines, chez les animaux représentant déjà une inflammation proliférative. Toutefois, les essais pharmacologiques préliminaires ont également indiqué que les extraits éthanoliques de feuilles et de baies pouvaient empêcher la formation d'œdème induit par le carragénine.

❖ Effets antiviraux :

Les phénanthrènes dérivés de rhizomes de *T. communis* ont une activité inhibitrice contre les virus de la stomatite vésiculeuse et humaine de type rhino virus 1B (**Aquino et al., 1991**).

Partie II

Stress oxydatif

et antioxydante végétale

Partie II : stress oxydatif et antioxydante végétales

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique (Walker et al., 1982).

1. Définition de stress oxydante :

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants (Pincemail et al., 1999), Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants, ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink et al., 2008). En effet, certaines sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux. Ce n'est que lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité apparaît (Sies, 1997).

2. Origines de stress oxydatif

Lors d'un stress oxydant, les EOR non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules cellulaires (les lipides, les protéines, l'ADN) qui due aux dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale, d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine et catécholamines). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant ((Pincemail et al., 2002) ;(Koechlin-Ramonatxo, 2006)).

3. Les Radicaux libre :

3.1.Définition :

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié (électrons célibataires). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta et Baenziger, 2003**). L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène: anion superoxyde ($O_2 \bullet^-$), radical hydroxyle ($OH \bullet$) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). A côté des ROS, il existe des RNS (espèces réactives azoté) dont le représentant majeur le $NO \bullet$, Il est synthétisé par les NO synthases (NOS) (**Favier, 2003**).

3.2.Production des radicaux libres :

Les radicaux libres, dérivés du métabolisme, sont produits dans toutes les cellules, même si certaines en fabriquent des quantités plus importantes (par exemple les macrophages pendant la phagocytose). Les principaux radicaux libres présents dans les cellules aérobies, notamment les cellules humaines .Ces dernier sont présentent en oxydent les molécules (molécules se trouvant à l'intérieur des cellules, en particulier des lipides), ce qui provoque la mort des cellules. Toutefois le corps humain possède des mécanismes de défense contre les effets des radicaux libres ; Ce sont les enzymes qui dégradent les peroxydes, les métaux de transition (**Hubert et al., 1998**).

La principale source de ROS est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire, elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires. Il existe de nombreuses autres sources parmi lesquelles l'autooxydation des petites molécules, Les cyclooxygénases et lipooxygénases, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase, le réticulum endoplasmique et les peroxysomes (**Mohammedi, 2013**).

3.3.Mécanismes d'oxydation des radicaux libres

Les ROS de part leur structure électronique instable peuvent attaquer les composants cellulaires, Ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés (phénomène de lipoperoxydation des membranes cellulaires), ils agressent également sur les protéines, les microfibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les acides nucléiques des chromosomes et l'ADN lui-même est transformé entraînant l'apparition d'où une série d'anomalie dont le risque de cancérisation ; Qui résulte par la suite des lésions de la membrane cellulaire, qui peuvent aboutir à des dérèglements d'intensité variable, conduisant éventuellement à la mort cellulaire et l'apparition des maladies (**Barreto, 2002**).

4 Les conséquences du stress oxydatif :

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles (**Rahman, 2002**). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés. Ainsi, ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies, Incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (**Mohammedi, 2013**).

5. Les antioxydants :

5.1. Définition :

Les antioxydants sont définis par **HALLIWELL** comme « toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé retarde ou inhibe l'oxydation de ce substrat », ils interviennent en protégeant les cellules des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres (**Pastre et Priymenko, 2007**). Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les ROS et RNS (**Benbrook, 2005**).

5.2. Le système de défense des antioxydants :

Il existe deux systèmes de défense des antioxydantes ;

5.2.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques) :

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika et al., 2004**).

- ❖ **La superoxyde dismutase (SOD) :** accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)] (**Piquet et Hébuterne, 2007**).
- ❖ **La catalase :** présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Piquet et Hébuterne, 2007**).
- ❖ **La glutathion peroxydase (GPx) :** La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydro peroxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (**Piquet et Hébuterne, 2007**).

5.2.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques) :

Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Wang et al., 2003**). Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres, Les sources alimentaires de ces antioxydants naturelles sont présentées dans (Annexe 1) (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

6. Polyphénol comme antioxydante :

6.1. Définition :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

6.2. Biosynthèse des composés phénoliques :

❖ Voie de l'acide shikimique :

Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux (Annex 2) Ils sont formés, à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie bien connue de l'acide shikimique, conduisant à la formation de phénylalanine qui, par désamination, donne le précurseur immédiat des phénols, l'acide cinnamique. L'acide cinnamique est rapidement transformé en acide p-coumarique par l'addition d'un radical hydroxyle. La tyrosine est également désaminée en acide p-coumarique (**Chalal et al., 2012**).

❖ Voie de l'acétate :

C'est une voie à part de l'acétate qui conduit à des poly-B-cétoesters de longueur variable. Les polyacétates qui engendrent, par cyclisation, des composés souvent polycycliques : isocoumarines, xanthones, quinones... etc. La pluralité structurale des composés phénolique est due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité très fréquente, d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte (exemple : flavonoïdes) (**Chalal et al., 2012**).

6.3. Structure et Classification des polyphénols :

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Figure 2). Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques (Rigacci et al., 2015).

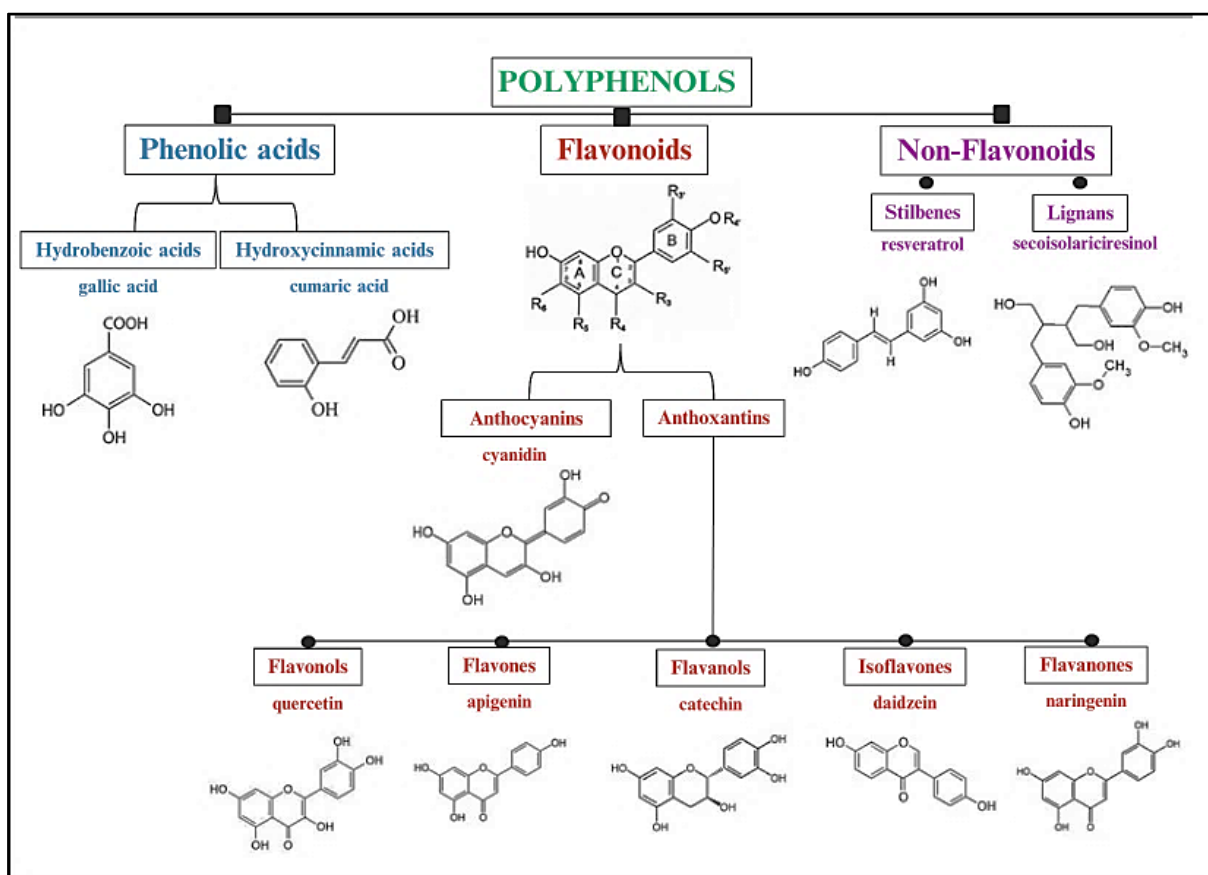


Figure 2: Classification et Structure des squelettes des polyphénols (Rigacci et al., 2015)

6.4. Propriétés antioxydantes des polyphénols :

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène (Apak et al., 2007). Leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyle des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes ; ils peuvent réagir

avec les ROS de l'oxygène et les RNS, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu (Laughton et al., 1989).

D'après (Pereira et al., 2009), suite à l'interaction avec les espèces réactives initiales, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite, ayant une plus grande stabilité chimique que le radical initial. L'interaction des groupes hydroxyle de composés phénoliques avec les électrons du noyau benzénique donne les radicaux libres, où le radical est stabilisé par la délocalisation. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqués dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme des prooxydants.

Les polyphénols peuvent agir selon divers mécanismes (Figure 3) :

- Inhibition enzymatique (par la réduction des hydro peroxydes et du peroxyde d'hydrogène) ;
- Chélation des ions métalliques (par la séquestration des ions métalliques) ;
- Piégeage des radicaux libres (par des réactions de complexation) (Apak et al., 2007).

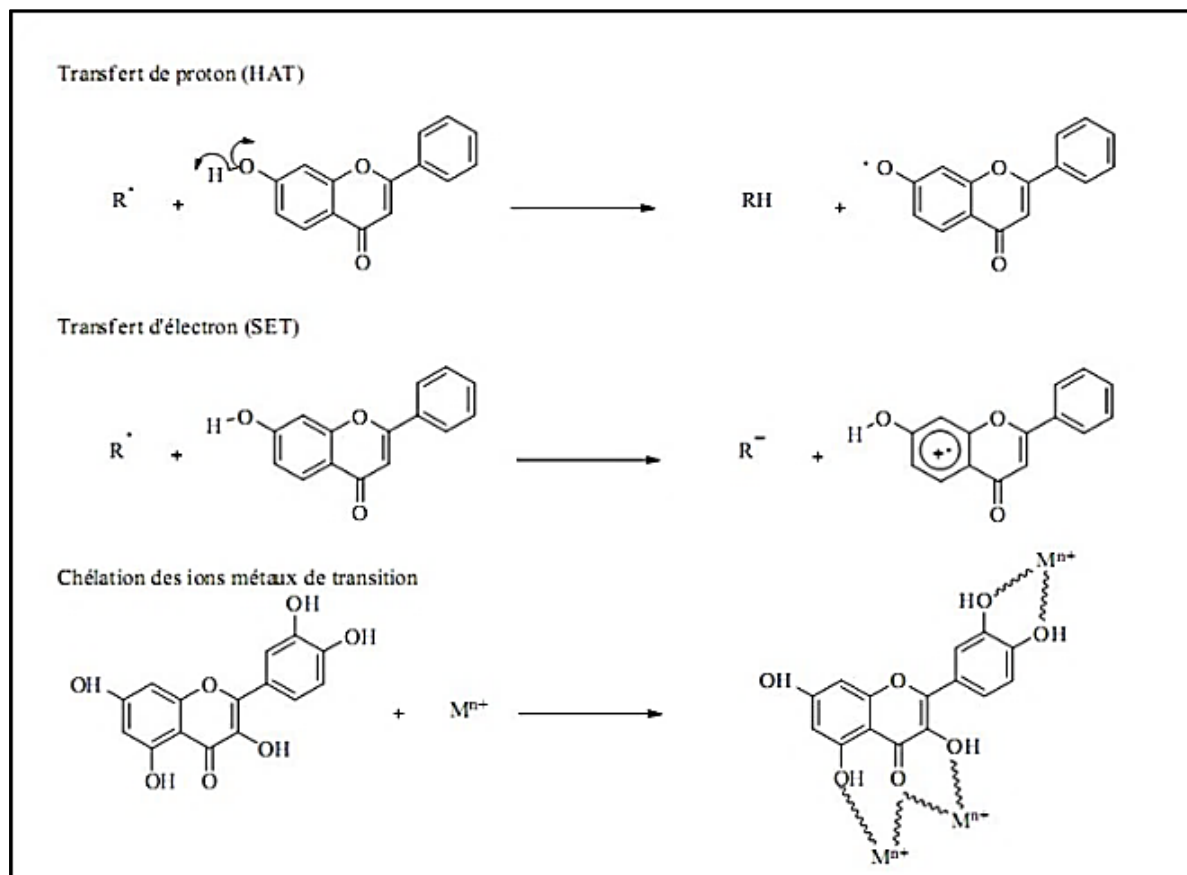


Figure 3 : Mécanisme d'action de des polyphénoles (Apak et al., 2007)

Parties expérimentales

Partie I
Matériel et Méthodes

Partie I : Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal :

La cueillette de *Tamus* sp a été faite durant l'année (2017/2018) à Amizour Bejaïa-Algérie (36° 38' 39" Nord 4° 54' 20" Este, 96 m d'altitude) en bon matin (Figure 4), La récolte a été réalisée tôt le matin. Les échantillons sont déposés au niveau du laboratoire de biotechnologies végétales et Ethnobotanique.



Figure 4 : La localisation géographique du lieu de récolte de la plante d'étude (google maps)

Les différentes parties de la plante récoltées (Grain, Fruit, Feuilles, Tige et Racine) ont été nettoyées de tous contaminants à l'eau courante, puis séchées à l'étuve à 40°C pendant une semaine jusqu'à la stabilité de leurs poids. La matière sèche obtenue a été ensuite réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et tamisées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine d'un diamètre $\leq 125 \mu\text{m}$. Les poudres obtenues ont été conservées dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière.

2. Extraction et dosage des composés phénoliques :

2.1. Préparation des extraits bruts éthanoliques :

Une extraction solide/liquide a été réalisée suivant le protocole décrit par (Benhammou et al., 2008) modifiée.

100g de poudre végétale (pour chaque partie de la plante) a été laissée macérer sous agitation magnétique dans un volume de 1000 ml d'éthanol à 70% pendant 48 h à température ambiante. Les extraits obtenus sont filtrés sur papier wattman, le solvant organiques (éthanol) c'est évaporé sous pression réduite à 40 °C. Les extraits obtenus ont été ensuite complètement séchés à l'étuve (40°C) pendant 24h et conservés jusqu'à utilisation.

❖ Calcule du taux d'extraction

Le taux d'extraction exprimé en (%) a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [P1 / P0] * 100$$

P1 : poids de l'extrait sec exprimé en gramme.

P0 : poids initial de poudre végétale exprimé en gramme.

2.2. Estimation quantitative des phénols totaux :

❖ Principe :

La quantification des composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalcu ; mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit en présence des phénols totaux en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel. Cette coloration possède une absorption maximum aux environs de 750 à 760 nm (Singleton et al., 1999).

❖ Mode opératoire :

0.2ml de l'extrait végétal solubilisé dans l'éthanol (1mg/ml) sont bien mélangés avec 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalcu à 10% et 0,8 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 : 7.5%). Après agitation, laissés réagir à température ambiante pendant 2h avant de mesurer la

DO à 765 nm. Il est à noter qu'un blanc a été préparé en mélangeant 0,2 ml de éthanol avec 1,5ml du réactif de Folin-Ciocalcu et 0,8 ml de solution Na_2CO_3 (Wong et al., 2006).

❖ Expression des résultats :

Les taux de composés phénoliques totaux contenus dans les extraits éthanoliques des différentes parties de notre plante a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (Annexe 3) obtenue à différentes concentrations en acide gallique suivant le même protocole de dosage des polyphénols exprimé en mg équivalent d'acide gallique /g de l'extrait sèche (mg EAG/g EXS)(Wong et al., 2006).

2.3.Estimation quantitative des flavonoïdes totaux :

❖ Principe :

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extrait de cinq parties de la plante, est réalisé par la méthode chlorométrique (Quettier-Deleu et al., 2000), dont le principe, repose sur la capacité des flavonoïdes à former des complexes avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3), qui absorbe au maximum à 430nm.

❖ Mode opératoire :

La teneur en flavonoïde a été estimée par la méthode colorimétrique adaptée par(Quettier-Deleu et al., 2000).1ml de solution d'extrait éthanolique a été ajouté à 1 ml de AlCl_3 , apres incubation à la température ambiante pendant 15 min, l'absorbance de la solution de couleur rosâtre est mesurée à 430nm contre le blanc. Des mesures triple ont été prises et des valeurs moyenne calculées.

❖ Expression des résultats :

La concentration en flavonoïdes contenue dans les différents extraits, est calculée par référence à une courbe d'étalonnage, en utilisant la quercétine comme standard(annexe 4) et la concentration a été exprimée en mg équivalent de quercétine /g de l'extrait sèche (mg EQ /g EXS) (Quettier-Deleu et al., 2000).

3. Evaluation de l'activité antioxydants par les extraits :

3.1. Le test de piégeage du radical DPPH :

❖ Principe :

La réduction du radical libre DPPH•, par un antioxydant peut être suivi par spectromètre UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm ; provoqué par les antioxydants en présence des piègeurs de radicaux libre, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl 1-picryl hydrazine de couleur jaune. Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration inhibitrice IC50. Ce paramètre est défini comme étant la concentration d'extrait nécessaire qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (Molyneux, 2004).

❖ Mode opératoire :

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008). Dans des tubes à essai nous introduit 2.5 ml de chaque extrait (à différentes concentrations) et 1ml de la solution méthanolique au DPPH (0.3 mM), après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm, le BHA utilisé comme standard aux mêmes conditions des extraits.

❖ Expression des résultats :

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante

$$I \% = [(Abs\ témoin - Abs\ teste)] / (Abs\ témoin) \times 100$$

Abs témoin : l'absorbance du radical DPPH + éthanol ;

Abs teste : l'absorbance de l'échantillon ; radical DPPH + Extrait / standard.

3.2. Le teste de réduction du radical ABTS :

❖ Principe :

Le dosage ABTS mesure la capacité relative de l'antioxydant à piéger le cation $ABTS^{*+}$ généré en phase aqueuse, par rapport à un standard, Trolox (analogue de la vitamine E, soluble dans l'eau). Le $ABTS^{*+}$ est généré par la réaction d'un agent oxydant fort (ex., permanganate de potassium ou persulfate de potassium) avec le sel ABTS, La réduction de radical l' $ABTS^{*+}$ en couleur bleu-vert par un antioxydant donneurs d'hydrogène est mesurée par spectrophotomètre UV-visible (Miller et Rice-Evans, 1997).

❖ Mode opératoire :

2,9 ml de solution d'ABTS, sont ajoutés à 0,1 ml d'extrait a différentes concentrations, la lecture est faite à 734 nm après 30 min d'incubation a la température ambiante. Le Trolox est utilisé comme standard (Ba et al., 2010).

❖ Expression des résultats :

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$I \% = [(Abs\ témoin - Abs\ teste)] / (Abs\ témoin) \times 100$$

Abs témoin : l'absorbance du radical ABTS + éthanol ;

Abs teste : l'absorbance de l'échantillon ; radical ABTS + Extrait / standard.

3.3. Le pouvoir réducteur « FRAP » :

❖ Principe :

Cette méthode est basée sur ,la capacité réductrice d'un composé ou d'un extrait brut peut être mesurée par la réduction directe de $Fe^{3+}(CN)_6$ à $Fe^{2+}(CN)_6$ (Que et al., 2006). Dans ce procédé, l'antioxydant forme un complexe coloré avec ferricyanure de potassium, l'acide acétique trichloro et le chlorure ferrique, l'absorbance du complexe est mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance de mélange réactionnel indique le pouvoir réducteur des échantillons.

❖ Mode opératoire :

Le pouvoir réducteur de nos extraits est mesuré suivant la méthode décrite par (Oyaizu, 1986) modifiée.

0,2 ml du tampon phosphate de 0,2 M (Ph = 6,6) et 1 ml de $K_3 Fe (CN)_6$ (1 % masse/volume) sont ajoutés à 1 ml d'échantillon dissous dans de l'eau distillée à des concentrations variables (1-2 mg). Le mélange résultant est incubé à 50°C pendant 20 min, suivi par l'addition de 1 ml d'acide trichloroacétique (10 % masse/volume). Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. 1 ml de surnageant est mélangé avec l'eau distillée (1 ml) et 0,2 ml de $FeCl_3$ (0,1 % masse/volume). La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel est lue à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée. Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique a été utilisé comme standard (Alam, Md.N. et al., 2012).

❖ Expression des résultats :

Les résultats du pouvoir réducteur de nos extraits sont exprimés en IC₅₀ et en milligramme équivalence d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche en se référant à la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique (Annexe 7) (Alam, Md.N. et al., 2012).

4. Etude statistique :

Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillon analysé et les résultats ont été exprimés sous forme : moyenne \pm écart type. Des comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel Statistica. Les différences ont été considérées comme étant significatives à $\alpha < 0,05$. L'analyse des données des régressions linéaires et des régressions non linéaires a été faite par l'utilisation des programmes suivants : Origin 2018b (version 9.55) et Excel® (Microsoft Excel 2016).

Partie II
Résultats et Discussions

Partie II : Résultats et Discussions

1. Rendements des extractions :

La plante étudiée dans ce travail a été macérée dans l'éthanol 70% pendant 48 h. Les rendements d'extraction obtenus pour les différents organes de la plante, est exprimé en pourcentage massique par rapport à la matière sèche. Sont récapitulés dans la (tableau I).

Tableau I : Rendement d'extraction des composés phénoliques dans les extraits bruts des différents organes de *Tamus sp.*

Extraits	Rendement en %
Grains	6,81
Fruits	31,57
Feuilles	28,19
Tige	15,25
Racine	16,05

Nous constatons que les pourcentages enregistrés sont compris entre 6,81 et 31,57%. L'extrait des fruits donne clairement le meilleur rendement 31,57 %, suivie par l'extrait des feuilles avec un rendement de 28,19%. Le rendement le plus faible est celui de tige de l'ordre de 15,25 %. Par comparaison a une étude qui été faite sur la racine de *Tamus Communis L* une valeur de $8,052 \pm 0,53$ % (**Belkhiri, 2018**) Ce rendement est évidemment inférieur à celui trouvé dans notre étude pour l'extrait de racine, ce qui est peut-être dû au solvant d'extraction qui été le méthanol et à la différence des techniques d'extractions utilisées :les intervalles de temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles.

Le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs acteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la taille des particules, la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation (**Spigno et al., 2007**).

2. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes totaux :

Jusqu'ici peu d'études ont été réalisées sur la quantification des polyphénols dans les extraits de *Tamus sp.*

2.1. Teneur en polyphénols totaux :

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir de *Tamus sp* un dosage des polyphénols totaux a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués.

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Follin- Ciocalteu pour chaque extrait. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sèche (mg EAG/g EXS). Cette méthode de dosage représente une bonne productibilité puisque ; l'absorbance et étroitement corrélée à la concentration de l'acide gallique utilisé dans la gamme étalon : $R^2 = 0,995$ (Annexe 3).

Tableau II : teneur en phénols totaux des extraits éthanoliques des différents organes de *Tamus sp* de *Tamus sp* en mg EAG/ g d'extrait

Extrait	Teneur en polyphénols en mg EAG/g EXS
Grain	44,33 ± 5,56
Fruit	38 ± 0,67
Feuille	63 ± 1,11
Tige	45 ± 3,33
Racine	59,67 ± 6,22

D'après les résultats (Tableau II), Les teneurs en phénols totaux varient largement dans les différents extraits bruts (de 38 à 63 mg EAG/g EXS). L'extrait des feuilles possède la plus haute teneur en polyphénols (63 ± 1,11 mg EAG/g EXS), suivi par une teneur élevée en phénols dans l'extrait de racine et de tige (59,67 ± 6,22 et 45 ± 3,33mg EAG/g EXS), tandis que celle de fruit est considérée comme une source moins riche en phénols totaux (38 ± 0,67mg EAG / g EXS) par rapport à celle de grain (44,3 ± 5,56 mg EAG/g EXS).

Peu de données bibliographiques concernant la teneur en composés phénoliques de plante choisie sont disponibles. Dans un travail précédent (**Rafael et al., 2011**), nous avons trouvé dans l'extrait fruit d'une espèce (*comminus L*) de meme genre, la teneur en composés phénoliques suivante : 5,041 ± 0,166 mg EAG/g EXS ,Ces résultats est nettement inférieur à ceux que nous avons trouvé . Dans une autre étude portant sur la meme l'espèce « *communis L* » L'extrait méthanoliques de la racine, sa fraction d'acétate d'éthyle donne la teneur suivante

: $61,432 \pm 9,466$ mg EAG/g de matière sèche, Ce dernier est supérieur à ce que nous avons trouvé et ceci peut s'expliquer par le fait que cette teneur se rapport à la fraction d'acétate d'éthyle obtenue par extraction liquide-liquide de l'extrait brut et non à l'extrait brut éthanolique lui-même. En plus d'une teneur de $24,756 \pm 6,663$ mg EAG/g de matière sèche délipidée, ce qui est dû peut-être au traitement de dilapidation ce qui n'est pas le cas dans notre étude (Belkhiri, 2018).

2.3. Teneur en flavonoïde totaux :

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gómez-Caravaca et al., 2006).

Selon les résultats obtenus (Tableau III), les taux des flavonoïdes semblent être assez importants pour l'extrait éthanolique feuille par rapport aux autres extraits (146 mg EQ/g EXS), et les teneurs de fruit, tige et racine sont de 88,33, 59 et 53,33 mg EQ/g EXS respectivement. Ces valeurs sont supérieures aux résultats obtenus par (Krache, 2009) qui ont dosé un taux de $0,11 \pm 0,05$ mg EQ/g d'extrait sec de racine *Tamus Communis*. Cette différence pourrait être due au fait que leur étude a été réalisée sur des extraits lyophilisés sans avoir subi d'extraction au préalable. Cela a peut-être influencé la teneur en flavonoïdes.

Tableau III : Teneur en Flavonoïdes des extraits éthanoliques des différents organes de *Tamus sp* en mg EQ/g EXS.

Extrait	Teneur en flavonoïde en mg EQ/g EXS
Grain	$38,33 \pm 3,11$
Fruit	$88,33 \pm 2,22$
Feuille	$146 \pm 2,67$
Tige	59 ± 2
Racine	$53,33 \pm 1,11$

Ce qui nous démontre que les feuilles de *Tamus* sp sont plus riches en flavonoïdes ; cela est dû au fait que ce groupe de composés phénoliques intervient dans la coloration des feuilles et des pétales des fleurs (Havsteen, 2002).

Les teneurs élevées en composés phénoliques par comparaison aux flavonoïdes sont logiques étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols.

Cependant, le produit d'extraction peut contenir des substances non phénoliques telles que les sucres, les protéines et les pigments qui risquent d'interférer avec les composés polyphénolique et flavonoïdes lors du dosage (Djeridane et al., 2006)

3. Evaluation de l'activité antioxydants par les extraits de plante étudiée :

Il existe de nombreuses méthodes qui diffèrent sur le plan de leurs principes d'analyse et les conditions expérimentales. Les antioxydants ont des contributions différentes au potentiel antioxydant totale (Wojdyło et al., 2007). Pour cette raison l'utilisation de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (Ksouri et al., 2009).

Dans ce travail, nous avons utilisé trois méthodes pour évaluer l'activité antioxydante in vitro de plante étudiée à savoir : DPPH, ABTS et FRAP Ces tests ont été choisis parmi les tests les plus cités dans la littérature.

3.1.Le test de piégeage du radical DPPH :

Le DPPH • est un radical libre stable avec une bande d'absorption à 517 nm. Elle perd cette absorption lorsqu'elle est réduite par un antioxydant. La méthode DPPH • est employée couramment pour déterminer l'activité antioxydante des composés phénoliques purifiés ainsi que des extraits de plantes naturels (Fukumoto et Mazza, 2000),(Brand-Williams et al., 1995).

L'activité anti-radicalaire de notre extraits éthanolique augmente avec la concentration de l'extraits, dans la gamme allant de 0,1-1 mg/ml. Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire (Figure 4), révèlent que tous les extraits testés ainsi que le BHA pris comme référence sont des antiradicalaires. La racine de plante étudiée a

présenté l'activité la plus élevée (78 %), suivie par les feuilles et la tige (71 et 69 %) et en dernier les grains et le fruit (59 et 51 %) respectivement.

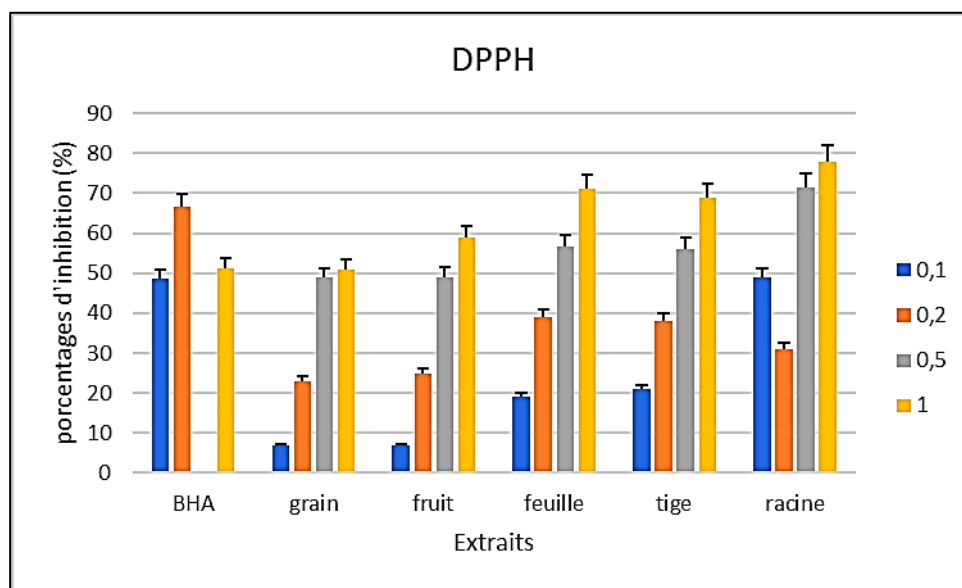


Figure 4 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH • des extrait du *Tamus* sp et le BHA a different concentrations .

En effet, cela a été confirmé par une étude réalisée par (**Rafael et al., 2011**) qui a révélé que une espèce *Communis* L de genre *Tamus* présente une bonne activité anti-radicalaire qui atteint les 81,98% presque similaire à celle que nous avons trouvé .

3.2.L'activité anti-radicalaire de l'ABTS :

La présente étude montre que tous les extraits du plantes investiguées possèdent des activités antioxydantes qui varient considérablement d'un extrait à un autre. A noter que le Trolox présentant une capacité antioxydante largement supérieure à celle des autres extraits (99,8% à 1,5 mg/ml) comme le montre clairement la (Figure 5). Autrement, L'activité antioxydante la plus élevée, a été obtenue avec la racine (98 %), suivie par les feuilles (85,83%), le grain et le fruit vient en troisième position (65,11 et 64,61 %) respectivement.

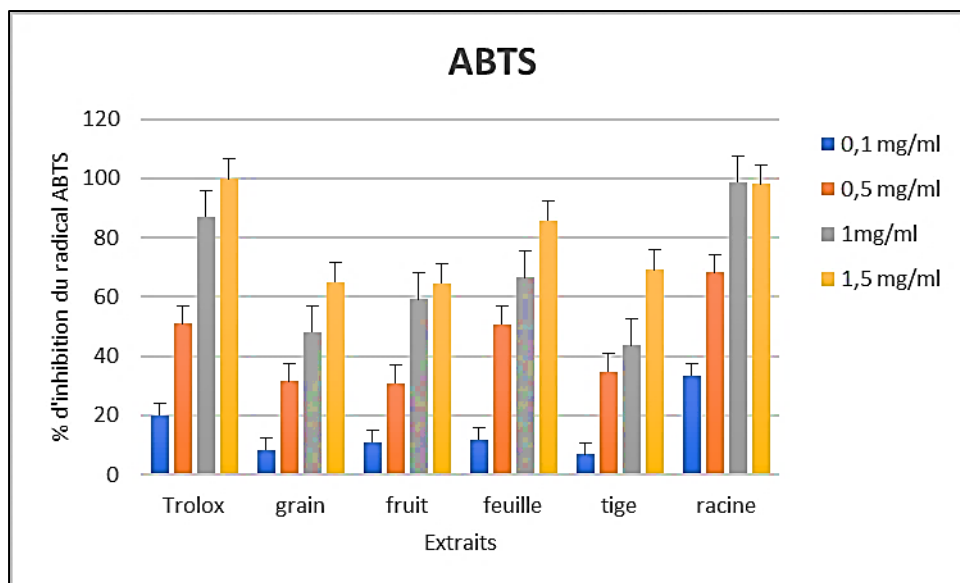


Figure 5 : Pourcentages de l'activité anti radicalaire de l'ABTS des extraits du *Tamus sp* et le Trolox a différentes concentrations.

La raison de cette dépendance, et que la réaction d'un antioxydant donné avec ABTS+ n'atteint généralement pas son point de terminaison le laps de temps autorisé. Par comparaison entre les valeurs de traces données dans différents rapports, on peut énoncer que l'intervalle de temps appliqué doit être considéré, Bien que des résultats différents sur la dépendance de concertation (**Alam, Md.N. et al., 2012**).

3.3.Le pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur d'un composé est relié à sa capacité à transférer les électrons, et peu par conséquent, servir comme indicateur significatif de leur activité antioxydant (**Ajila et al.,2007**).

La (figure 6) montre des valeurs allant de 21,8 à 78 mg EAA /g EXS de l'activité réductrice des extraits de plant étudiée. Le pouvoir réducteur le plus élevé est celui des feuilles (80 mg EAA /g EXS) suivie de celui de racine et de grain (75 et 70,5 mg EAA /g EXS), le pouvoir réducteur le plus faible est celui de fruite ayant un pouvoir 66,1 mg EAA /g EXS.

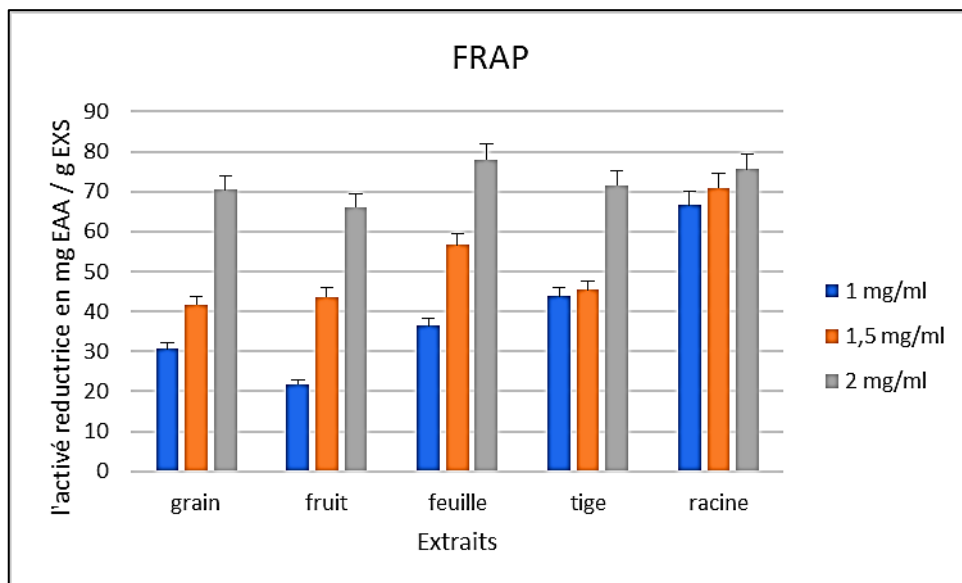


Figure 6: Activité antioxydante des extraits bruts de plante déterminée par le test FRAP, exprimée en mg EAA /g EXS.

Nous avons enregistré que l'extrait éthanolique des feuilles est au sommet avec une valeur de 80 mg EAA / g EXS à étant donné qu'il possède la teneur la plus élevée en phénols totaux qui sont riches en groupements hydroxyles donneurs d'électrons, Le pouvoir réducteur d'un composé est relié à sa capacité à transférer les électrons (Ajila *et al.*, 2007).

4. Efficacité antioxydante de différents extraits bruts de *Tamus sp* :

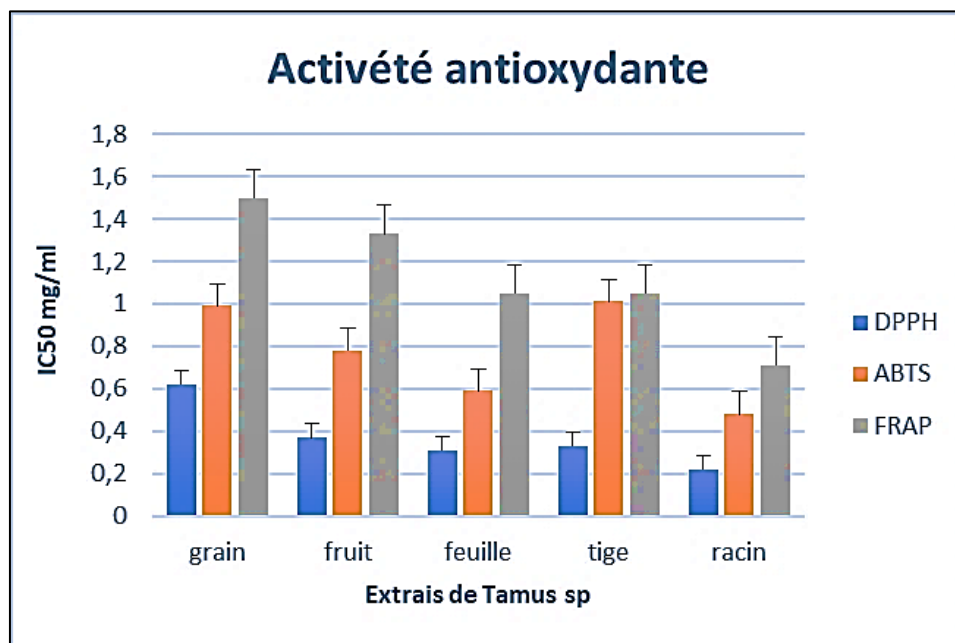


Figure 7: Activité antioxydante des extraits de *Tamus sp*, déterminée par les tests ABTS, DPPH et FRAP exprimée en mg/ml.

Tableau VI : IC50 des standard BHA, Trolox et acide ascorbique de différents tests en mg/ml.

Standard	IC50 en mg/ml
BHA	0,05
Trolox	0,04
Acide Ascorbique	0,045

En combinant les résultats de notre étude, nous avons pu mettre en évidence l'existence d'une relation étroite entre les teneurs en composés phénoliques des extraits bruts et leurs capacités antioxydantes. Les coefficients de corrélation significative $p < 0,05$.

L'activité antiradicalaire des extraits de *Tamus sp* présente également des corrélations positives significatives avec les teneurs en polyphénols totaux ($R=0,61$) et ($R=0,19$) avec les teneurs en flavonoïdes.

Le pouvoir réducteur des extraits présente des corrélations positives significatives ($R=0,57$) avec les teneurs en polyphénols totaux et ($R=0,12$) avec les teneurs en flavonoïdes.

Les résultats de cette étude préliminaire montrent que les tests utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante sont en bonne corrélation. Remarquablement, on constate la même relation entre les valeurs issues des trois tests. En effet, les extraits qui possèdent les meilleurs pouvoirs piègeurs vis-à-vis des radicaux libres (DPPH et ABTS), montrent également les meilleures capacités réductrices du Fe(III) corrélations significatives ($R=0,53$ et $R=0,69$) respectivement. Cela témoigne vraisemblablement de la présence dans nos extraits des molécules antioxydantes pouvant intervenir par deux types de mécanisme réactionnel. Il est à signaler que les réactions mises en jeu peuvent différer d'un test à l'autre.

Pour le test FRAP il s'agit d'une réduction du Fe(III), donc basé exclusivement sur un transfert d'électron. Concernant les tests DPPH et ABTS, ces deux radicaux en fait peuvent être neutralisés soit par réduction directe via des transferts d'électrons ou par balayage radicalaire via un transfert d'un atome d'hydrogène (Ronald et al., 2005). A noter qu'il y a deux extraits présentant une capacité antioxydante largement supérieure à celle des autres extraits comme le montre clairement la (figure 7). L'activité antioxydante la plus élevée, a été obtenue avec l'extrait de grains suivie par l'extrait de fruites, l'extrait des feuilles vient en troisième position.

La majorité des travaux publiés portant sur les plante de ce genre se limitent à l'évaluation de la capacité antioxydante des extraits de l'espèce *Tamus Communis* ; Concernant l'extraits qui ont révélé la meilleures activités antioxydantes (extraits de fruit), nous avons trouvé qu'un seul travail (**Rafael et al., 2011**) et dans lequel les auteurs rapportent une activité exprimée en IC50 du radical libre DPPH de $18,01 \pm 0,64$ mg/ml, et un pouvoir réducteur de l'ordre de $1,07 \pm 0,25$ mg/ml sans donner de précision sur la concentration de l'extrait. L'extrait de racine a fait aussi l'objet d'une étude portant sur l'extrait hydrométhanolique avec le test DPPH dont la valeur d'IC 50 est de 0,0184 mg/ml (**Belkhiri, 2018**).

Il est évident que la forte activité antioxydante enregistrée dans certains de nos extraits est attribuée à leur richesse en composés phénoliques.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation d'une plante Spontanée de la région de Kabylie largement utilisée dans la médecine traditionnelle. Elle était choisie parmi les genre les moins étudiées (*Tamus* sp) tout en prenant en considération leur Caractère endémique. Donc, ce travail se veut une contribution à une meilleure connaissance de cette espèce végétale.

D'abord, Nous avons déterminé quantitativement, la teneur en phénols et flavonoïde totaux dans les extraits éthanoliques obtenus par simple macération à savoir les grains, les fruits, les feuilles, les tiges et la racine. L'extrait des feuilles possède la teneur en polyphénols et flavonoïdes les plus élevées de l'ordre de $63 \pm 1,11$ mg EAG /g EXS et $146 \pm 2,62$ mg EQ / g EXS respectivement, suivie par l'extrait de racines avec $59,67 \pm 6,22$ mg EAG /g EXS et $88,33 \pm 2,22$ mg EQ / g EXS respectivement. Ensuite, nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'activité antioxydante. Pour ce faire, trois tests complémentaires, ont été adoptés pour mesurer le pouvoir antiradicalaire et réducteur des extraits bruts éthanoliques. Qui a révélé que tous les extraits présentent un important potentiel antioxydant, avec la prédominance de l'extrait de la racine qui montre des pourcentages d'inhibition de 78% et 98% pour les tests DPPH et ABTS respectivement ; concernant le test FRAP on a révélé la valeur la plus élevée qui revient à l'extrait des feuilles de l'ordre 87 mg EAG/g EXS.

L'étude biologique nous a permis de sélectionner deux extraits ayant montré les meilleures activités antioxydantes à savoir la racine et les feuilles. Le but envisagé dans cette étape : observer l'impact du procédé d'extraction tant sur la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits que sur leur qualité en termes d'activité antioxydante.

Ces données préliminaires donnent un aperçu intéressant sur les capacités des différents extraits de plante étudiée à exercer un effet antioxydant. A présent, il serait plus intéressant de procéder à la séparation et la caractérisation des différentes substances présentes dans ces extraits, et de déterminer lesquelles d'entre elles sont responsables de cette activité par des techniques telles que CCM, HPLC. Par la suite essayer de réaliser ces tests *in vivo* afin de s'assurer de l'efficacité et de l'innocuité des extraits ou des constituants biochimiques isolés. Enfin, exploiter les autres métabolites que contiennent cette plante et ses différentes parties

Références

Bibliographiques

Reference bibliographiques

- Alam, Md.N. et al., Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I., Özyurt, D., 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12, 1496–1547.
- Aquino, R., Conti, C., De Simone, F., Orsi, N., Pizza, C., Stein, M.L., 1991. Antiviral activity of constituents of *Tamus communis*. *J. Chemother.* 3, 305–309.
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Khebri, S., 2010. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Leban. Sci. J.* 11, 69–81.
- Ba, K., Tine, E., Destain, J., Cissé, N., Thonart, P., 2010. Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Société Environ.* 14, 131–139.
- Barreto, G.S., 2002. Effect of butanolic fraction of *Desmodium adscendens* on the anococcygeus of the rat. *Braz. J. Biol.* 62, 223–230.
- Belkhiri, F., 2018. Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *tamus communis* L. et *carthamus caeruleus* L. (PhD Thesis).
- Benbrook, C.M., 2005. Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing. Organic Center.
- Benhammou, N., Bekkara, F.A., Panovska, T.K., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 2, 022–028.
- Boizot, N., Charpentier, J.-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah. Tech. INRA Numéro Spéc. 2006 Méthodes Outils Pour L'observation L'évaluation Milieux For. Prairieaux Aquat.* 79–82.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C., 1997. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH.Free Radical Method. *LWT - Food Sci. Technol.* 30, 609–615. <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28, 25–30.

- Capasso, F., De Simone, F., Senatore, F., 1983. Sterol constituents of *Tamus communis* L. J. Ethnopharmacol. 8, 327–329.
- Chalal, A., Tighermine, L., Tacherfiout, M.P., 2012. Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* L.
- CJB - Base de données des plantes d'Afrique - Détail [WWW Document], n.d. URL <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=fr&id=174994> (accessed 6.21.18).
- daCosta, C.J., Baenziger, J.E., 2003. A rapid method for assessing lipid: protein and detergent: protein ratios in membrane-protein crystallization. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 59, 77–83.
- Dioscorea elephantipes* - Jungle Tropicale [WWW Document], n.d. URL <https://jungletropicale.com/2016/07/3753/#.WyuGFqdKjIV> (accessed 6.21.18).
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97, 654–660.
- Favier, A., 2003. Le stress oxydant. *L'actualité Chim.* 108.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G., 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3597–3604.
- Gómez-Caravaca, A.M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 1220–1234.
- Guarrera, P.M., Lucia, L.M., 2007. Ethnobotanical remarks on central and southern Italy. *J. Ethnobiol. Ethnomedicine* 3, 23.
- Havsteen, B.H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Ther.* 96, 67–202.
- Hubert, P., Servat, E., Paturel, J.-E., Kouame, B., Bendjoudi, H., Carbonnel, J.P., Lubes-Niel, H., 1998. La procédure de segmentation, dix ans après. *IAHS Publ.* 267–274.
- Kalia, K., Sharma, K., Singh, H.P., Singh, B., 2008. Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 56, 10129–10134.
- Kirschvink, N., de Moffarts, B., Lekeux, P., 2008. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Vet. J.* 177, 178–191.
- KRACHE IMANE, 2009. Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *tamus communis* l. et *teucrium polium* l. sur des rats blancs albino wistar.

- Alam, Md.N. et al., Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity.
- Koechlin-Ramonatxo, C., 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutr. Clin. Métabolisme* 20, 165–177.
- Kovács, A., Forgo, P., Zupkó, I., Réthy, B., Falkay, G., Szabó, P., Hohmann, J., 2007. Phenanthrenes and a dihydrophenanthrene from *Tamus communis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry* 68, 687–691.
- Laughton, M.J., Halliwell, B., Evans, P.J., Robin, J., Houlst, S., 1989. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin: effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochem. Pharmacol.* 38, 2859–2865.
- Leporatti, M.L., Ivancheva, S., 2003. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *J. Ethnopharmacol.* 87, 123–142.
- Lopes-Lutz, D., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Kolodziejczyk, P.P., 2008. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry* 69, 1732–1738.
- Maurin, O., Muasya, A.M., Catalan, P., Shongwe, E.Z., Viruel, J., Wilkin, P., van der Bank, M., 2016. Diversification into novel habitats in the Africa clade of *Dioscorea* (*Dioscoreaceae*): erect habit and elephant's foot tubers. *BMC Evol. Biol.* 16, 238.
- Mika, A., Minibayeva, F., Beckett, R., Lüthje, S., 2004. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem. Rev.* 3, 173–193.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A., 1997. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radic. Res.* 26, 195–199.
- MOHAMMEDI, Z., 2013. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie (PhD Thesis).
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 26, 211–219.
- Namiki, M., 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29, 273–300.
- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G.S., Kakuda, Y., 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Sep. Purif. Technol.* 48, 176–181.
- Oyaizu, M., 1986. Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44, 307–315.
- Saudi Pharmaceutical Journal (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>

- Pastre, J., Priymenko, N., 2007. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Rev. Médecine Vét.* 1, 180–189.
- Pereira, F.L., Gash, J.H.C., David, J.S., David, T.S., Monteiro, P.R., Valente, F., 2009. Modelling interception loss from evergreen oak Mediterranean savannas: application of a tree-based modelling approach. *Agric. For. Meteorol.* 149, 680–688.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.-O., 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr. Clin. Métabolisme* 16, 233–239.
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J.O., 1999. Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Cancérologie* 95, 1–4.
- Piquet, M.-A., Hébuterne, X., 2007. Nutrition en pathologie digestive. Doin.
- Que, F., Mao, L., Pan, X., 2006. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res. Int.* 39, 581–587.
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.-C., Bailleul, F., Trotin, F., 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacol.* 72, 35–42.
- Rafael, M., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C., 2011. Topical anti-inflammatory plant species: Bioactivity of *Bryonia dioica*, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits. *Ind. Crops Prod.* 34, 1447–1454.
- Rahman, I., 2002. Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic targets. *Curr. Drug Targets-Inflamm. Allergy* 1, 291–315.
- Rigacci, S., Rio, M., Velez-Pardo, C., Thapa, A., Chi, E., Yamada, M., Ono, K., Hamaguchi, T., Noguchi-Shinohara, M., Hugel, H., Caruana, M., Vassallo, N., Andrich, K., Bieschke, J., 2015. Natural Compounds as Therapeutic Agents for Amyloidogenic Diseases. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-18365-7>
- Schmidt, R.J., Moul, S.P., 1983. The dermatitic properties of black bryony (*Tamus communis* L.). *Contact Dermatitis* 9, 390–396.
- Schols, P., Furness, C.A., Wilkin, P., Smets, E., Cielen, V., Huysmans, S., 2003. Pollen morphology of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) and its relation to systematics. *Bot. J. Linn. Soc.* 143, 375–390.
- Shaheen, F., Ali, L., Ali, S., Erdemoglu, N., Sener, B., 2009. Antioxidant flavonoids from *Tamus communis* ssp. *cretica*. *Chem. Nat. Compd.* 45, 346–349.
- Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.* 82, 291–295.

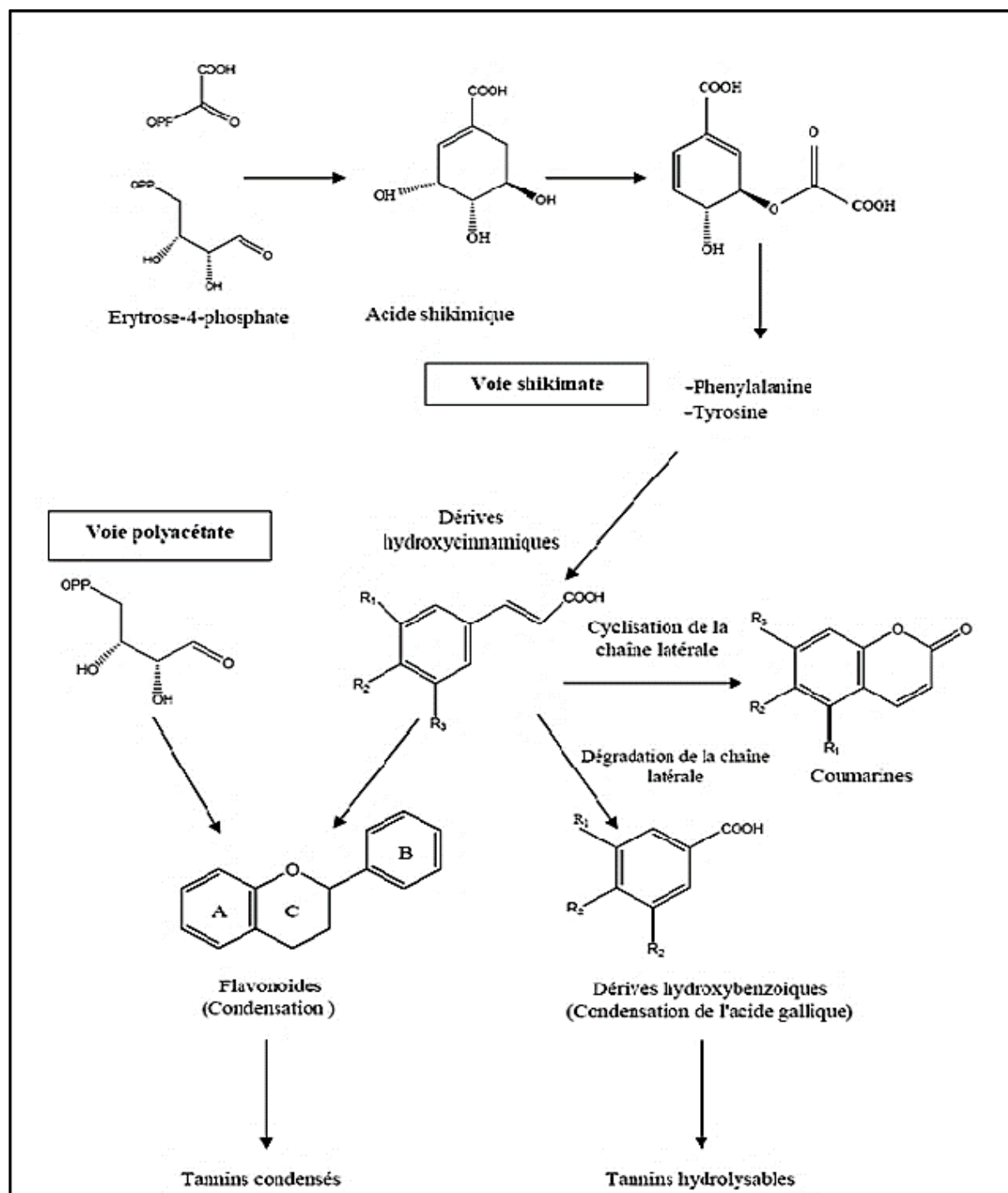
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 152–178.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J. Food Eng.* 81, 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>
- Sun, J., Yao, J., Huang, S., Long, X., Wang, J., García-García, E., 2009. Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.) AC Smith. *Food Chem.* 117, 276–281.
- Valko, M., Rhodes, Cj., Moncol, J., Izakovic, M.M., Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1–40.
- Walker, J.E., Saraste, M., Runswick, M.J., Gay, N.J., 1982. Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *EMBO J.* 1, 945–951.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1–14.
- Wong, C.-C., Li, H.-B., Cheng, K.-W., Chen, F., 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97, 705–711.

Annexes

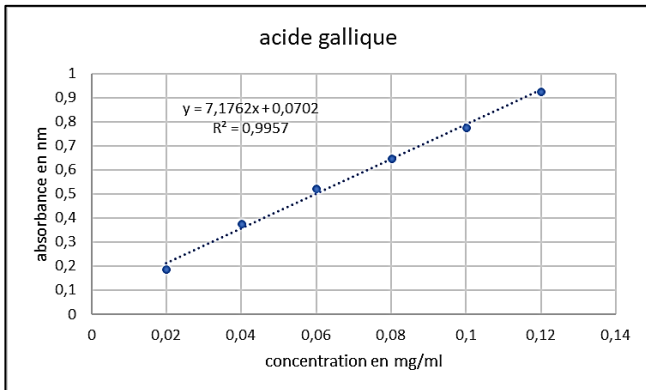
Annexes**Annexe I : Caractéristique des espèces actives dérivées de l'oxygène moléculaire**

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile : de tournesol, de soja, de maïs Beurre, œufs, noix.
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poissons, œufs, viande, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou œufs, poissons, viande

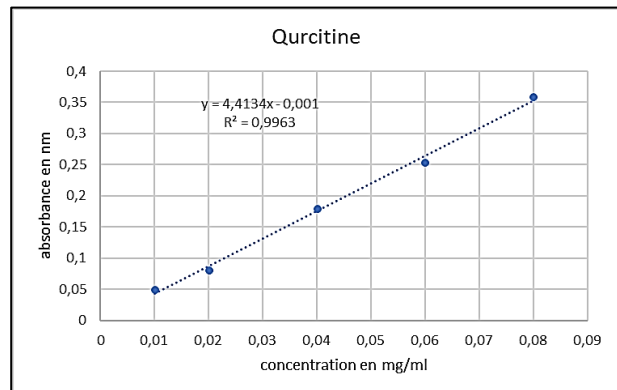
Annexe 2: Voies de biosynthèse des différentes classes de composés phénoliques (Chalal et al., 2012)



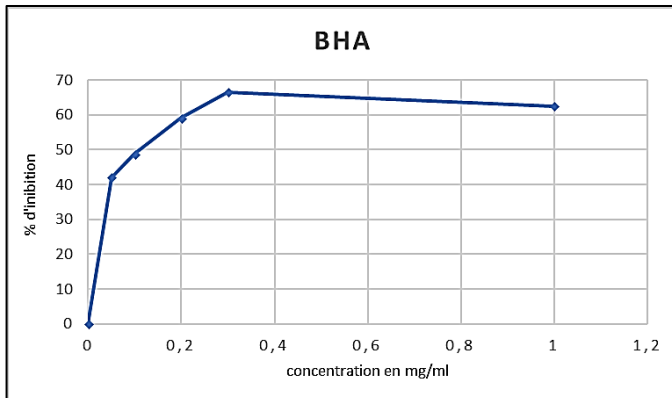
Annexe 3 : Courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour le dosage des polyphénols



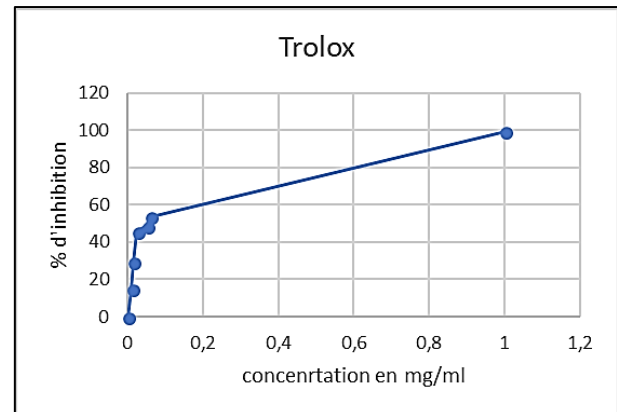
Annexe 4 : Courbe d'étalonnage avec la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes



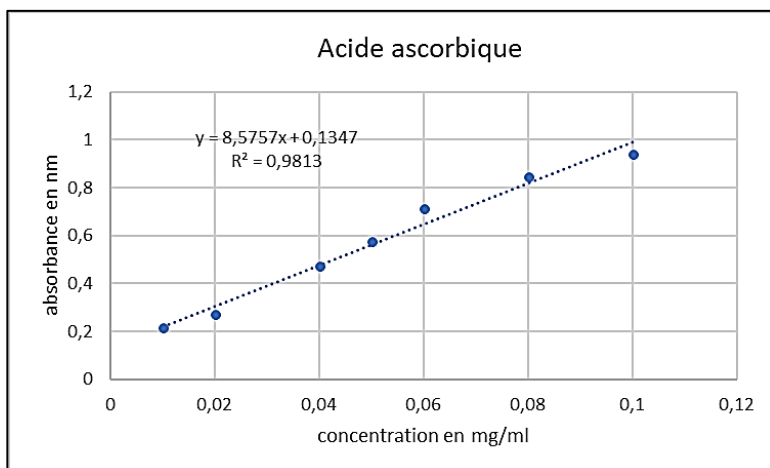
Annexe 5 : Courbes de standard BHA d'activité scavenging du radical DPPH



Annexe 6 : Courbes de standard Trolox d'activité aniradicalaire du radical ABTS



Annexe 7 : Courbes de régression linéaire de standard acide ascorbique d'activité réductrice FRAP



Résumé

La recherche actuelle porte essentiellement sur l'étude des molécules antioxydant d'origine naturelle. Cette étude s'inscrit dans cette optique et consiste à faire dans un premier temps une détermination quantitative de dosage des composés phénolique des extraits d'une plante endémique de la région de Kabylie (Bejaia). Dans un second temps, nous avons évalué l'activité antioxydant des extraits. L'appréciation quantitative de dosage a permis la présence des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes plus élevé dans l'extrait de feuilles. D'autre part une étude de la mesure de l'activité anti-oxydant des extraits en réalisant trois tests : teste DPPH, ABTS et FRAP. Les extraits éthanoliques présentent une bonne capacité de réduction de fer, la capacité de piégeage du radical DPPH est très intéressent avec une $IC_{50} = 0,25$ mg/ml de l'extrait éthanolique de la racine. De même pour ABTS d'une $IC_{50} = 0,48$ mg/ml.

Mots clés : activité antioxydant, composés phénoliques, DPPH, FRAP, ABTS.

Abstract

The current research focuses on the study of antioxidant molecules of natural origin. Which fits in optics to make at first a quantitative determination of the phenolic compounds of extracts endemic plant of the region in Kabylie (Béjaïa). In a second time we evaluated antioxidant activity of extracts. The quantitative determination of dosage allowed the presence of the levels of total polyphenols and flavonoids higher in the leaf extract. On the other part a study of the measurement of antioxidant activity of extracts by carrying out three tests: Teste DPPH, ABTS and FRAP. Ethanolic extracts have a good iron reduction capacity, the trapping capacity of the DPPH radical is very interesting with a $IC_{50} = 0.25$ mg/ml of the root ethanol extract. Similarly, for ABTS, 48 mg/ml.

Key words: Antioxidant activity, phenolic compounds, DPPH, FRAP, ABTS.

ملخص

يركز البحث الحالي على دراسة الجزيئات المضادة للأكسدة ذات المنشأ الطبيعي. هذه الدراسة جزء من هذا النهج وتتكون في البداية من تحديد كمي لتقدير المستخلصات الفينولية لمستخلصات نباتية مستوطنة في منطقة القبائل (بجاية). في خطوة موالية، قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة من المستخلصات النباتية. سمح التقييم الكمي للمقايضة بوجود محتوى عالٍ من البوليفينول والفلافونويد في خلاصة الأوراق. في دراسة أخرى، تم إجراء دراسة لقياس نشاط مضادات الأكسدة في المستخلصات من خلال إجراء ثلاثة تجارب وهي كتالي و ABTS و DPPH، FRAP المستخلصات الايثانولية لها قدرة جيدة على استرجاع ذرة الحديد، و قدرة الكسح لجزيئات DPPH مثيرة جدا للاهتمام مع $IC_{50} = 0.25$ ملغم / مل من المستخلص الايثانولي للجذر. وبالمثل عند جزيئات ABTS من $IC_{50} = 0.48$ ملغم / مل.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة، مركبات فينولية، DPPH، FRAP، ABTS.