

Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante
de *Tamus communis***

Présenté par :
Kechida Abla & Tidjet Koko
Soutenu le : **24 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M ^{me} Bouderia. A	MCB	Présidente
M ^{me} Khamtache. S	MCB	Encadreur
M ^{me} Kasmi. S	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

REMERCIEMENT

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH EL KARIM et le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qui nous a donné durant toutes les années d'études.

*Recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous nous avez accordés tout le long de ce travail. Merci pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse madame **Khamtache Sabiha**.*

***M^{me} Kasmi** pour avoir accepté d'examiner le jury de ce mémoire.*

***M^{me} Bouderia** pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire, et pour le temps qu'elle nous a bien voulu consacrer. pour nous avoir fait l'honneur de juger ce modeste travail et de nous faire ainsi bénéficier de ses compétences.*

A nos parents pour leur contribution dans chaque travail que nous avons effectué et pour tous les sacrifices consentis.













Nous exprimons notre gratitude à tous nos enseignants rencontrés tout au long de nos années d'étude (Bribi, Harfi, Balkassem, Adrar, Saadaoui...etc). Nous remercions également tous les étudiants de notre promotion de Pharmacotoxicologie.

ABLA & KOKO

DÉDICACE

A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail

Que je dédie :

-  A mes très **chers parents** et surtout à ma très chère mère qui m'a toujours encouragé tout au long de mes études, que Dieu te protège. Je ne Saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir Veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier Assez de m'avoir donné le meilleur.
-  A mes **chers frères** Walid et sa femme (Dalila), mon petit frère  fardjalah.
A mes **chères sœurs** et ses maris Souhila (Lahlou), Siham(Madjid), Sabrina (Farouk), Souad (Walid), Nawal (El-Arbi).
-  A mes neveux et nièces Kahina, Iimen, chérif, Adem, Ghiles, Amine, Malek, Naim, Ahmed, Maya, Massilas.
-  A **Mon fiancé Samir** et l'amour de ma vie, qui me soutient, je te remercie pour tout le Bonheur et la fidélité que tu m'apportes jour après jour, ta présence, les sacrifices accomplis, ta patience, ton soutien moral et tes attentions de tous les jours, à ma nouvelle familles (mes **beaux parents**, Sylia et sa filles Iline, Koussiala, Faham, Fahima et Ghiles.
-  A ma **Chère binôme Abla** et sa famille avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.
-  A tous mes cousins et mes voisins.
-  A mes amis et à tous ceux qui nous ont témoigné leur affectation et leur Soutien durant cette année et dont je garde d'excellents souvenirs (Kenza, Nadjjet, Nabila, Melissa, Sylia, Souad, Ibtissam, Lila, Merième, rima, khadidja...etc).
-  A Notre promotrice Mme Abdrahim et notre Co-promotrice Mme mezaham qui ont été toujours avec nous.
-  A toute la famille tidjet et la famille benazouz.
-  A toute la promotion de Pharmaco-toxicologique «2017/2018 ».
-  A tous ceux qui ont été à mes côtés de près ou de loin.

KOKO TIDJET

DÉDICACES

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'accorder son soutien durant les périodes les plus difficiles.

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude

A mes parents

Aucun mot ne serait exprimé mon amour, mon affection et ma grande considération pour vous, pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation, instruction et être.

A mes très chers frères Walid, chabane

A mes très chères Sœurs Merièmè et Hanene.

A ma très chère binôme koko, avec j'ai partagé les meilleurs moments malgré toutes les difficultés et les souffrances qu'on a passé, ainsi que toute sa chère famille.

A toutes mes copines, avec lesquelles j'ai passé des moments inoubliables et agréables : Mayssa, Ferial, Louiza ainsi que leurs familles respectives.

A toutes mes amies Souad, Ibtisseme.....qui m'ont toujours encouragé durant la période de mémoire.

A mon amour chaouki pour son aide, son soutien, et motivation durant toutes ces cinq années qui j'ai passé à l'université.

A tous (tes) mes amis (es) de la promotion de BPC

Ainsi à tous ceux ou celles qui m'ont apporté leur soutien, réconfort moral et à leur contribution dans l'élaboration de ce mémoire

ABLA K

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Stress oxydatif3

I.1.1. Radicaux libres3

I.1.2. Les conséquences de stress oxydatif5

I.1.3. Le stress oxydatif et le Paracétamol.....6

I.1.4. Les antioxydant.....7

I.1.5. Les polyphénols.....9

I.2.Généralités sur le *Tamus commuins*.....11

I.2.1. La description botanique11

I.2.2. La systématique de *Tamus communis*12

I.2.3. Effets thérapeutiques de la plante12

I.2.4. Propriétés toxicologiques.....12

I.2.5. Les travaux antérieurs13

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel.....14

II.2. Méthodes.....15

II.2.1. Séchage, broyage et tamisage15

II.2.2. Extraction et dosage des composés phénoliques.....15

II.3. Evaluation de l'activité antioxydant *in vitro*.....17

II.4. Evaluation de l'activité antioxydant *in vivo*19

II.4.1. Evaluation de l'effet hépatoprotecteur contre l'intoxication par le paracétamol....	19
II.4.2. Dosage sanguin des transaminases.....	21
II.4.3. Dosage du MDA cytosolique	22

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Extraction et dosage des composés phénoliques.....	24
III.1.1. Taux d'extraction.....	24
III.1.2. Teneur en composés phénoliques.....	25
III.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques <i>in vitro</i>	28
III.2.1. Activité scavenger de radical DPPH.....	28
III.2.2. Activité scavenger de radical ABTS	30
III.3. Étude <i>in vivo</i> de l'effet de <i>Tamus communis</i> sur le stress oxydatif hépatique.....	32
III.3.1. Evaluation de taux sérique des transaminases (ASAT et ALAT)	32
III.3.2. Variation des paramètres de stress oxydatif par l'évaluation des taux hépatiques de MDA.....	35
Conclusion et perspectives	38
Références bibliographiques	40

Glossaire

Annexe

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius.

% : Pourcentage.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ABTs : 2,2-azino- bis-3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonate.

AlCl₃: trichlorure d'aluminium.

ATP: Adenosine triphosphate.

BHA: Butylated hydroxyanisole.

Cu : Cuivre.

CYP2E1 : cytochrome P2E1.

DO: Densité optique.

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

E⁻ : Electron.

EAG/g : Equivalent l'acide galique /gramme.

EQ/g : Equivalent quercétine/gramme.

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène.

Fe : Fer.

GSHPX : Glutathion peroxydase.

H⁺ : Proton.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

H₂O : Molécule d'eau.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

ml : Millilitre.

Mg/ml : milligramme par millilitre.

min : minute.

MS ; Matière sèche.

NADPH: Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate.

NAPQI : N-acétyl p-benzoquinone-imine.

Nm : Nanomètre.

NO: Monoxide d'azote.

O₂⁻: Anion superoxide.

1O₂: Oxygène singulet.

OH: Hydroxides.

8-OH-dG: 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine.

RL : Radicaux Libres.

RLO : Radicaux libres Oxygénées.

ROOH : lipoperoxyde.

TEAC : Trolox.

SOD : Superoxyde dismutase.

UI/L : Unité internationale /litre. **μl**

: Micro litre.

UV : ultra violet.

Zn : Zinc.

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des polyphénols	10
Tableau II : Teneurs en polyphénols totaux de différentes organes des <i>Tamus communis</i> par gramme d'extraits.....	26
Tableau III : La variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT/ALAT) chez les souris témoins, traitées par le paracétamol et prétraitées par les extraits de fuit de <i>T. communis</i>	32

Liste des figures

Figure 1 : Le mécanisme Production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène.....	4
Figure 2 : Principales cibles des ERO.....	5
Figure 3 : Mécanismes cellulaires d'hépatotoxicité du paracétamol.....	7
Figure 4 : Régulation de la production des espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défense antioxydants	9
Figure 5 : Les différentes parties de la plante <i>Tamus communis</i>	11
Figure 6 : La localisation géographique de lieu de récolte de <i>Tamus communis</i>	14
Figure 7 : Les prises de vue des souris utilisée dans notre étude	15
Figure 8 : Mode d'administration des extraits de plante et le standard par voie intragastrique.....	19
Figure 9 : Les différents étapes de sacrifice des souris	21
Figure 10 : Taux d'extraction des échantillons de <i>Tamus communis</i>	24
Figure 11 : Représentation graphique des taux des phénols totaux des extraits de <i>Tamus communis</i>	25
Figure 12 : Représentation graphique des teneurs des flavonoïdes des extraits de <i>Tamus communis</i>	27
Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par des extraites de <i>Tamus communis</i> en fonction de déférents concentration	28
Figure 14 : Histogramme d'IC50 des différents extraits en µg /ml.....	29
Figure 15 : Activité anti-radicalaire des extraits équivalent Trolox à une concentration de 1 mg /ml.....	30
Figure 16 : les valeurs des IC50 des extraits de <i>Tamus communis</i> contre le radical ABTS µg/ml	31
Figure 17 : Variation de la concentration sanguine des transaminases (ASAT et ALAT) chez les souris témoins traité (paracétamol) et prétraité (les extraits de fruit de <i>T. communis</i> à différentes dose)	33
Figure 18 : variation du taux de MDA cytosolique hépatique après administration de forte dose du paracétamol (400mg/kg) par souris.....	35

Introduction

Les cellules peuvent être soumises à une grande variété d'agression physique (traumatisme, irradiation...etc), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques...etc). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée le stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker et al., 1982**).

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire qui lui confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules. Sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O₂ afin de former les différents dérivés d'espèces réactives oxygénés (ERO). Ces dernières sont utilisées par les cellules phagocytaires de l'organisme pour combattre les agents infectieux. Toutefois, les bienfaits de ces composés hautement toxiques ne restent pas sans conséquence néfaste principalement pour les structures biologiques des cellules (protéines, lipides, ADN). Car un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense est à l'origine du stress oxydatif. Ce dernier, défini comme un déséquilibre de la balance entre le système antioxydant et le système oxydant (ERO), qui se termine par l'apparition de diverses pathologies (**Chu et al., 2010**).

Pour contourner les dommages causés par les ERO, la cellule fait appel aux systèmes antioxydants, qui se définissent comme toute substance ayant la capacité de contrôler et prévenir un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ces antioxydants peuvent être d'origine endogène ou exogène. Dans des situations d'un stress oxydatif aigue, la cellule reste incapable de se défendre contre ses ERO avec les antioxydants endogènes, pour cela un apport exogène est nécessaire afin de ce protéger contre les dommages des ERO (**Martini, 2003**).

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable d'antioxydants dont les polyphénols qui agissent comme des agents réducteurs, donneurs d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (**Valko et al., 2006**).

Dans ce cadre, cette étude a été consacrée à l'évaluation d'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* des extraits de *Tamus communis*, comme une source d'antioxydants, dans l'objectif de valoriser l'utilisation traditionnelle de cette plante.

Notre travail a comme objectif :

- Analyse phytochimique du contenu en polyphénols et en flavonoïdes des extraits éthanoliques de *Tamus communis* L.
- Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* afin de tester deux radicaux DPPH et ABTS.
- Evaluation de l'activité antioxydante *in vivo* afin de tester l'effet hépatoprotecteur contre l'intoxication induite par le paracétamol.

Synthèse bibliographique

Le stress oxydatif est le souci des scientifiques vue leur implication dans un large spectre de maladies qui ont un impact énorme sur la santé humaine, dues généralement suite à la production excessive des radicaux libres qui altère la structure de macromolécules. Ceci provoquerait un dysfonctionnement cellulaire et serait impliqué dans diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives et le processus de vieillissement. Pour cela, un grand nombre d'études scientifiques ont été menées pour comprendre et combattre ce phénomène (**Favier, 2006**).

I.1. Stress oxydatif

La notion de stress oxydant est définie comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (EOA), suite à un déséquilibre lie soit à une production accrue d'EOA, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydants (**Koechlin et al.,2006**). Ce déséquilibre profond entre antioxydants et prooxydants peuvent être le résultat d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie-reperfusion, vieillissement), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, monoamine oxydase...etc), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines, ...etc.), tous ces phénomènes se terminent par la production des espèces réactives oxygénées. Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Paster, 2005**).

I.1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique. Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente, pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction d'oxydoréduction avec perte ou gain d'électrons à partir d'un composé non radical (**Koechlin et al., 2006**).

I.1.1.1. Sources de radicaux libres

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie au cours des réactions dites, respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (RLO) (**Chu et al., 2010**).

Les autres sources de production de radicaux libres sont classées en deux catégories : les sources endogènes ou les RL sont des produits des réactions de l'organisme et les sources exogènes telles que : le tabagisme, les radiations UV, les médicaments, les réactif chimiques, les solvants industriels et la pollution (Pastre, 2005).

I.1.1.2. Rôles physiologiques

Dans des conditions physiologiques et à des concentrations normales, les EROs remplissent des fonctions biologiques très importantes, comme seconds messagers dans le mécanisme de transduction de signale dans l'objectif d'une régulation génétique telle que la prolifération cellulaire, l'apoptose, activation du système immunitaires, ou d'un effet métabolique par l'augmentation de la vasodilatation des vaisseaux...etc (Favier,2003).

I.1.1.3. Origine des espèces réactives oxygénées

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être des radicaux libres (anion superoxyde, et radical hydroxyle) ou des molécules non radicalaires mais néanmoins hautement instables (oxygène singulet). La plupart des radicaux libres proviennent de la chaînerespiratoire, du NADPH, et de l'activité de la xanthine oxydase, alors que les espèces réactives du NO sont essentiellement produites par la NO-synthase. La production d'espècesréactives de l'oxygène et les principaux moyens de neutralisation sont schématisés dans la figure 1(Mette et al.,2006).

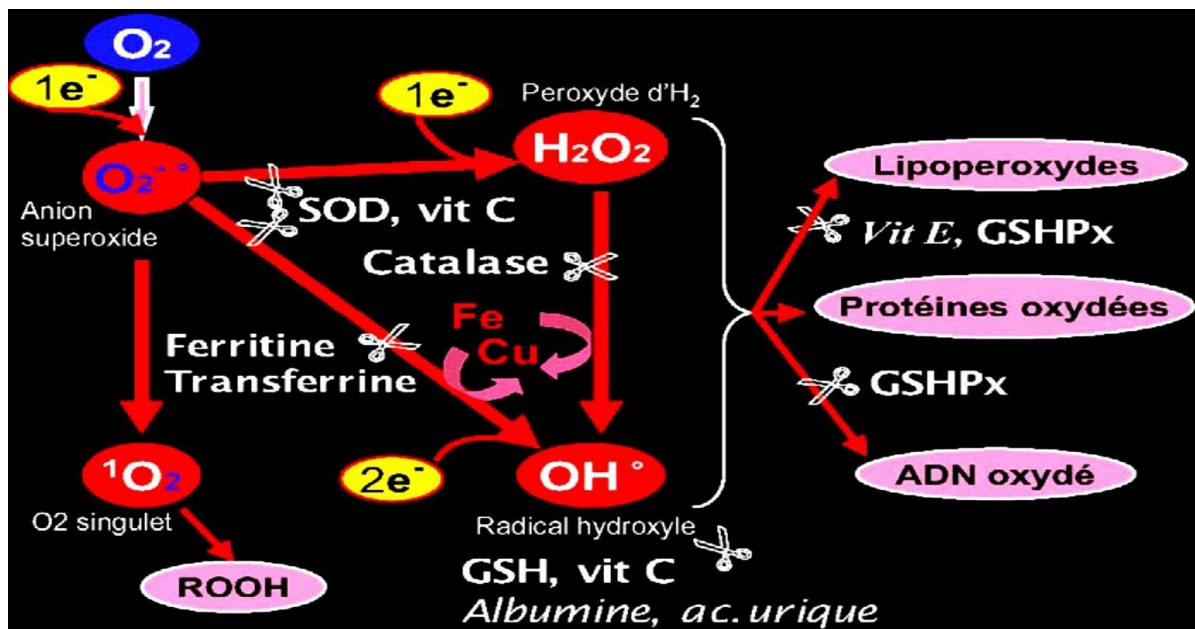


Figure 1 : Mécanisme de production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (Mette et al., 2006).

I.1.2. Conséquences de stress oxydatif

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux, le cancer, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire...ect (figure 2) (Favier, 2003).

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles telles que le diabète, l'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

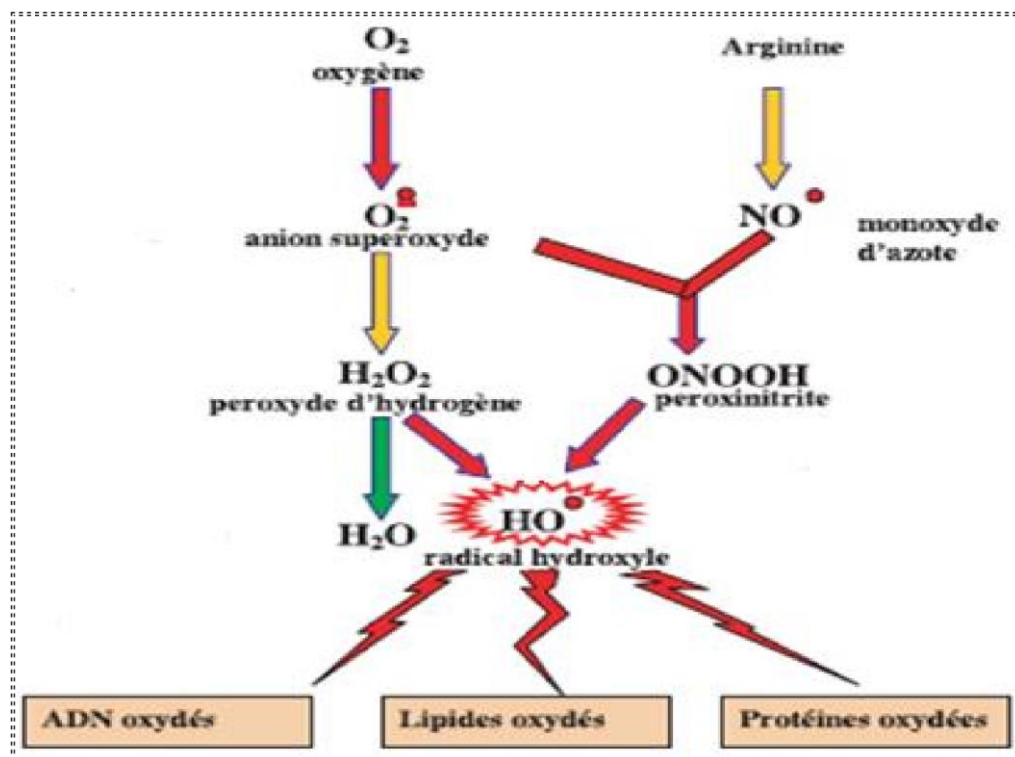


Figure 2 : Principales cibles des ERO (Favier, 2003).

I.1.3. Stress oxydatif et le paracétamol

Le paracétamol est actuellement un traitement symptomatique antalgique et antipyrétique de référence, il arrive actuellement en tête des principes actifs les plus prescrits au monde, mais au-delà de la dose thérapeutique, ces molécules deviennent toxiques, car elles sont capables d'activer l'expression de gènes codants pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines. Sachant que, le paracétamol possède des voies

métaboliques et des mécanismes d'action encore incomplètement compris (**Haleng et al.,2007**).

I.1.3.1. Métabolisme du paracétamol

Le métabolisme du paracétamol dépend de la dose administrée. A dose thérapeutique, plus de 85% du paracétamol administré sera gluco- ou sulfo-conjugué, générant ainsi des métabolites hydrosolubles excrétés dans les urines. Une fraction minime (5-8%) sera métabolisée via le cytochrome P-450 en un intermédiaire électrophile hautement réactif et toxique : le N-acétyl p-benzoquinone-imine (NAPQI). Celui-ci, produit en quantité infime à dose thérapeutique, est cependant conjugué au glutathion hépatique donnant lieu à des conjugués de mercaptate, avant élimination dans l'urine, conduisant à une hépatotoxicité très aigüe (**Kupferschmidt, 2004**).

I.1.3.2. Mécanismes cellulaires de toxicité hépatique du paracétamol

Ces mécanismes font intervenir à la phase précoce les cytochromes P450, essentiellement le CYP2E1, dans le métabolisme du paracétamol en NAPQI. Ce dernier provoque une diminution du stock cellulaire de glutathion, un puissant antioxydant, par une série de réactions de conjugaison et la formation de liaisons covalentes aux protéines.

Ces événements ont pour conséquence une majoration du stress oxydatif, qui est à l'origine de modifications de l'équilibre entre cytokines pro- et anti-inflammatoires. L'immunité cellulaire est potentiellement mise en jeu dans l'atteinte microvasculaire hépatique. L'augmentation du stress oxydant induit des signaux cellulaires interagissant avec les protéines de l'apoptose et les endonucléases et aboutissant aux transitions de perméabilité mitochondriale. Ces transitions de perméabilité provoquent une diminution de la synthèse d'ATP, ainsi qu'un auto-entretien de la production de stress oxydant. L'ensemble de ces processus concourt à la mort cellulaire par nécrose. Ces éléments constituent les pistes de recherche actuelle sur les mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'hépatotoxicité induite par le paracétamol (Figure 3) (**Bellier, 2011**).

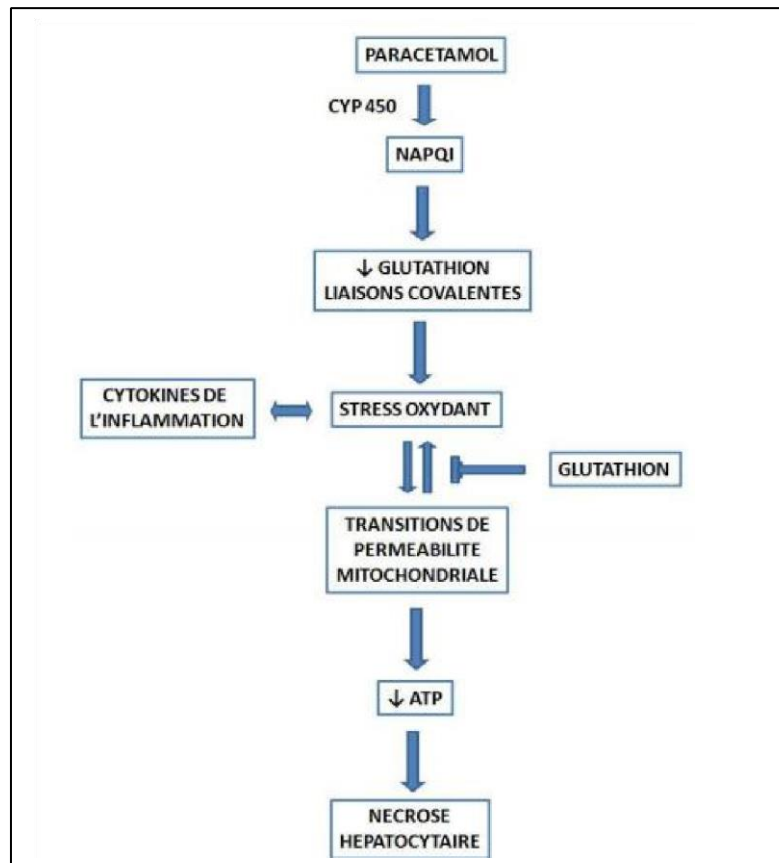


Figure 3 : Mécanismes cellulaires d'hépatotoxicité du paracétamol (Bellier, 2011).

I.1.4. Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules capables de neutraliser ou réduire les radicaux libres, donc ils ont un rôle de défense bénéfique pour la santé, au de la membrane ou la cellule. Ces facteurs de protection sont de sources, à savoir les antioxydants endogènes ou exogènes (Martini, 2003).

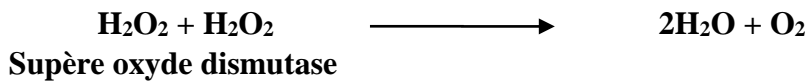
I.1.4.1. Antioxydants endogènes

L'organisme possède des enzymes qui peuvent métaboliser les ERO. Les plus Connues sont :

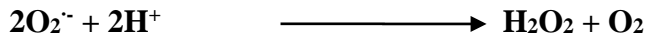
Catalase

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène surtout dans les peroxysomes.

Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène et de l'eau (Goudable et Favier, 1997).



Les SOD éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H₂O₂ et en OH⁺ et OH⁻ (Mn SOD dans la mitochondrie, CuZn SOD dans le cytosol et les érythrocytes) (Goudable et Favier, 1997).



Glutathion peroxydase

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et les hydroperoxydes lipidiques (Goudable et Favier, 1997).

Lesprotéines antioxydants

La transferrine, la ferritine et la céruléoplasmine jouent un rôle antioxydant par chélation des ions. Ces chélateurs forment des complexes ou des composés de coordination avec les métaux. Ils inhibent ainsi le cycle d'oxydoréduction du métal en formant des complexes métalliques insolubles (Cillard et Cillard, 2006).

I.1.4.2. Antioxydants exogènes

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire (Figure 4) (Favier, 2003).

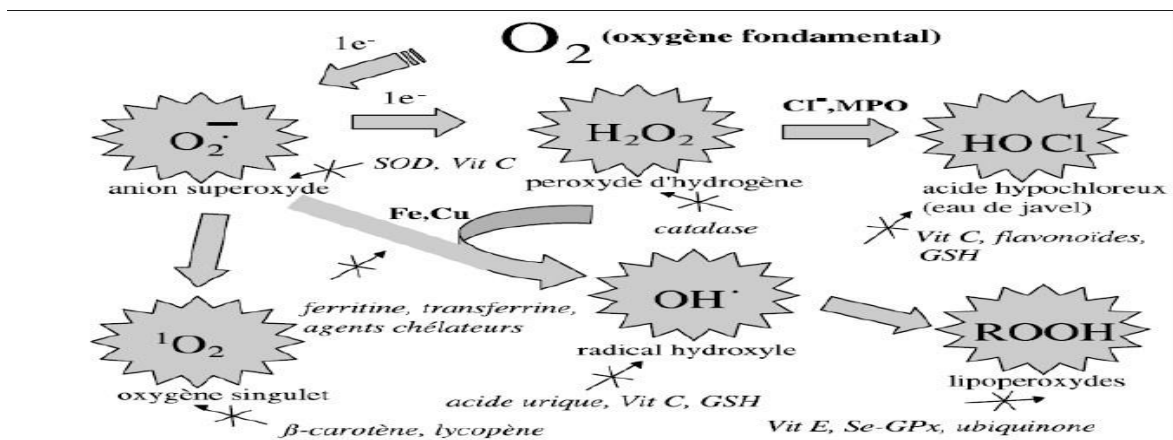


Figure 4 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemil et al., 2002).

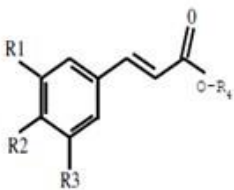
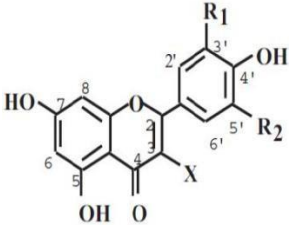
I.1.5. Polyphénols

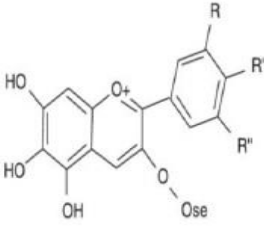
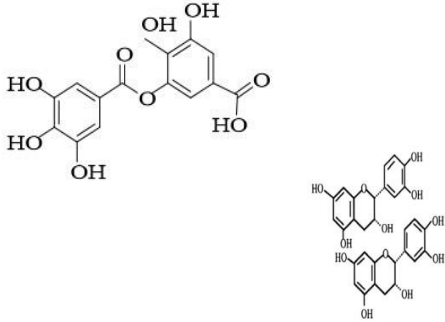
Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal, ils résultent de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie d'acétate. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Les polyphénols sont des noyaux benzéniques liés au moins à un groupe hydroxyle libre engagé dans une fonction : éther, ester ou hétéroside...etc(Bruneton, 1999).

I.1.5.1. Classification des polyphénols

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. Ces composés se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...etc) et par les liaisons possibles avec d'autres molécules (Pincemail et al., 2002).

Tableau I : Classification des polyphénols (Pincemail et al., 2002).

Classe	Sous classe	Généralités	Fonction	Structure de bases
Les acides phénoliques	Les dérivés de l'acidehydroxybenzoïque	Composés organiques naturelle	Une fonction acide -plusieurs fonctions phénols	
Les flavonoïdes	Anthocyanidines flavanols flavones flavanols flavanones	-Composés naturels - pigmentuasi-universels des végétaux	Forme libre dite aglycone Forme d'hétéroside	

Les anthocyanes		<p>-Répondu dans les fleurs, fruits</p> <p>-Chargé positivement, qui est due à leur structure de base</p>	Groupement hydroxyle	
Les tannins	<p>-tannins condensés</p> <p>-tannins hydrolysables</p>	<p>-Macromolécule avec une activité antioxydant très puissante</p> <p>-Se combine avec les protéines pour donner des composés insolubles et stables</p>	-Esters de glucoses - Composé phénolique hétérogène	

Ces différenciations structurales contribuées à l'extension de leurs spectres d'activité dans les différents domaines fondamentaux et appliqués liés aux plantes, ou aux activités humaines à des fins diététiques et thérapeutiques, mais aussi à l'échelle du laboratoire de recherche, puis la production industrielle (**Bruneton, 1999**).

I.2. Généralités sur *Tamus communis*

Tamus communis L. est une espèce de plantes grimpantes, sauvage de la famille des *Dioscoreaceae*, poussant dans différents endroits où se croit sous forme de rangés d'arbustes. Elle est distribuée partout dans les régions tropicales et chaudes tempérées du monde et se trouve sous les falaises, et particulièrement dans les forêts montagneuses d'hauteur 1600m (**shahen et al., 2009**).

I.2.1. Description botanique

Le *Tamus communis* est une plante grimpante et décorative, ses tiges grêles peuvent atteindre jusqu'à trois mètres de longueur. Elle fleurit en mars et en avril et ses petites fleurs verdâtres sont disposées en grappes lâches à l'aisselle des feuilles ; ce sont sur certains pieds de très longues grappes de fleurs, sur d'autres des grappes courtes pastillées (plante dioïque). Les feuilles luisantes en dessus, ont un long pétiole et un limbe très développé. Les fruits sont de petits bais (4à 5mm), ovoïdes, très toxiques, brillantes, virant au jaune puis au rouge

à maturité. C'est une plante vivace, à grosse tige ou terraine noirâtre enfoncée verticalement dans le sol ; celle-ci produit tous les ans à sa base des bourgeons qui donnent naissance à de nouvelles tiges aériennes. Les souches (ou rhizomes) tubéreuses, plus ou moins en forme de navet, atteignent une longueur de 20 à 30 cm et une épaisseur de 5 à 10 cm, les rhizomes, d'un poids pouvant aller jusqu'à 15kg (Boulard, 2003).



Figure 5 : Les différentes parties de la plante *Tamus communis* L (Zerargui, 2015).

I.2.2. Systématique de *Tamus communis* selon (Caddick et al., 2002).

Règne : *Plantae* ;

Embranchement : *Spermatophytæ* ;

Sous-embranchement : *Angiospermae* ;

Classe : *Monocotylédoneae* ;

Ordre : *Liliale* ;

Famille : *Dioscoreaceae* ;

Genre : *Tamus*

Espèce : *Tamus communis* L.

Nom Latin : *Tamus communis* L ;

Nom en Français : Herbe aux femmes battues, tamier, vigne noire ;

Nom en Arabe : El-Karma Sauda ;

Nom en Anglais: blackbryony, lady seal.

I.2.3. Effets thérapeutiques de la plante

Le *Tamus communis* est utilisé comme remède contre les contusions ce qui a valu à la plante le nom d'herbe aux femmes battues. Un cataplasme de pulpe fait disparaître rapidement les hématomes. Elle était employée aussi comme purgatif et diurétique, contre la coqueluche et la bronchite. Les racines bouillies sont également utilisées pour le gonflement rhumatismal et appliquées aux blessures de peau (**Capasso et al., 1983**).

Toutefois, les essais pharmacologiques préliminaires ont également indiqué que, les extraits éthanoliques de feuilles et de fruits pouvaient empêcher la formation d'œdème induit par le carragénine, La diosgénine, et le β -sitostérol, isolés de *T. communis* sont les composés responsables de ces actions (**Capasso et al., 1983**).

I.2.4. Propriétés toxicologiques

Les grands tubercules de *T. communis* peuvent provoquer une irritation une fois frottée sur la peau. La plante est réputée pour ces effets sur le traitement des Ecchymoses (**Schmidt et Moul, 1983**).

Les analyses chimiques ont montré la présence d'histamine dans le mucilage de rhizome de *T. communis*, ce qui peut contribuer à des réactions de dermatite de contact chez l'homme (**Capasso et al., 1983**). En outre, les glycosides stéroïdes et les phénanthrènes isolés des rhizomes de *T. communis* suggèrent que ces composés exercent une activité cytotoxique chez les animaux de laboratoire, mais leurs effets sur l'homme ne sont pas encore connus. La racine, dont la pulpe est rubéfiante et vésicante provoque des ampoules sur la Peau (**Kovács et al., 2007**).

I.2.5. Travaux antérieurs

Plusieurs études ont été réalisées sur cette plante afin de caractériser sa composition phytochimique bioactive qui pourrait confirmer l'usage de cette plante en médecine traditionnelle en tant qu'espèce anti-inflammatoire (**Macro et al., 2011**).

Une étude phytochimique sur les rhizomes de le *T. communis* à rapporter la présence de dérivés de batatasins, substance inhibitrice de croissance et des stérols de phénanthrène ainsi que le gracillin (glycoside stéroïdien) (**aquino, 1985**).

Shaheen et al. (2009) ont démontré que les principes actifs de *T. communis* seraient surtout les phénanthrènes et les saponosides dérivés de la diosgénine, qui sont responsables de plusieurs effets biologiques.

Des études ont démontré que des extraits de rhizomes de *T. communis* contiennent des glycosides stéroïdiens et phénanthrènes ayant des potentiels cytotoxiques, anticancéreux, antiviraux et anti-inflammatoires (**kova'cset al., 2007**).

Des propriétés irritantes de la peau des extraits des fruits et des rhizomes mûrs du *T. communis* capables de supprimer des réponses inflammatoires de divers niveaux de sévérité tels que la formation d'œdème, la plus grande perméabilité capillaire et le dépôt du tissu de granulation (**Capasso et al., 1983**).

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Notre étude a été portée sur les organes (feuilles, tiges, racines, fruits et graines) de la plante médicinale *Tamus communis*.

La plante a été récoltée dans la région d'Amizour (Figure 6), Bejaïa-Algérie (36° 38' 39" N 4° 54' 20" E, 96 m) d'altitude durant le mois de septembre (2017), Son identification est effectuée, au laboratoire de biotechnologies végétales et Ethnobotanique, de l'Université A. Mira de Bejaia, en utilisant la flore des plantes Algériennes (Quezel et Santa, 1963), Les échantillons sont déposés au niveau du laboratoire.



Figure 6 : La localisation géographique du lieu de récolte de *Tamus communis* (Google Maps).

II.1.2. Matériel animal :

Des souris Blb/C mâles, ayant un poids qui varie entre 22-30 g avec une moyenne d'âge (6 ± 2) semaines ont été utilisées. Ces animaux proviennent du centre d'élevage de l'institut Pasteur d'Alger et L'expérimentation a été réalisée au niveau du l'expérimentation animale de l'université Abderrahmane MIRA de Bejaia. Pour respecter leur cycle biologique, les animaux ont été mis sous des conditions de température de (25 ± 2) °C et d'humidité de 60-70 % avec un cycle 12/12h (lumière/obscurité). Les souris ont été nourries à volonté avec l'aliment (ONAB ELKSEUR BEJAIA) (figure 7).



Figure 7 : Les prises de vue des souris utilisées dans notre étude.

II.1.3. Appareillages et produits chimiques

Le matériel et les réactifs utilisés dans la présente étude sont reportés en annexe 2.

II.2. Méthodes

II.2.1. Séchage, broyage et tamisage

Les échantillons récoltés ont été nettoyés de tous contaminants à l'eau courante, puis séchés à l'étuve et transformés en poudre grâce à un broyeur électrique, puis tamisés à granulométrie inférieure à $\leq 125 \mu\text{m}$ afin de récupérer une poudre fine. Les poudres obtenues ont été conservées dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière.

II.2.2. Extraction et dosage des composés phénoliques

I.2.2.1. Préparation des extraits bruts éthanoliques

L'extraction des substances actives a été réalisée par technique d'extraction solide /liquide en suivant le protocole décrit par **Benhammou et al., (2008)**.

100 g de poudre végétale ont été macérées dans un litre d'éthanol à 70%. Le macérât a été filtré sur papier wattman. L'évaporation du solvant organique a été réalisée sous pression réduite dans un évaporateur rotatif. Les extraits secs obtenus ont été ensuite complètement séchés à l'étuve (40°C) pendant 24h et conservés jusqu'à l'utilisation.

➤ Calcul 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 (**Benhammou et al., 2008**).

II.2.2.2. Dosage des polyphénols totaux

➤ **Principe**

La quantification colorimétrique des composés phénoliques totaux a été déterminée selon la méthode décrite par (**Wong et al., 2006**), utilisant le réactif de Folin ciocalteu, qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Ces derniers, lors de l'oxydation des phénols, sont réduits en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximale est comprise entre 725 et 765 nanomètres est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

➤ **Mode opératoire**

1 ml de réactif de Folin-ciocalteu a été ajouté à 200 µl d'échantillon, après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (7,5%) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

➤ **Expression des résultats**

Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage effectuée dans les mêmes conditions de dosage (annexe 2), et exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS).

II.2.2.3. Dosage des flavonoïdes

➤ **Principe**

La méthode repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux. Cette propriété est propre aux groupements hydroxyles (OH) libre en position 5 des flavonoïdes,

qui sont capables de donner un complexe en présence d'aluminium (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ **Mode opératoire**

1ml d'extrait végétal a été mélangé avec 1ml de la solution éthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl_3 à 2%). Après incubation pendant 10 mn à température ambiante, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 430 nm. Un blanc a été préparé en mélangeant 1 ml de solution d'extrait avec 1 ml d'éthanol pour chaque extrait (**Zhishen et al., 1999**).

➤ **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de la matière sèche (mg EQ/g MS) en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine qui a été réalisée dans les mêmes conditions que l'extrait végétal (annexe 2).

II.3. Evaluation de l'activité antioxydant *in vitro*

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait éthanoliques des différentes parties de *Tamus communis*, deux radicaux ont été testés à savoir, le DPPH et le radical ABTS.

II.3.1. L'activité scavenger du radical DPPH

➤ **Principe :**

Le protocole de l'activité scavenging du radical DPPH suivi est celui de **Hemalatha et al., (2010)**. La méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH, car un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH- (2,2 diphenyl-1- picrylhydrazyl) de coloration violette (forme oxydée) pour le stabiliser en DPPH 2,2 Diphenyl-1- picrylhydrazine) de coloration jaune-verdâtre. L'intensité de la coloration est mesurée au spectrophotomètre à 515 nm, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des antioxydants (**Talbi et al., 2015**).

➤ **Mode opératoire**

Une solution de DPPH (0,1 mM) a été préparée dans l'éthanol, 0.5 ml de cette solution a été ajouté à 1.5 ml de solution d'extrait a différentes concentrations. Après une incubation de 30 mn à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 515 nm. Un blanc pour chaque extrait a été préparé en mélangeant 0.5 ml du l'éthanol avec 1.5 ml de solution

d'extrait et le contrôle a été préparé en remplaçant l'extrait par éthanol. La BHA et l'acide ascorbique ont été utilisés comme standards.

➤ Expression des résultats

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous.

$$\% \text{ activité scavenger de radical DPPH} = [A_C - (A_E - A_B) / A_C] \times 100$$

AC : Absorbance du DPPH (absorbance du témoin DPPH- absorbance de l'éthanol) AE

: Absorbance de la solution DPPH et de l'extrait.

AB : Absorbance du blanc de l'extrait sans DPPH (**Hemalatha et al., 2010**).

II.3.2. Activité « Scavenger » du radical ABTS

➤ Principe

La formation du radical cation $ABTS^{\cdot+}$ résulte de l'arrachement d'un électron de l'un des atomes d'azote de la molécule ABTS par un oxydant (le persulfate de potassium). En présence d'antioxydants donneurs de protons, ce radical $ABTS^{\cdot+}$ de coloration bleu-vert est réduit en ions $ABTSH^+$ incolore. Le suivi de cette décoloration à 734 nm permet d'évaluer le potentiel anti-radicalaire de l'extrait (**Re et al., 1999**).

➤ Mode opératoire

150 µl d'extrait végétal à différentes concentrations sont mélangés à 1,9ml d'une solution d' $ABTS^{\cdot+}$ (7mM) préalablement préparée. Après 7 min d'incubation, la DO est lue à 734nm contre un blanc dont l'extrait est remplacé par l'éthanol.

➤ Expression des résultats

L'activité antiradicalaire anti- $ABTS^{\cdot+}$ des extraits de plante est exprimée en TEAC, capacité antioxydant équivalente au Trolox, qui correspond à la concentration de Trolox donnant la même activité antioxydant d'1ml du composé testé.

Le pourcentage de réduction du radical ABTS a été calculé par la loi suivante

$$\% \text{ de réduction} = ((\text{Abs c} - \text{Abs t}) / \text{Abs c}) \times 100$$

Abs c : absorbance du control.

Abs t : absorbance du test (Re et al.,1999).

II.4. Evaluation de l'activité antioxydant *in vivo*

II.4.1 Evaluation de l'effet hépatoprotecteur contre l'intoxication par le paracétamol

➤ Principe

Pour mettre en évidence l'activité hépatoprotective de l'extrait éthanolique de fruit de *Tamus communis*, un modèle expérimental d'hépatotoxicité induite par le paracétamol a été sélectionné.

➤ Protocole expérimental

La technique utilisée a été inspirée de la méthode décrite par Kanbur et al., (2009). Un effectif de 56 souris a été utilisé pour ce protocole. Ces souris ont été réparties en 7 Groupes de 8 chacun.

Les extraits bruts de *Tamus communis* (100 et 300 mg/Kg) ainsi que le véhicule carboxyméthyl Cellulose (CMC à 0,8 %) et le standard (Fluimex à 200 mg/Kg) ont été administrés aux souris par voie intra-gastrique (IG), à l'aide d'une sonde gastro œsophagienne alors que la voie intra-péritonéale (IP), a été adoptée pour le paracétamol (400 mg/Kg). La nourriture a été enlevée aux souris une heure avant chaque gavage et leur a été remise une heure après.

Les souris sont réparties selon l'homogénéité de leurs poids en 7 lots de 8 souris chacun. Elles ont été traitées quotidiennement pendant 5 jours, par voie intragastrique (Figure 8).



Figure 8 : Mode d'administration des extraits de plante et le standard par voie intragastrique.

➤ **Les premières administrations**

Groupe I, le control négatif : Reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 0.5 ml/g de carboxyméthyl Cellulose (CMC à 0,8 %).

Groupe II, le control positif :Reçoivent chaque jour par gavage gastrique 0.5 ml/g de carboxyméthyl Cellulose (CMC à 0,8 %).

Groupe III, le standard : Reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 0.5 ml de flumex de concentration 200mg/kg.

Groupe IV : Des souris reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 0.5ml/g de l'extrait de fruits de *Tamus communis* de concentration 100mg/kg.

Groupe V : Des souris reçoivent chaque jour par gavage gastrique 0.5ml/g de l'extrait de fruits de *Tamus communis* de concentration 300mg/kg.

Groupe VI : Des souris reçoivent quotidiennement par gavage gastrique 0.5ml/g de l'extrait de fruit de *Tamus communis* de concentration 100 mg/kg.

Groupe VII : Des souris reçoivent chaque jour par gavage gastrique 0.5ml/g de l'extrait de fruit de *Tamus communis* de concentration 300mg/kg.

L'effet préventif de l'extrait contre une hépatotoxicité induite par le paracétamol a été évalué après administration de l'extrait brut de fruit de *Tamus communis* pendant 5 jours. Au 5ème jour, les souris de groupe II, III, VI et VII reçoivent une injection intra péritonéale par le paracétamol 1h après administration de la dernière dose de l'extrait, Et les souris de groupe I, IV, V reçoivent l'eau physiologique au lieu de paracétamol. 24 h après, Les souris ont été sacrifiées par décapitation sous légère anesthésie à la vapeur de chloroforme. Le sang de chaque souris a été prélevé au niveau du cou et recueilli dans des tubes héparinés pour le dosage des paramètres hépatiques dont les transaminases. Le foie a été récupéré après dissection, homogénéisé et utilisé pour la réalisation du test de la peroxydation lipidique. Quelques échantillons de foie ont été conservés dans du formol à 10 % pour l'étude histologique (figure9).

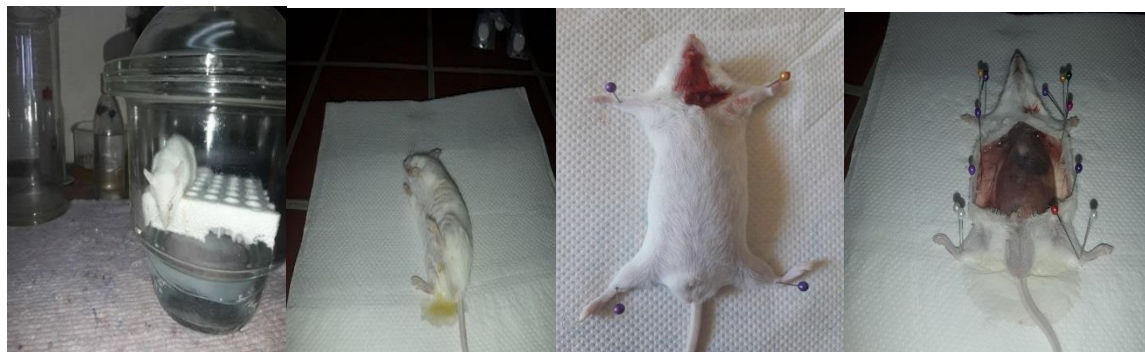


Figure 9 : Les différentes étapes du sacrifice des souris (photographie originale).

II.4.2. Dosage sanguin des transaminases

Des extraits de fruit de *Tamus communis* ont été employés pour traiter les dommages de foie induits par le paracétamol chez les souris. Les effets hépatoprotective ont été déterminés par des profils de biochimie de sérum (aminotransférase d'aspartate (ASAT), aminotransférase d'alanine (ALAT)), qui sont été réalisé au niveau d'un laboratoire d'analyse privé à Bejaia, par la méthode du dosage enzymatique couplé selon la Fiche technique du Kit SPINREACT (Espagne). La concentration de ces enzymes est exprimée en unité internationale par litre de substrat (UI/L). 1UI correspond à la quantité d'enzymes qui transforment 1 μ mol de substrat/min.

➤ Principe

- **Aspartate aminotransférase (ASAT)**

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi le glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert d'un groupe aminé à partir de l'aspartate à l'acétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. Ce dernier est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Nicotinamide adénine dinucléotide). Le taux de diminution de la concentration en NADH, H⁺ mesuré par spectrophotométrie à 340 nm, est proportionnel à l'activité catalytique de ASAT (Davila et al., 1989).

- **Alanine amino transférase (ALAT)**

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le glutamate-pyruvate Transaminase (GPT) catalyse le transfert d'un groupe aminé à partir de l'alanine à l' α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH, H⁺.

Le taux de la diminution de la concentration en NADH, H⁺ mesuré par

Spectrophotométrie à 340 nm, est proportionnel à l'activité catalytique d'ALAT (**Davila et al., 1989**).

➤ **Mode opératoire**

Prélèvement de sang de chaque souris a été fait dans des tubes héparinés. Ces derniers ont été soumis à une centrifugation à 3000 tour/min. Le sérum ensuite récupéré et utilisé pour le dosage des transaminases (ASAT et ALAT), en utilisant 1000 μ l du réactif pour 100 μ l du sérum et cela pour chaque test et pour chaque échantillon. Après agitation, l'absorbance est lue à 340 nm chaque minute pendant 3 min, est les résultats sont exprimé en moyenne (\square A/min) en suivant la formule suivante : \square A/min x 1750 = U/L de ASAT ou ALAT (**Davila et al., 1989**).

➤ **Préparation des homogénats du foie**

Après le sacrifice et la dissection, le foie des souris a été récupéré dans de l'eau Physiologique puis pesé grâce à une balance. 2 g du foie a été broyé dans 10 ml du tampon KCl (1,15 % pH 7,4) à l'aide d'un mortier en porcelaine puis homogénéisé dans un homogénéisateur. L'homogénat obtenu a été soumis à une centrifugation de 10000 g /20 min à 4°C, Le surnageant a été ensuite récupéré et mis dans des eppendorf qui ont été conservés à -80 °C jusqu'à la réalisation de test de peroxydation lipidique. Quelques échantillons de foie ont été conservés dans du formol à 10 % pour l'étude histologique. (**Olaleye et al., 2014**).

II .4.3. Dosage du MDA cytosolique

➤ **Mode opératoire**

Le dosage de malondialdéhyde (MDA) a été réalisé selon la méthode décrit par **Okhawa et al., (1979)**. Le principe de ce dosage est le suivant : le MDA réagit avec deux molécules de TBA (acide thiobarbiturique) dans un milieu acide (PH 2 à 3) et à chaud 100°C pour donner un pigment coloré en rose absorbant à 530 nm et extractible par les solvant organique comme le n-butanol. A 0,5ml de la fraction cytosolique nous avons additionné 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20% et 1ml d'acide thiobarbturique (TBA 0,67). Ensuit le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 mn, refroidi puis additionné de 4 ml de n-Butanol. Après le mélange est centrifugé pendant 15mn à 3000 rpm, enfin la densité optique est déterminée sur le surnageant à 530nm.

II.5. Analyse statistique

Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillon analysé et les résultats ont été exprimés sous forme : moyenne \pm écartype. 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 8 et Excel® (Microsoft Excel 2007).

Résultats et discussion

La présente étude a été consacrée au dosage des composés phénoliques de *Tamus communis* (tiges, feuilles, fruits, graines et racines) et à la détermination de l'activité antioxydante des extraits obtenus.

III.1. Extraction et dosage des composés phénoliques

III.1.1. Taux d'extraction

L'éthanol est le solvant d'extraction par excellence des composés phénoliques, car il permet d'extraire le maximum de ces composés et il est moins toxique que le méthanol (Brunneton, 1999).

Les résultats obtenus montrent que les taux d'extractions varient de (6.861 ± 0.032 à 31.547 ± 0.045 %), voir figure 10.

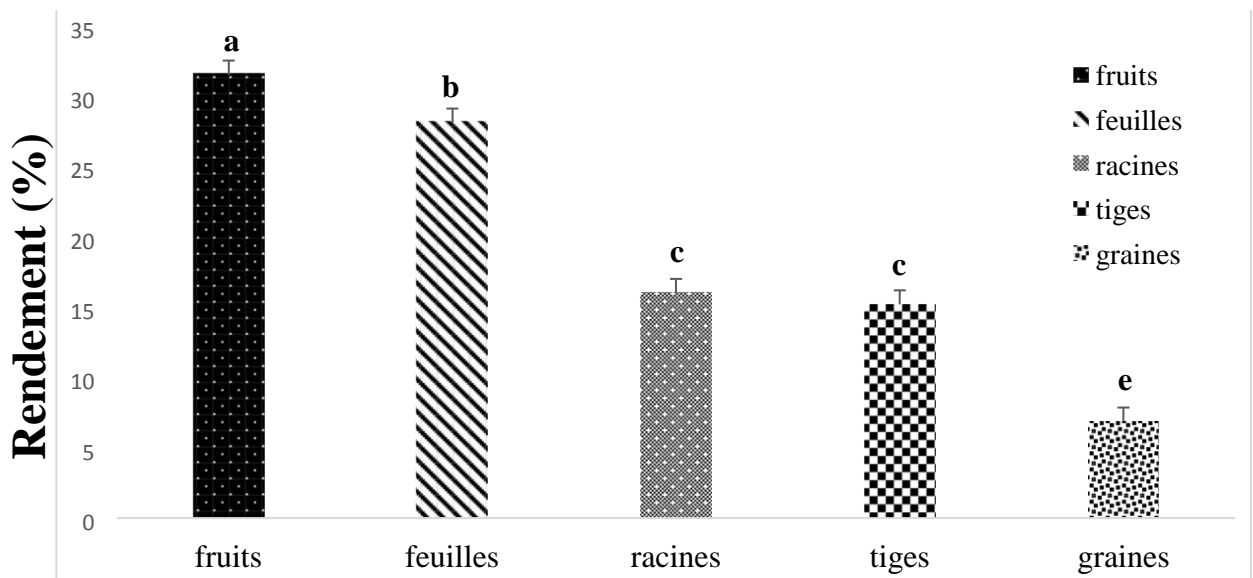


Figure 10 : Taux d'extraction des échantillons du *Tamus communis*.

Les résultats obtenus indiquent que, les taux d'extraction varient significativement entre les différentes parties de la plante étudiée ($p < 0.05$), les meilleures teneurs sont observées dans les extraits de fruits et de feuilles avec les valeurs de 31.547 ± 0.045 et 28.133 ± 0.082 % respectivement. Par contre, les graines ont montré le plus faible rendement qui est de 6.861 ± 0.032 %.

Marco et al. (2011), en appliquant la même méthode d'extraction sur le fruit de *Tamus communis* et en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, ont obtenu un taux de (26.74 ± 0.55 %) qui est inférieur au résultat obtenu avec le fruit de la présente étude.

Baghiani et al. (2007), en utilisant différents solvants d'extraction, ont obtenu des rendements des racines de *T. communis*, inférieurs ($0,30\pm 0,04\%$ à $8,5\pm 0,75\%$) à ceux obtenu au cours de cette étude ($16,01\pm 0,003\%$).

La période de la récolte, la procédure de séchage, la granulométrie des particules, la température d'extraction, le temps de macération, le volume ainsi que la nature du solvant, constituent les paramètres susceptibles d'influencer le taux d'extraction (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

III.1.2. Teneur en composés phénoliques

Les résultats illustrés sur la (figure 11), ont montré une différence significative ($p\leq 0,05$) entre les teneurs en polyphénols des organes de la plante.

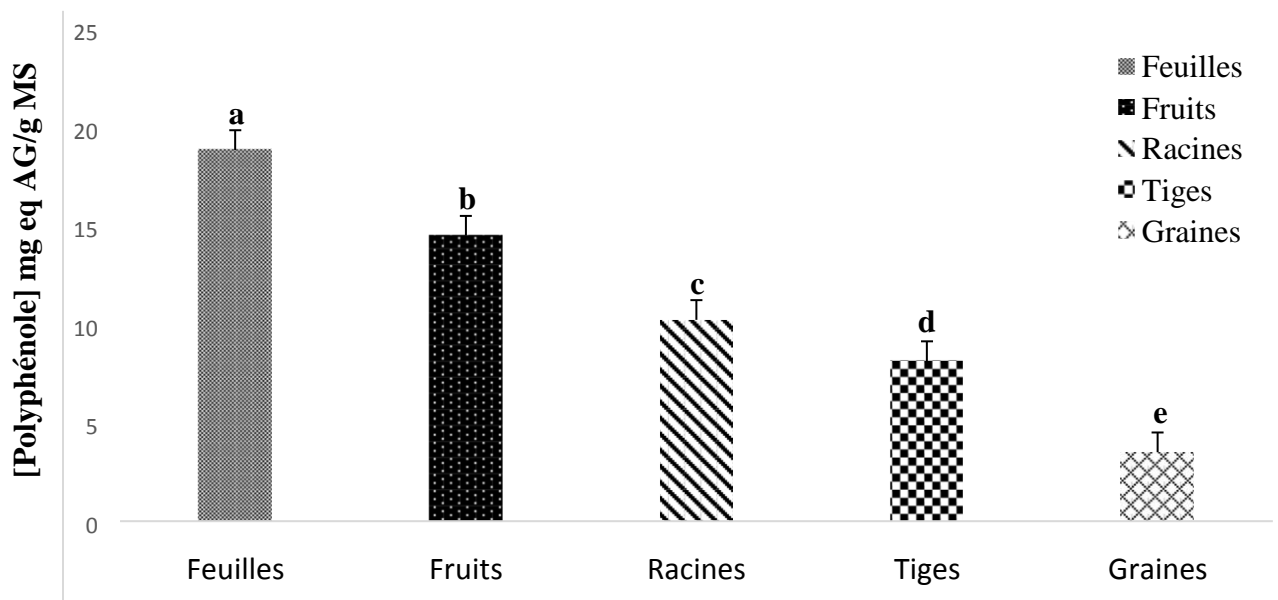


Figure 11 : Représentation graphique des taux des phénols totaux des extraits de *Tamus communis*.

Les feuilles sont les plus riches en composés phénoliques avec la teneur de ($18,816\pm 0,292$ mg eq AG/g MS), suivies par les fruits ($14,474\pm 0,159$ mg eq AG/g MS), tandis que, les autres organes (racines, tiges et graines) ont révélé les teneurs les plus faibles ($10,204\pm 0,842$ mg eq AG/g MS), ($8,116\pm 0,794$ mg eq AG/g MS) et ($3,495\pm 0,303$ mg eq AG /g MS) respectueusement.

L'extrait éthanolique des racines de *T. communis* est plus riche en polyphénols ($63,713\pm 5,261$ mg eq AG/g d'extrait) par comparaison à l'extrait méthanolique de la même plante et de même organe, étudié par **Baghian et al., (2009)** et qui ont trouvé une teneur de $26,55 \pm 3,93$ mg eq AG/g d'extrait.

Marco et al., (2011), ont obtenu une teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de fruits de *Tamus communis* du Portugal ($445.96 \pm g$ EAG/g d'extrait) qui est légèrement élevée par rapport au résultat (45.843 ± 0.505 mg eq AG/g) d'extrait de fruits de la présente étude (Tableau II).

Tableau II : Teneur en polyphénols totaux, de différents organes de *Tamus communis* Par gramme d'extrait.

Dosage	Polyphénols totaux (Mg eq d'AG/g d'extrait)
Feuilles	18.816 ± 0.292
Fruits	14.474 ± 0.159
Racines	10.204 ± 0.842
Tiges	8.116 ± 0.794
Graines	3.495 ± 0.303

Une étude réalisée par **Hamiduzzaman et al., (2017)**, a révélé que l'extrait d'hexane des tiges de l'espèce *Dioscoreacea alata* de la famille des *Dioscoreaceae*, a une teneur en polyphénols (16.80 ± 0.357 mg EAG/g de MS) presque deux fois plus élevée que celle de l'extrait des tiges de *T. communis* (8.116 ± 0.794 mg eq AG/g MS). Cependant, l'extrait chloroformique de fruits de *Dioscoreacea alata* a donné une valeur relativement inférieure (8.95 mg es AG/g MS) à celle obtenue avec l'extrait de fruits de *T. communis* (14.474 ± 0.159 mg eq AG/g MS).

Les propriétés des composés phénoliques rendent impossible la mise au point d'une méthode d'extraction exhaustive (intégrale, complète) (**Bruneton, 1999**). La solubilité des composés phénoliques est influencée par la nature du solvant utilisé et le degré de sa polymérisation. Cependant, ces composés sont généralement combinés avec d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylles, lipides, composés inorganiques...). En général, les formes aglycones fortement hydroxylées des composés phénoliques sont solubles dans les alcools comme l'éthanol et le méthanol (**Riberau-Gayon, 1968**). Les solvants moins polaires tels que l'acétone sont utilisés pour extraire les composés de faible polarité avec une forme aglycones hautement méthylée. (**Riberau-Gayon, 1968**).

Les teneurs en flavonoïdes des extraits de *T. communis* varient d'une manière significative ($p < 0,05$), selon l'organe de la plante utilisé (Figure 10). Aucune différence significative n'a été constatée entre les tiges et les racines.

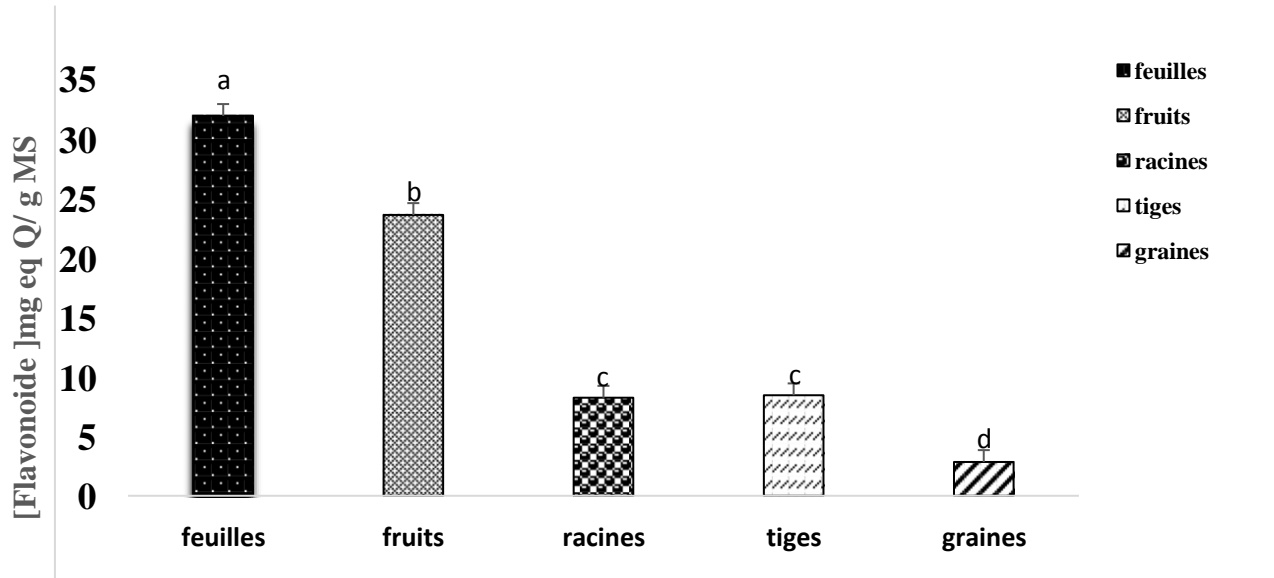


Figure 12 : Représentation graphique des teneurs en flavonoïdes des extraits de *Tamus communis*.

L'extrait éthanolique de feuilles a présenté la teneur en flavonoïdes la plus élevée qui est de 32.008 ± 0.530 mg eq Q/g MS, suivie par l'extrait de fruits (23.663 ± 0.49 mg eq Q/g MS). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que, les flavonoïdes se localisent généralement dans les parties aériennes des végétaux (feuilles, fruits et tiges), vu qu'ils jouent un rôle important dans la protection contre les rayonnements solaires. Cependant, la plus faible teneur a été trouvée dans l'extrait des graines (2.847 ± 0.146 mg eq Q/g MS).

Hamiduzzaman et al., (2017), ont rapporté que, la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique des fruits de *Dioscoreacea alata* (8.05 ± 0.750 mg eq Q/g MS), est faible par rapport à l'extrait de fruit de *T. communis* (23.663 ± 0.49 mg eq Q/g MS). Mais, l'extrait de fruit de *T. communis* de Portugal reste supérieur avec une valeur en flavonoïdes qui est de 52.69 ± 3.51 mg eq Q /g d'extrait (**Marco et al., 2011**).

Selon la littérature, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être influencé par plusieurs facteurs, tels

que, les facteurs géographique, climatique, le stade de développement de la plante et son degré de maturation, la durée de stockage ... etc (Bruneton, 1999).

III.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques *in vitro*

Dans la présente étude l'activité antioxydante des extraits phénoliques de *T. communis* a été déterminée en utilisant l'activité anti radicalaire des radicaux DPPH et ABTS.

III.2.1. Activité scavenger du radical DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à agir en tant que piègeurs de radicaux en réduisant le DPPH par un transfert d'hydrogène (Talbi et al., 2015).

Les résultats obtenus (Figure 13), ont montré que tous les extraits de *T. communis* testés ont exhibé d'importantes capacités inhibitrices du DPPH, qui varient selon l'organe étudié.

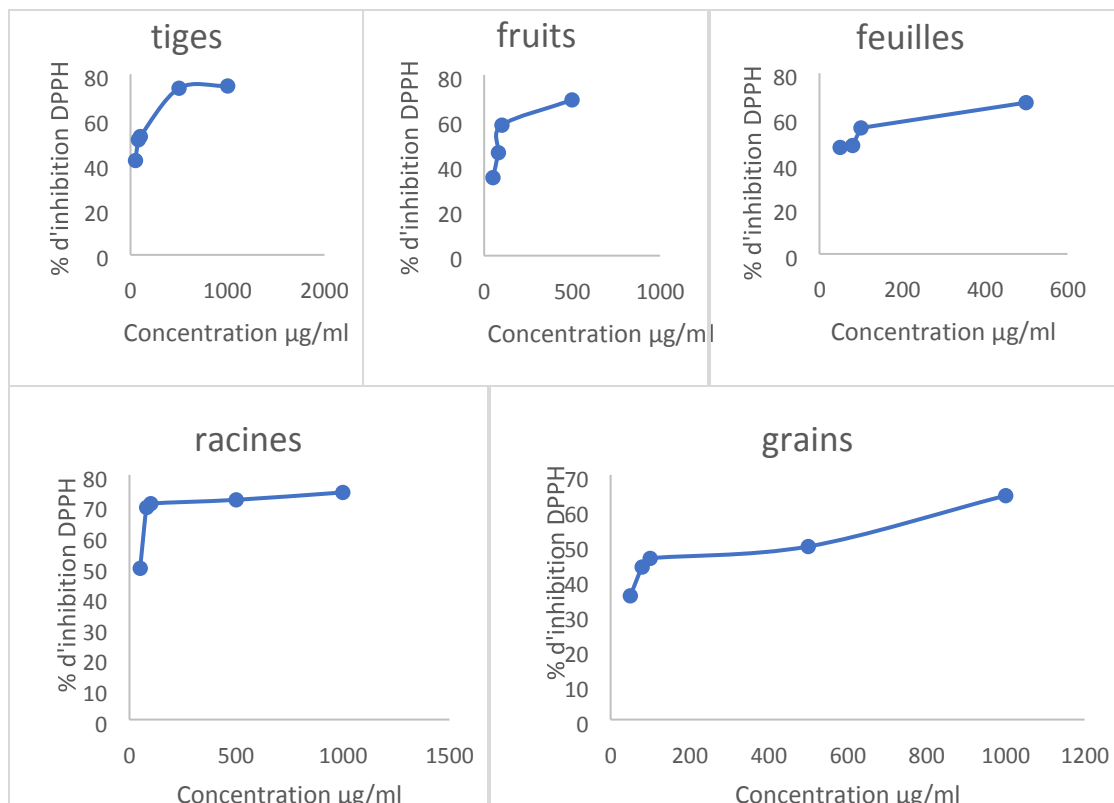


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits de *Tamus communis* en fonction de différentes concentrations.

Les résultats illustrés dans la (Figure 13) montrent que le pourcentage d'inhibition du radicale DPPH augmente en fonction de l'augmentation des concentrations des extraits des différentes parties de la plante étudiée.

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir des IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité de l'extrait testé est importante (figure 14) (Pokorny *et al.*, 2001).

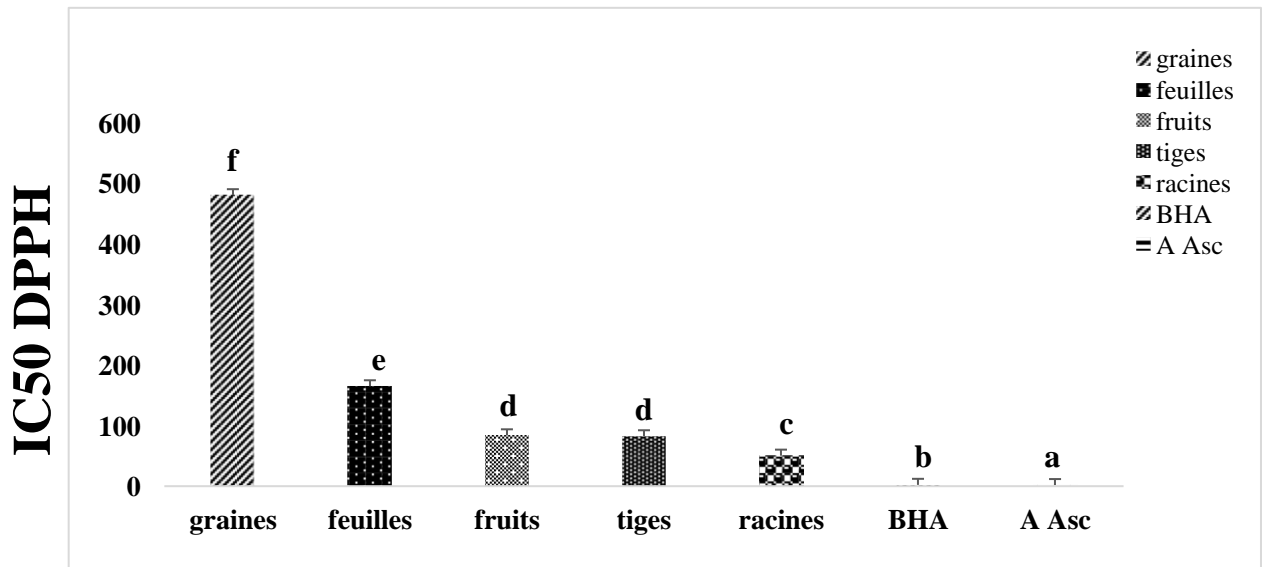


Figure 14 : Histogramme des IC50 des différents extraits en µg/ml.

L'analyse statistique des résultats (Figure 14) indique une simple différence significative entre la racine et la tige, tandis que, aucune différence significative n'a été enregistrés entre la tige et le fruit ($P > 0.05$).

L'extrait de racines qui a présenté une IC50 de 49.51 ± 2.28 µg/ml, a exercé le meilleur pouvoir antiradicalaire (DPPH), suivi de l'extrait de tiges (82.29 ± 3.020 µg/ml). La plus faible activité antiradicalaire contre le DPPH a été obtenue par l'extrait de graines avec une IC50 de 480.13 ± 5.177 µg/ml. Il a été remarqué que, l'activité antiradicalaire de ces extraits est très faible par rapport à celles de l'acide ascorbique (1,76 µg/ml) et de la BHA (2.16 µg/ml).

Ces résultats permettent de classer les extraits par rapport au standard selon leur pouvoir antioxydant par ordre décroissant (graines > feuilles > fruits > tiges > racines > BHA > acide ascorbique).

Zerargui, (2015), a montré que l'extrait éthanolique des racines de *Tamus communis* a obtenu une IC50 de $50.32 \pm 0.862 \mu\text{g/ml}$, ce résultat reste faible par rapport à celui de l'extrait de racines de la présente étude.

Selon, Hamiduzzaman et al. (2017), l'extrait méthanolique de tiges de *Dioscorea alata* a montré une valeur d'IC50 de l'ordre de $33.75 \mu\text{g/ml}$, ce qui révèle un pouvoir antioxydant plus élevé par comparaison au résultat de l'extrait de tiges (IC50 est de $82.29 \mu\text{g/ml}$) de *T. communis* étudiée.

Toutefois, Marco et al. (2011) ont trouvé des IC50 de $910 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$, pour l'extrait méthanolique des fruits, ce qui n'est pas en accord avec l'IC50 qu'on a trouvé IC50 qui est de $83.88 \pm 0.970 \mu\text{g/ml}$.

L'activité « scavenger » du radical DPPH peut être attribuée à la présence de groupements hydroxyles, à la structure moléculaire des composés phénoliques. Il est aussi important de noter que la position des groupements et le degré de leur méthylation pourrait influencer l'activité anti radicalaire de ces polyphénols (Irulandi et al., 2016).

III.2.2. Activité Scavenger du radical ABTS

Les résultats de l'activité antiradicalaire, vis-à-vis du radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ des extraits sont exprimés en mg eq TEAC/g MS et illustrés dans la figure 15.

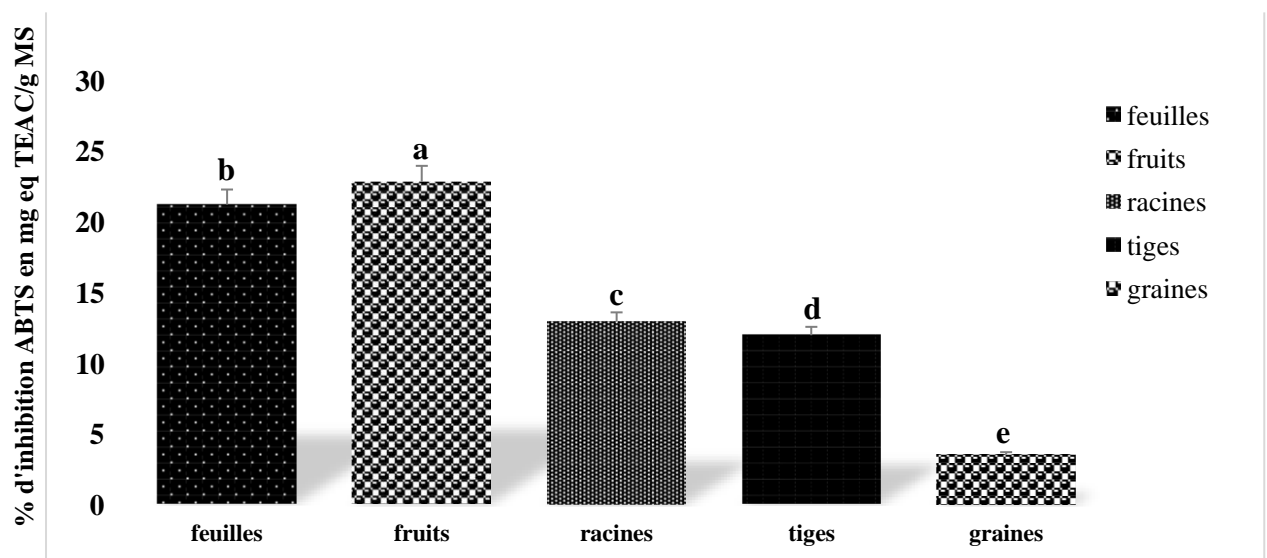


Figure 15 : Activité anti-radicalaire des extraits équivalent Trolox à une concentration de 1mg/ml.

L'analyse statistique a montré une différence significative entre les différents extraits étudiés ($P < 0,05$). A la concentration de 1mg/ml, les extraits de fruits et feuilles ont donné

une activité scavenger contre le radical ABTS très hautement significative ($P < 0,05$) avec des valeurs de $22,78 \pm 0,30$ mg eq TEAC/g MS et $21,19 \pm 0,11$ mg eq TEAC/g MS respectivement. Tandis que, les graines ont montré une faible activité réductrice avec une valeur de $3,49 \pm 0,05$ mg eq TEAC/g MS. L'étude statistique a révélé une différence significative entre les résultats enregistrés par les extraits de racines et ceux de tiges ($12,91 \pm 0,17$ mg eq TEAC/g MS ; $11,93 \pm 0,13$ mg eq TEAC/g MS), respectivement.

Les résultats de l'activité antiradicalaire, vis-à-vis du radical ABTS, du standard et des extraits de *Tamus communis* sont exprimés en IC50 et représentés dans la figure 16.

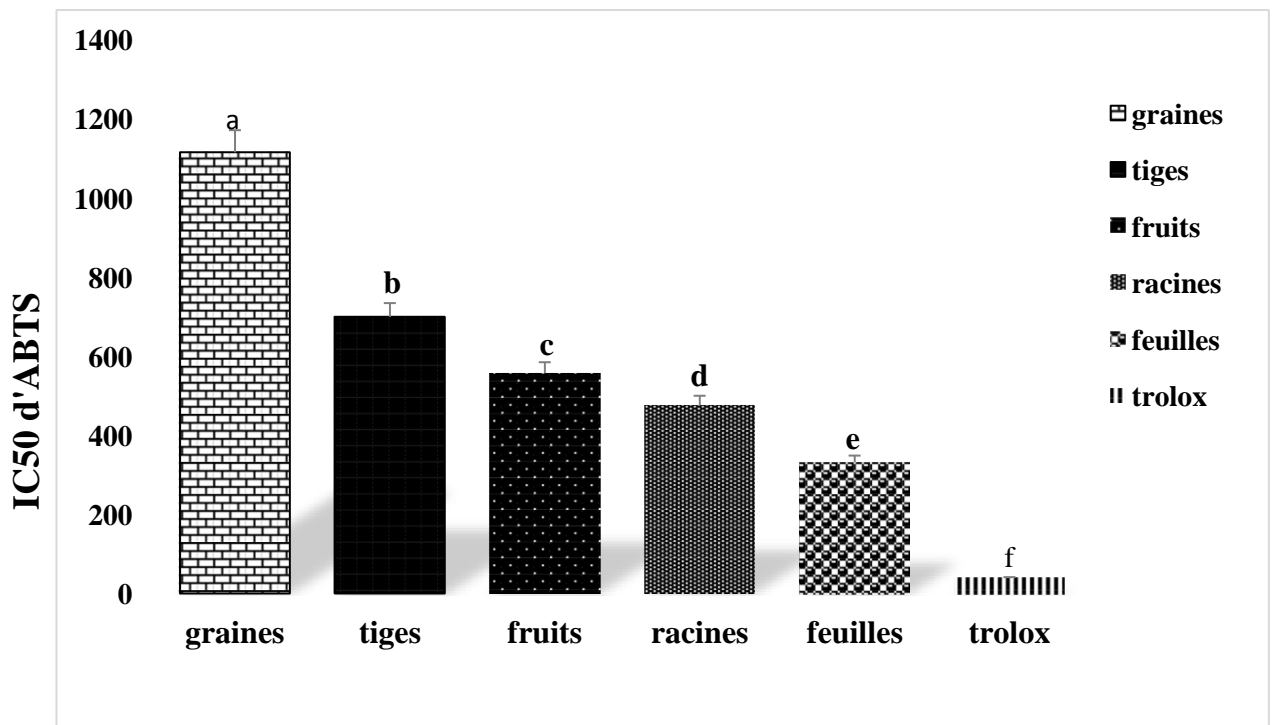


Figure 16 : Les valeurs des IC50 des extraits de *T. communis* contre le radical ABTS en µg/ml

L'analyse statistique des résultats obtenus montre des différences significatives ($P < 0,05$) entre les différents échantillons étudiés. L'activité la plus efficace est celle obtenue avec l'extrait de feuilles qui est de l'ordre de $331,91 \mu\text{g/ml}$, cette valeur est supérieure de celle du standard Trolox ($39,37 \mu\text{g/ml}$). L'activité antiradicalaire se classe donc dans l'ordre croissant suivant : graines < tiges < fruits < racines < feuilles < Trolox.

A l'issu des résultats obtenus, il s'est avéré clairement que les extraits de la plante étudiée, exerce une bonne activité antiradicalaire contre le radicale ABTS, ceci est probablement dû à la richesse de ces extraits en groupements hydroxyles.

III.3. Etude *in vivo* de l'effet de *Tamus communis* sur le stress oxydatif hépatique

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'effet protecteur de l'extrait de fruits de *T. communis* contre le stress hépatique induit par l'administration d'une forte dose en paracétamol.

III.3.1. Evaluation des taux sériques des transaminases (ALAT et ASAT)

La variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT/ALAT) chez les souris témoins, traitées par le paracétamol et prétraitées par les extraits de fruits de *T. communis* est représentée sur la Tableau III et illustrée dans la Figure 17.

Tableau III : La variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT/ALAT) chez les souris témoins, traitées par le paracétamol et prétraitées par les extraits de fruits de *T. communis*.

Paramètres	CMC	CMC PCM	TC 100mg/kg	TC 300mg/kg	TC 100mg/kg PCM	TC 300mg/kg PCM	Médicament
ALAT (UI/L)	68.22 ± 3	181.24 ± 07	85.44 ± 17	71.05 ± 9	93.45 ± 13	81.16 ± 04	70.93.50 ± 12
ASAT (UI/L)	248.13 ± 23	651.74 ± 9	171.13 ± 23	265.12 ± 34	323.78 ± 9	227.33 ± 16	198.13 ± 41

Les résultats obtenus (Figure 17), ont montré des différences significatives entre les taux des transaminases des différents groupes traités et non traités. En effet, le traitement des souris par le paracétamol a provoqué une augmentation hautement significative du taux des transaminases : de l'alanine aminotransférase (ALAT) (181.24 ± 07 UI/L) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (651.74 ± 9 UI/L)

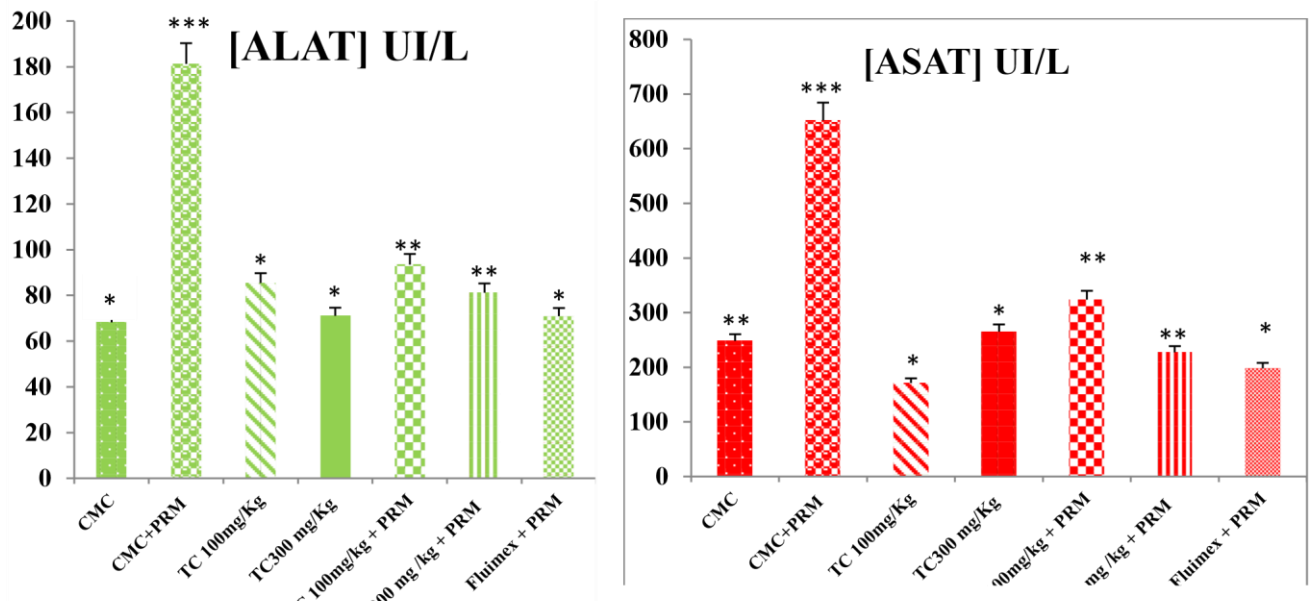


Figure 17 : variation de la concentration sanguine des transaminases (ASAT et ALAT) chez les souris témoins traitées (paracétamol) et prétraitées par (les extraits de fruit de *T. communis* à différentes doses).

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ($n=3$), ANOVA-MANOVA suivit par le teste LDS ont été utilisés pour l'analyse statistique. La différence est significative $***p<0.05$ très significative, $**p<0.05$ moyennement significative, $*p<0.05$ faible significative.

Aucune différence significative dans les taux de ALAT (85.44 ± 17 UI/L ; 71.05 ± 9 UI/L) et ASAT (171.13 ± 23 UI/L ; 265.12 ± 34 UI/L) n'a été enregistrée dans les groupes contrôles, traitées par l'extrait de *T. communis* aux doses 100 mg/kg et 300 mg/kg,

Comparativement au groupe témoin dont les taux de ALAT et ASAT sont (68.22 ± 3 UI/L) et (248.13 ± 23 UI/L) respectivement (Tableau III). Par contre une diminution hautement significative a été enregistrée chez les souris prétraitées par les extraits de *T. communis* à différentes doses 100 mg/kg (93.45 ± 13 UI/L de ALAT et 323.78 ± 9 UI/L de ASAT) et 300 mg/kg (81.16 ± 04 UI/L de ALAT et 227.33 ± 16 UI/L de ASAT). Avec une overdose de paracétamol à (400 mg/kg).

En tant qu'organe de désintoxication, le foie est le premier organe qui rencontre tous les matériaux qui sont absorbés par le tractus gastro-intestinal. Il a été démontré qu'il réagissait aux effets toxicologiques de plusieurs façons, y compris la dégénérescence cellulaire, la nécrose et la fibrose. Plusieurs travaux scientifiques, réalisés sur des souris, ont montré que le paracétamol peut induire une destruction du foie par l'élévation des taux sanguins des transaminase (ASAT/ ALAT) (Walaa *et al.*, 2014).

Au cours de la lésion hépatique, les enzymes ont tendance à s'écouler dans la circulation sanguine en raison de leur emplacement cytoplasmique, ce qui facilite leur mise en circulation en réponse à des dommages de l'intégrité structurelle du foie (**Afroz et al., 2014**).

Les résultats issus de cette étude expérimentale révèlent une augmentation du taux des transaminases (ASAT/ALAT) après traitement des souris par une forte dose du paracétamol, ce qui a été confirmé par les travaux de **Forouzandeh et al. (2013)**.

Selon **Farag et al., (2010)** cette augmentation peut être due pratiquement à des lésions tissulaires dans le foie, en raison de modification de perméabilité de la membrane cellulaire ou également à une augmentation de la synthèse ou une diminution du catabolisme des transaminases.

Dans la présente étude l'augmentation de l'activité des transaminases est enregistrée suite aux conditions drastiques causées par l'activité toxique due à l'accumulation du produit du métabolisme de paracétamol : le N-acétyl p-benzoquinone-imine (NAPQI) dans le foie, ce qui peut provoquer une destruction cellulaire ou augmenter la perméabilité des cellules hépatiques. De plus, les ROS générés suite au cycle redox du NAPQI peut endommager les membranes hépatiques (**Walaa et al., 2014**).

La réduction des effets toxiques par les molécules antioxydantes a été évaluée dans plusieurs études précédentes **Kanbur et al., (2009)** et **Forouzandeh et al., (2013)**. Au cours de cette étude, le prétraitement par les extraits de fruits de *T. communis* a normalisé l'activité enzymatique des transaminases, par comparaison au témoin. Cette normalisation peut être expliquée, par l'effet protecteur des antioxydants de *T. communis* à protégé les cellules hépatiques contre les effets toxiques de NAPQI. Ces résultats sont en accord avec d'autres études où les extraits de plantes ont prouvés leur effets hépatoprotecteur chez les souris après exposition à une forte dose du paracétamol ou à d'autres molécules hépatotoxiques (doxorubicine, CCL4 ...) (**Omar et al., 2016**).

III.3.2. Variation des paramètres du stress oxydatif par l'évaluation des taux hépatiques du MDA

La figure 18 illustre la variation du MDA cytosolique dans le foie chez les souris prétraitées ou non par les extraits de fruit de *T. communis* et les résultats sont exprimés en nmol/g de foie en utilisant une courbe standard de tetraoxypropane (TEP) (Annexe 3).

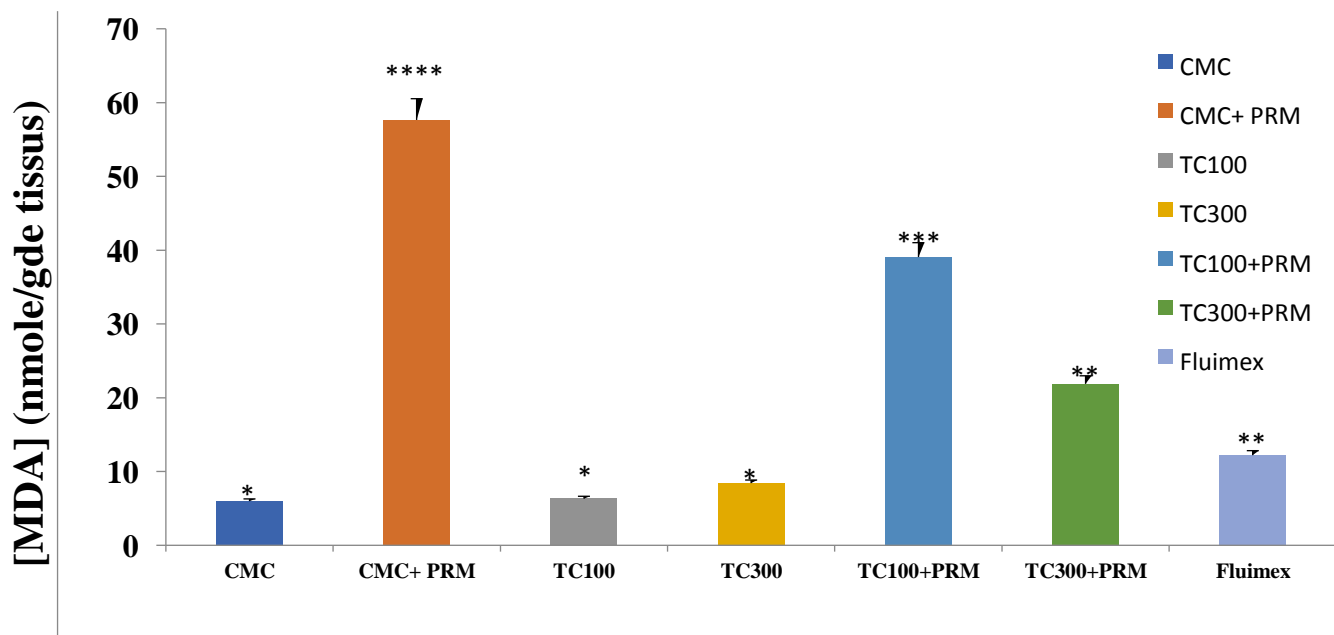


Figure 18: variation du taux de MDA cytosolique hépatique après administration de forte dose du paracétamol (400mg/kg) par souris.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type ($n=3$), ANOVA-MANOVA suivit par le teste LDS ont été utilisés pour l'analyse statistique. La différence est significative $***p<0.05$ très significative, $**p<0.05$ moyennement significative, $*p<0.05$ faible significative.

Une élévation hautement significative ($P<0,05$) du MDA a été constatée chez les souris témoins traités par le paracétamol à 400mg/kg ($57,64 \pm 5.28$ nmol/l) par rapport au groupe témoin (CMC) ($5,98 \pm 2.51$ nmol/l). Par ailleurs, une variation significative ($P<0,05$) du taux du MDA a été révélée chez les souris prétraitées par les extraits de *T. communis* à la dose de 100mg/kg et 300mg/kg avec une diminution des taux de MDA de $39,05 \pm$ nmol/l et $21,87 \pm 3.25$ nmol/l respectivement, et cela par rapport au groupe traité. Ces résultats indiquent que les souris ont été protégées par les extraits de fruit de *T. communis* d'une façon significative en fonction de la dose administrée.

Etant donné que, les phospholipides membranaires sont des cibles majeures de dégâts oxydatifs, la peroxydation lipidique est souvent le premier paramètre analysé pour prouver l'atteinte des radicaux libres. La peroxydation lipidique est le processus de dégradation oxydante des acides gras polyinsaturés. Elle produit une perte progressive de l'intégrité de la membrane cellulaire, une altération de la fonction de transport membranaire et une perturbation de l'homéostasie des ions cellulaires. Le stress oxydant est caractérisé par les

ROS qui induisent la peroxydation lipidique, le MDA est un produit secondaire généré au cours de l'oxydation des acides gras polyinsaturés (**Cillard et Cillard, 2006**).

Les résultats obtenus ont montré l'augmentation du taux du MDA cytosolique dans le tissu hépatique dans le groupe traité par le paracétamol. L'augmentation de la peroxydation lipidique, indiquée par le taux élevé du MDA, ceci montre bien que l'administration d'une forte dose du paracétamol est capable de provoquer la génération des ROS, qui se traduit par une peroxydation lipidique dans le tissu hépatique. Les lipides de la membrane cellulaire hépatique sont sensibles aux lésions des radicaux oxygénés induits par le produit de dégradation du paracétamol le NAPQI (**Reid et al., 2005**). Dans les conditions aérobies, le radicale semi quinone du NAPQI est capable de provoquer la génération des ROS, y compris le radical hydroxyle, qui peut affecter profondément les lipides, induisant ainsi une peroxydation lipidique (**Hinson, 2010**). Dans le même contexte, des études réalisées **Mitchell et al. (2011)**, ont montré que, l'administration d'une forte dose du paracétamol, induit une augmentation de la peroxydation lipidique au niveau du tissu hépatique.

Dans les états de stress oxydatif, le glutathion réduit la (GSH) qui est convertie en glutathion oxydé (GSSH) et l'épuisement entraîne une peroxydation lipidique. La SOD est connue pour inhiber la production de radicaux HO· En éliminant O₂⁻. En effet, sa réduction est entraînée tout en inhibant la peroxydation lipidique. En outre, l'augmentation de la peroxydation lipidique est associée à une diminution de l'activité de la SOD (**Meister et Anderson, 1983**)

Par ailleurs, le prétraitement par les extraits de fruit de *T. communis* diminue le taux du MDA cytosolique, ce qui permet de dire que les extraits de fruits de *T. communis* protègent le tissu hépatique contre les effets toxiques du stress oxydant, dans la peroxydation lipidique, cet effet protecteur peut être dû à la réduction des molécules de MDA par les extraits de fruits de *T. communis*. En effet, le *T. communis* présente une activité antilipoperoxydative, par son effet de balayage des radicaux peroxydes, par la capacité de chélation des ions et sa capacité à réduire le Fe⁺² et inhiber ainsi la réaction de Fenton et la peroxydation des lipides, c'est ce qui a été confirmé par **Zerargui en 2015**.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Le présent travail a permis d'étudier et de valoriser une plante médicinale locale qui représente une source importante de substances naturelles bioactives. Cette étude a été consacrée d'une part, aux dosages de quelques antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) de différentes parties de *Tamus communis*, et d'autre part, à l'évaluation de leurs activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo*.

Les résultats du dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) des extraits de *T. communis* ont montré que les teneurs les plus élevées ont été obtenues avec les extraits de feuilles et de fruits (18,81 mg EAG /g MS ; 14,74 mg EAG/g MS) respectivement pour les polyphénols et (32 mg EQ/g MS ; 23,66 mg EQ/g MS) respectivement pour les flavonoïdes.

Les résultats obtenus ont montré que tous les extraits de *T. communis* testés ont exhibé d'importantes capacités inhibitrices du DPPH, qui varient selon l'organe étudié et la concentration utilisée. L'extrait de racines qui a présenté une IC₅₀ de 49.51 ± 2.28 µg/ml, a exercé le meilleur pouvoir antiradicalaire (DPPH), suivi de l'extrait de tiges (82.29 ± 3.020 µg/ml). La plus faible activité antiradicalaire contre le DPPH a été obtenue par l'extrait de graines avec une IC₅₀ de 480.13 ± 5.177 µg/ml. Il a été remarqué que, l'activité antiradicalaire de ces extraits est très faible par rapport à celles de l'acide ascorbique (1,76 µg/ml) et de la BHA (2.16 µg/ml).

Cependant, l'activité antiradicalaire contre l'ABTS la plus efficace est celle obtenue avec l'extrait de feuilles qui est de l'ordre de 331.91 µg/ml, cette valeur est supérieure à celle du standard Trolox (39.37 µg/ml).

D'autre part, l'étude expérimentale *in vivo* a permis d'évaluer l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique des fruits de *Tamus communis* contre une intoxication induite par un surdosage en paracétamol. Il s'est avéré que, le prétraitement des souris par des doses de 100 mg/kg et 300 mg/kg par l'extrait de fruits de

T. communis suivie d'une seule dose intrapéritonéale du paracétamol à 400 mg/kg, a donné une forte hépto-protectivité des extraits de *T. communis*, ce qui a été confirmé par les taux sériques des transaminases obtenus chez les souris traitées et non traitées par les extraits de la p. L'effet hépto-protecteur de cette espèce est probablement lié aux métabolites secondaires contenus dans ses fruits. Ces composés qui sont en partie responsables de l'activité antioxydante testée.

lante étudiée, de même pour la teneur en enzyme de la peroxydation lipidique du MDA.

Conclusion et perspectives

Ce travail reste préliminaire, il a permis la mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits de *T.communis*, il sera intéressant de compléter ce travail par une identification et une caractérisation des composés phénoliques de cette espèce par des techniques chromatographiques telles que l'HPLC, LC-MS et une GC/MS...etc, ainsi que l'exploration d'autres aspects biologiques soit pharmacologiques ou toxicologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Afroz, R., Tanvir, EM., Hossain, MF., Gan, SH., Parvez, M., Aminul, I M., Khalil, MI. (2014). Protective effect of Sandarbane honey against acetaminophen-induced acute hépatonephrotoxicity in rats. Evid. -Based Complement. *Altern Med.*

Aquino, R., Behar, I., de Simone, F., Pizza, C., Senatoe, F. (1985). Phenanthrene derivatives from *Tamuscommunis*. *Biochem. Syst. Ecol.* 13, 251–252.

B

Baghiani, A., Boumerfeg, S., D Messaoudi; Khennouf, S., Arrar, L.(2007).Antioxydant Properties and Xanthine Oxidase Inhibitory Effects of *Tamuscommunis*L. Root Extracts . Copyright ,23 : 283 –285.

Bellier, R. (2011). Toxicitéhépatique du paracétamol a dose thérapeutique : *Revue de Littérature et proposition d'un protocole d'évaluation en période postopératoire.* Thèse pourle diplôme d'état de docteur en médecine, faculté de médecine, Université de Limoges, P. 25.

Benhammou, N., Atikbekkara, F., Panovska, KT. (2008). Antioxydant and antimicrobialactivities of the Pistacialentiscusatlantica extracts. *African journal of pharmacy and pharmacology* ,2: 022-028.

Boizot, N., Charpentier, JP. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en Composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *INRA - Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques.*

Boulard, B. (2003). *Plants Médicinales Du Monde : Réalités et Croyances.* Paris. pp: 10921107.

Caddick, LR., Wilkin, P., Rudall, PJ., Hedderson, TAJ., Chase, MW. (2002). Yamsreclassified: a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscreales. *Taxon.* 51: 103114.

C

Capasso,F., De Simone,F., Senatore, FS. (1983). Sterol constituents of *Tamuscommunis*L.*J Ethnopharmacol.* 8(3):327-329.

Chu, WL., Lim, YW., Radhakrishnan, AK., Lim, PE. (2010). Protective effect of opaqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMCComplementar and alternative Medicine*, 10(59):2-8.

Références bibliographiques

Cillard, J., Cillard, P. (2006). Mécanisme de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *OCL*, volume 13, numéro 1, 24-29.

D

Davila, JC., Lenherr, A., Acosta, D. (1989). Protective effect of flavonoids on drug-induced hepatotoxicity *in vitro*. *Toxicology*, 57: 267-286.

F

Farag, AG. (2010). Elhalwagy ME, Farid HE, Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albinos rats. *Pesticide biochemistry and physiology*. 97(3): 267-274.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanisme chimique*, 108-115.

Forouzandeh, H., Azemi, ME., Rashidi, I., Goudarzi, M., Kalantari, H. (2013). Study of the protective effect of *Teucrium polium* l. extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(1) : 123-129.

G

Goudable, J., Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygène et antioxydants. *Nutr Clin Mdtabol*. 11:117.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, JOC., Charlier, CJP., Chapelle, JP. (2007). Le stress oxydant. *Med Liege*. 62:10: 628-638.

Hamiduzzaman, M., Jahan, I., Santa, SA., Bhuiyan, MI. (2017). Significant Oxidative Stress Reduction by *Dioscorea alata* (Dioscoreaceae): Common Tuberos Vegetable in Bangladesh. *Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(5): 2264-2269.

Hemalatha, S., Wahi, AK., Singh, PN., Chansouria, JPN. (2010). Evaluation of antihyperglycemic and free radical scavenging activity of *Melothriamaderaspatana* Linn. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 4: 817-822.

Hinson, JA., Roberts, DW., James, LP. (2010). Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handbook of experimental pharmacology*, 196: 369-405.

Références bibliographiques

I

Irulandi, K., Geetha, S., Mehalingam, P. (2016). Antioxidant, antimicrobial activities and phytochemical analysis of leaves extracts of *Dioscorea wallihii* Hook. F. 6 (11). 70-74.

K

Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, BC., Altnordulu, S., Atasever, A.

(2009). The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice.

Experimental and Toxicologic Pathology, 61: 123-132.

Koechlin, C., Ramonatxo. (2006). Oxygène, oxygen, oxidative stresse and anti oxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Metabolisme, France* (20) :165.

Kova'cs, A., Forgo, P., Zupko, I., la Re'thy, B., Falkay, G., Szabo', P., Hohmann, J. (2007). Phenanthrenes and a dihydrophenanthrene from *Tamus communis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry* 68 : 687-691.

Kupferschmidt, H. (2004). Traitement de l'intoxication au paracetamol. *Tox* .(9) :30.

M

Macro, R., Barros, L., Carvalho, AM., Ferreira, ICFR. (2011). Topical anti – inflammatory plant species: bioactivity of bryonia dioica, *Tamus communis* and *Lonicera periclymenum* fruits. *Food Chem* (125) :4-7.

Martini, MC. (2003). Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. Ed. Médicals internationales .331.

Mette, M., berger. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant état des connaissances . *Nutrition clinique et métabolisme* (20) :49.

Meister, A., Anderson, ME. (1983). Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52:711-760.

Mitchell, SJ., Kane, AE., Hilmer, SN. (2011). Age-related changes in the hepatic pharmacology and toxicology of paracetamol. *Current Gerontology and Geriatrics Research*, 4:1-14.

Mohan, VR., Rajalakshmi, K. (2013). In vitro antioxidant activity of *Dioscorea Tomentosa* Koen ex. Spreng. *PHARMACEUTICAL SCIENCES*. 4: 3769-3770.

Références bibliographiques

O

Okhawa, H., Ochishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Biochemistry*; 95,351-358.

Omar, NAA., Allithy, A, Baghdadi, H., Zolaly, M., Abdel-haleem, M., Helmy, MM., Ayat, MMA., El Sayed, SM. (2016). Hepatoprotective Effects by propolis against Doxorubicin-induced Rat Liver Toxicity: *A Biochemical and Histopathological Study. American Journal of Cancer Prevention* ; 4(3) : 36-40

P

Pastre, JOC. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des Carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*.p120.

Pinecemail, J., Karine, B., Karine, C., Jean-Olivier, D. (2002). Mécanismes Physiologiques de la défense Antioxydante. *Physiological Action of Antioxydant Defences. Nutritio Clinique et métabolisme*. 16(6) :233-239.

R

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*. 26 (9/1): 01231–1237.

Reid, AB., Kurten, RC., McCullough, SS., Brock, RW., Hinson, JA. (2005). Mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity: Role of oxidative stress and mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 312(2): 509- 516.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Notion générales sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. PP :1-27.

S

Schmidt, RJ., Moul, SP. (1983). The dermatitic properties of black bryony (*Tamus communis* L.). *Contact Dermatitis* 9, 390-396.

Shahen, F., Ali, L., ALI, S., Erdemoglu, N., Sener, B. (2009). Antioxydant Flavonoides from *Tamus communis* ssp. *cretica*. *Chemistry of Natural compounds*, 3(45):346.

Références bibliographiques

T

Talbi, H., Boumaza, KM., Talbi, J., Hilalai A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Mate-Environ. Sciences*, 6 (4): 1111-1117.

V

Valko, M., Rhodes, Cl., Moncol, I., Izakovic, M., Mazur, m (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006, 160, 1-40.

W

Walaa, G., Hozayen, HS., AbouSeif, SA. (2014). Protective effects of rutin and / or hesperidine against Doxorubicin-Induced hépatotoxicity. *International Journal of clinical nutrition*, 2(1): 11-17.

Walker, JEM., Saraste, MJ., Runswick., Gay, NJ. (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 (8): 945-51.

Wong, CC., Li, HB., Cheng, KW., Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry* .(97):705-711.

Z

Zerargui, F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. Thèse Doctora en science, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas Sétif. P52-53.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). Research on antioxidant activity of flavonoids from natural materials. *Food Chemistry*. 64: 555-559.

Glossaire

Antalgique : est un médicament utilisé en médecine dans le traitement de la douleur.

Antioxydant : Lutte contre le stress oxydatif, protège la cellule d'une oxydation par les radicaux libres et empêche l'altération des composés organiques.

Antipyrétique: Un antipyrétique est un médicament utilisé dans le traitement de la fièvre. De nombreuses molécules ont des effets antipyrétiques parmi lesquelles le Paracétamol.

Apoptose : est le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire.

Cathartique : Relatif à la catharsis qui produit une action purificatrice libératrice.

Céruleoplasmine : est une protéine de transport du cuivre dans le sang, d'origine hépatique (fabriquée par le foie).

Diurétique : est une qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension portale ou l'hyperkaliémie.

Ferritine : est une protéine permettant le stockage du fer. Elle joue un rôle clé dans le métabolisme, permettant de réguler l'absorption intestinale de fer en fonction de besoins de l'organisme.

Hématome : est un amas de sang apparaissant à l'intérieur d'un tissu après une hémorragie survenue à la suite d'un choc. Il peut entraîner un décollement et gonflement de la peau.

Hépatotoxicité : est considérée comme le pouvoir qu'a une substance de provoquer des dommages au foie; cela intervient généralement à la suite de la prise de médicaments.

IC50 : Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante. **Phénols** : Ce sont des composés chimiques aromatiques portant une fonction hydroxyle – OH. Les dérivés portant plusieurs fonctions hydroxyle sont appelés des polyphénols.

Redox : est une réaction chimique au cours de laquelle se produit un transfert d'électron, l'espèce chimique qui capte les électrons est appelée « oxydant » ; celle qui les cède « réducteur »

Transferrine : est une protéine sérique de type beta globuline, synthétisée par le foie, elle constituée d'une chaîne polypeptidique porteuses de trois sites de captation de fer.

Glossaire

Annexes

Annexe 01 : Préparation des solutions et réactifs

a) -Dosage des polyphénols totaux

- Folin-ciocalteu à 10% : 10ml du réactif de folin –ciocalteu dans une fiole jaugée de 100ml et compléter au traits de jauge avec l'eau distillée.
- Na_2CO_3 à 7,5% : 7,5 g dans 100 ml d'eau distillée

b) -Dosage des flavonoïdes

- Trichlorure d'aluminium à 2% : 2g d' AlCl_3 dans 100ml d'eau distillée.

C)-Le radical DPPH

- Solution de DPPH à 0,1Mm : 0,008 g DPPH dissout dans 200 ml éthanol.

d) -Le radical ABTs

Pour la Solution d'ABTs à 7Mm : dissoudre 72 mg d'ABTs dans 20 ml d'eau distillée, avec l'agitation, ajouté 13,24 mg de persulfate de potassium, bien agiter puis incuber 12 à 16h à T° ambiante et à l'obscurité puis placer au réfrigérateur pour stopper la réaction.

Annexe 2 : Différents appareillages et Produits chimiques utilisés

Tableau : Les différents appareils et produits chimiques utilisés

Les Appareillages et matériels	Produits chimiques
Agitateur	-Butyl Hydroxy Anisole (BHA) ;
Barreau magnétique Béchers	- Eau distillé(H ₂ O _D) ;
Broyeur électrique	-Acide trichloracétique(TCA) ;
Cuve	-Chlorure de sodium (NaCl)
Papier aluminium.	-Diphénilepicryl-hydrazyle(DPPH) ;
Papier absorbant	-Ethanol
Papier filtre Wattman	-Poudre d'ABTS pour préparer la Solution de
Papier fils	l'ABTS+ ; -Tampon phosphate ; -Trolox.
Spectrophotomètre UV visible	-Quercétine
Tamiseur	-Folin Ciocalteu
Les Tubes	-acide galique
Erlenmeyer	-acide ascorbique
Distillateurs	-TCA
Étuve	-TBA
La balance	
La haute	
Micropipettes (1000,200ul)	
Les ambos	
Centrifugeuse	

Annexe 03 : Les courbes d'étalonnages.

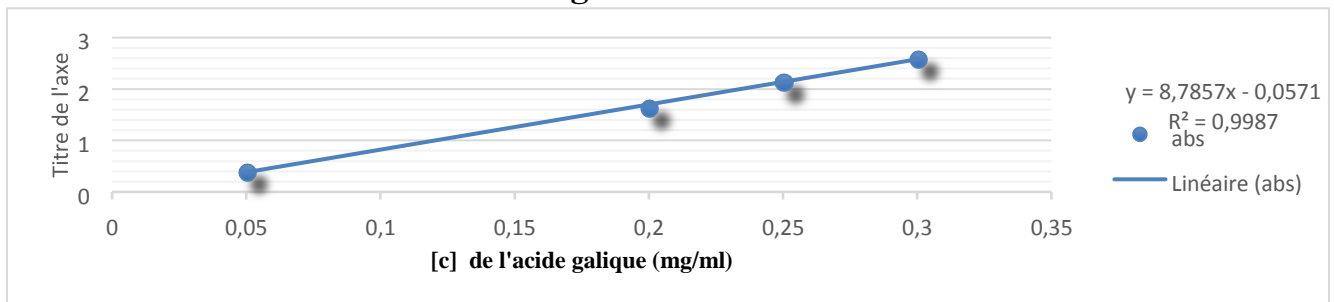


Figure 1 : courbe d'étalonnages des polyphénols totaux.

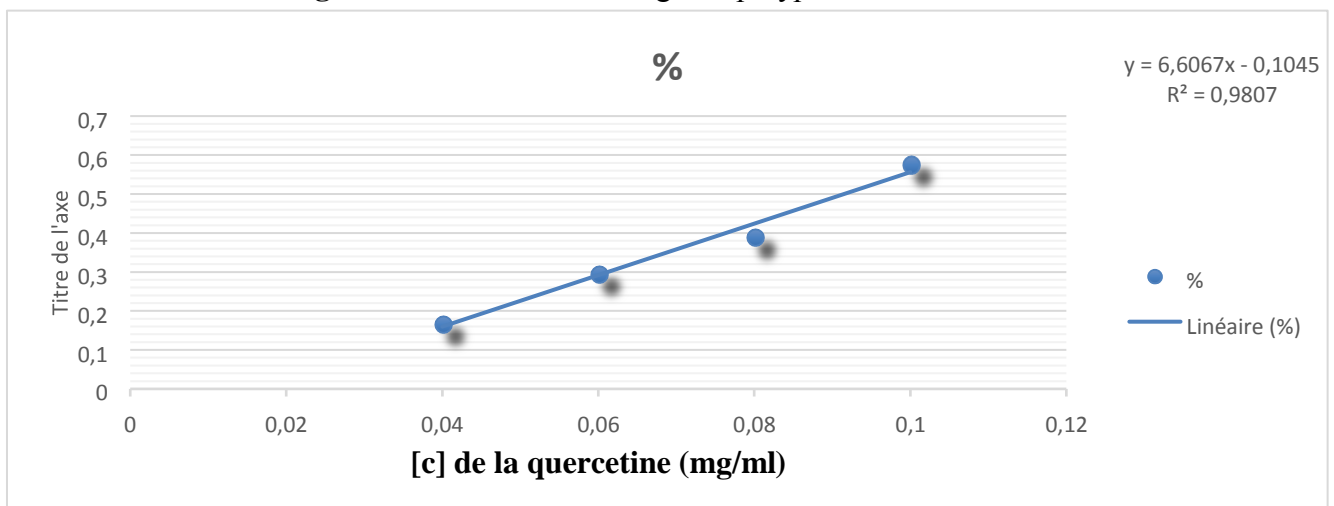


Figure 2 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

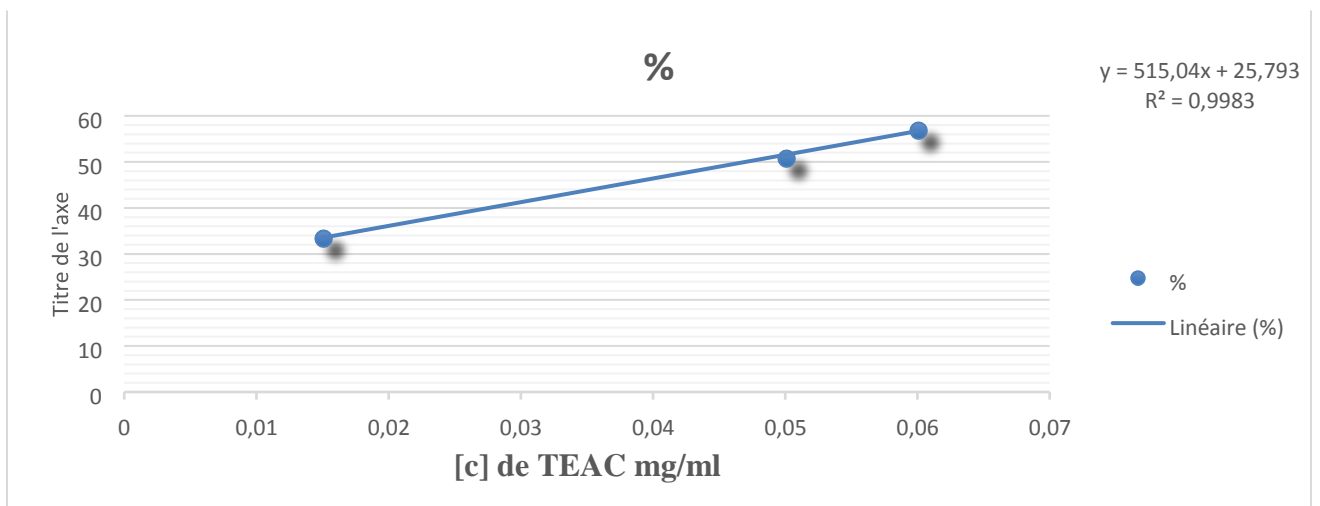


Figure 3 : courbe d'étalonnage de l'ABTs.

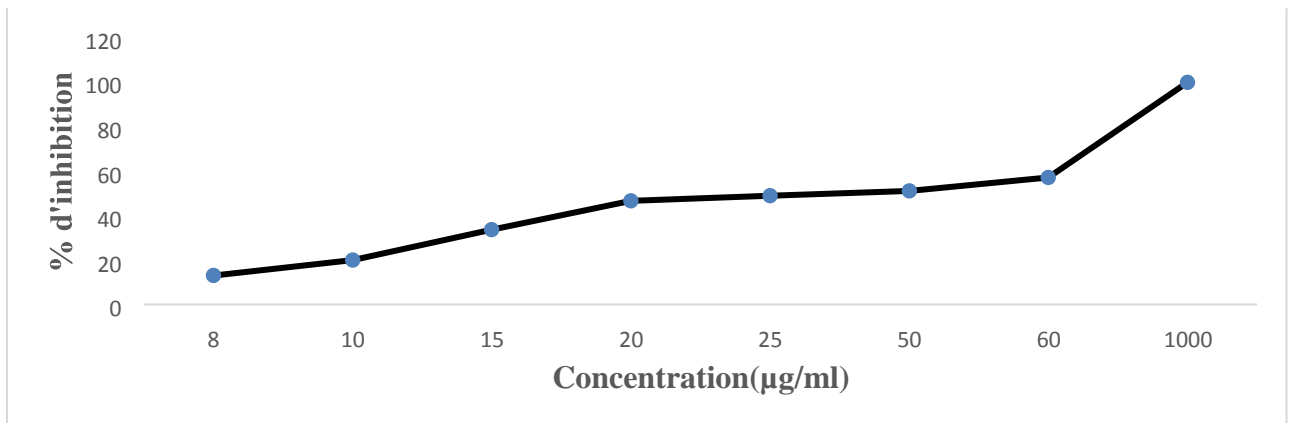


Figure 4 : activité scavenging du radical ABTS à différentes concentrations de standard.

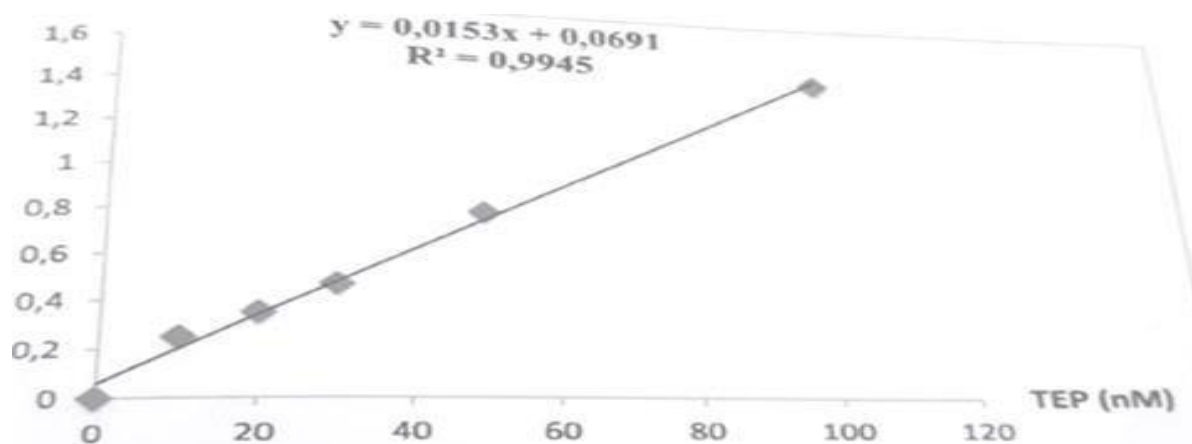


Figure 5 : Courbe étalon de MDA (TEP comme standard).

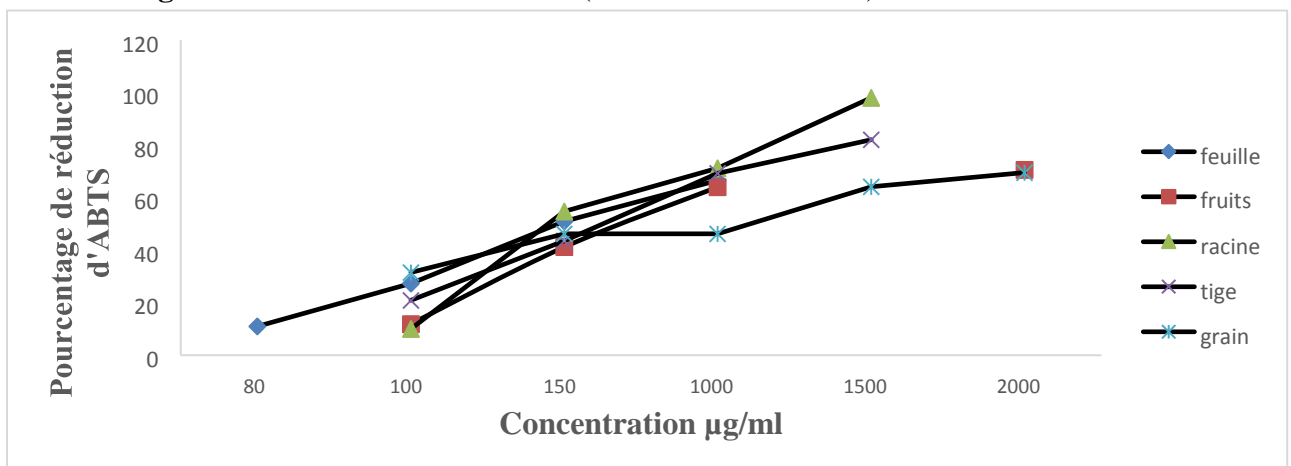


Figure 6 : Activité scavenging du radical ABTS·+ à différentes concentrations des extraits éthanolique de *Tamus communis*.

Annexe 04 : Etude statistique

Test LSD; variable RED (new.sta)						
MANOVA GENERALE		Groupes homogènes, alpha = ,05 EFFET PRINC.:PARTIE				
PARTIE	Moy.	1	2	3	4	5
graine {5}	6,96000	xxxx				
tige {3}	15,34000		xxxx			
racine {4}	16,10000			xxxx		
feuille {1}	28,17000				xxxx	
fruit {2}	31,57667					xxxx

Test LSD; variable POLYPH (new.sta)						
MANOVA GENERALE		Groupes homogènes, alpha = ,05 EFFET PRINC.:PARTIE				
PARTIE	Moy.	1	2	3	4	5
graine {5}	3,49554	xxxx				
tige {3}	8,11678		xxxx			
racine {4}	10,20497			xxxx		
fruit {2}	14,47415				xxxx	
feuille {1}	18,81643					xxxx

Test LSD; variable FLAVN (new.sta)							
Suite...		Groupes homogènes, alpha = ,05 EFFET PRINC.:PARTIE					
PARTIE	Moy.	1	2	3	4	5	6
AAS {7}	0,00000	xxxx					
BHA {6}	0,00000		xxxx				
graine {5}	2,84733			xxxx			
racine {4}	8,26267				xxxx		
tige {3}	8,47067				xxxx		
fruit {2}	23,66333					xxxx	
feuille {1}	32,00800						xxxx

Test LSD; variable DPPH (new.sta)							
MANOVA GENERALE		Groupes homogènes, alpha = ,05 EFFET PRINC.:PARTIE					
PARTIE	Moy.	1	2	3	4	5	6
BHA {6}	0,0000	xxxx					
AAS {7}	0,0000		xxxx				
racine {4}	50,3800			xxxx			
tige {3}	82,9167				xxxx		
fruit {2}	84,2300				xxxx		
feuille {1}	164,8700					xxxx	
graine {5}	480,2700						xxxx

Test LSD; variable ABTS (new.sta)						
Suite...		Groupes homogènes, alpha = ,05 EFFET PRINC.:PARTIE				
PARTIE	Moy.	1	2	3	4	5
graine {4}	3,49233	xxxx				
tige {2}	11,93533		xxxx			
racine {3}	12,91400			xxxx		
feuille {5}	21,19000				xxxx	
fruit {1}	22,78467					xxxx

Résumé

Tamus communis est une plante connue en médecine traditionnelle, elle a été utilisée pour ses vertus thérapeutiques depuis l'antiquité. Une partie de ce travail a été consacrée à l'étude phytochimique des polyphénols et flavonoïdes de cette espèce. Les extraits éthanoliques ont été obtenus par macération, le rendement le plus élevé a été obtenu avec les fruits (32%). Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes a révélé que les deux extraits éthanoliques de feuilles et fruits ont présenté les taux les plus élevés en phénols totaux avec des teneurs de 18.81 et 14.4 7mg EAG/g MS respectivement, et en flavonoïdes avec des valeurs de 113.54 et 74.94 mg EQ/g MS respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* et *in vivo*. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de racines a exercé l'activité antiradicalaire la plus puissante contre le DPPH avec une IC50 de $49.51 \pm 2,28$, et contre l'ABTS avec une IC50 de $83.88 \pm 0.97 \mu\text{g/ml}$. L'étude *in vivo* à viser l'évaluation de l'effet hépatoprotecteur de l'extrait éthanolique de fruits de *Tamus communis* contre une intoxication induite par le paracétamol chez des souris BALB/C. Il a été montré que le paracétamol augmente significativement les valeurs sériques d'ASAT et ALAT ainsi que le taux hépatique du MDA, comparativement au groupe témoins.

Mot clé : *Tamus communis*, polyphénols, antioxydant, paracétamol, hépatoprotecteur.

Abstract

Tamus communis is a plant used and recognized for its therapeutic virtues since antiquity in traditional medicine. Thus, this work concerns a qualitative and quantitative phytochemic study of polyphenols and flavonoïdes. The extracts ethanolic were obtained by maceration gave the highest output 32% for the fruits. The proportioning of total phenols and the flavonoïdes revealed that the two extracts ethanolic of sheet and fruit have the highest total phenol rates with Contents of 18.81 and 14.4 7mg EAG/g ms respectively, and in flavonoïdes with the content of 113.54 and 74.94 Mg antioxidant EQ/g MS. L' activity was to evaluate by using deus methods deferent *in vitro*: the method (DPPH and ABTs), the results showed that the root and fruits carry on the anti-activity radicalizing most powerful (IC 50= $49.51 \pm 2,28$), ($83.88 \pm 0.97 \mu\text{g/ml}$), respictevement, equivalent of standads (C 1.76% saw, BHA 2.16% $\mu\text{g/ml}$). The study *in vivo* relates to the ethanolic evaluation of the hepatoprotector effect of the fruit extract of *tamus communis* (Dioscoréaceae) against an intoxication induced by paracetamol in mice BALB/C. It was shown that paracetamol significantly increases the serum values of ASAT and ALAT as well as the hepatic rate of the MDA, compared to the group conveys.

Keyword : *Tamus communis*, polyphenols, antioxydant, paraceatmol, hepatoprotector

التلخيص

هو نبات يستخدم معترف به لفضائله العلاجية منذ العصور القديمة في الطب التقليدي. وبالتالي، يركز هذا العمل على دراسة نوعية وكمية من البوليفينول الكيمياء النباتي وفلافونيدات. ومقتطفات الإيثانول تم الحصول عليها عن طريق النقع أعطى أعلى عائد 32% للفاكهة. ووجد تقرير من إجمالي الفينولات والفلافونيدات أن كلا مقتطفات الإيثانول من الأوراق والثمار تحتوي على التوالي، وفلافونيدات مع DM ز / mg EAG على أعلى مستويات من إجمالي الفينول مع صناع 18.81 و 14.4 7 المختبر طرق : defferents كان النشاط المضاد للأكسدة تقييم باستخدام ديوس. 74.94 و 113.54 mg EQ / g MS محتوى 74.94 و 113.54 mg EQ / g MS. L'activité was to evaluate by using deus methods deferent *in vitro*: the method (DPPH و ABTS)، respictevement. equivalent من standads (1.76% ج BHA 2.16% / $\mu\text{g/ml}$)، ($83.88 \pm 0.97 \mu\text{g/ml}$)، (49.51 ± 2.28) (IC 50 = 49.51 ± 2.28) وأظهرت النتائج أن الجذر والثمار تمارس النشاط الكسح الراديكالي أقوى، (DPPH و ABTS) طريقة الكرمة السوداء) ديسفورية (ضد COMMUNIS مل. (والدراسة المجرة تتعلق بتقييم الأثر كبد لاستخراج الإيثانول الفاكهة من AST وقد تبين أن عقار اسيتامينوفين زيادة كبيرة في القيم مصل BALB / C. التسمم الناجم عن اسيتامينوفين في الفئران مقارنة مع مجموعة مركبة MDA. والكبد ALT ومستويات.

الكلمة المفتاحية: *Tamus communis*، مضادات الأكسدة، بوليفينول، الكرمة السوداء، paraceatmol، كبد.