

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI – Laghouat –

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine : Sciences De La Nature Et De La Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biochimie Appliquée**

*Thème*

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante de  
la plante *Asphodelus Microcarpus***

**Présenté par :**

***Kouidri Fatiha***

***Loubachria Oumelkheir***

<b><i>M. Boukerouis Djoudi</i></b>	<b>MA</b>	<b><i>Univ. de laghouat</i></b>	<b><i>Président</i></b>
<b><i>M. Berramdane Tayeb</i></b>	<b>MA</b>	<b><i>Univ. de laghouat</i></b>	<b><i>Promoteur</i></b>
<b><i>Mme. Boussoussa Hadjer</i></b>	<b>MA</b>	<b><i>Univ. de laghouat</i></b>	<b><i>Co-promotrice</i></b>
<b><i>Mme. Nebeg Halima</i></b>	<b>MA</b>	<b><i>Univ. de laghouat</i></b>	<b><i>Examinatrice</i></b>

**Année universitaire : 2019/2020**

## Résumé

Ce travail a consisté , à extraire et à quantifier les composés phénoliques totaux contenus dans les racines *Asphodelus microcarpus* de et évaluer leur activité antioxydant .

La méthode d'extractions utilisés :macération par les solutions

(Acétone ;DCM ;ethanol ;methanol) donnant les rendements6%;17,5% ; ;10,4% 27% respectivement .

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux par méthode Folin –ciocalteu a montré que l'extrait (MÉOH) est le plus riche en ces composés .

Les résultatsde l'activité antioxydant ont indiqué que l'extrait(MÉOH) présente une activité antiradicalaire plus élevé que celle des autres extraits.

**Mots-clés :** *Asphodelus microcarpus*, Extraits naturels, composés phénoliques, flavonoïdes, , activité antioxydante.

## Abstract

The present work consisted in studing the extraction and the quantification of composes phenolics totaux contained in *Asphodelus microcarpus* racins and evaluating their antioxidant activity .

The extraction method used ;maceration (Aceton ;DCM; ethanol :methanol) have yields 6% ,17,5%;10,4%and27%respectively.

The quantitative assays of total polyphenols by the folin-ciocalteu results showed that extract (MeOH)is most richer in these compounds.

Results of antioxidant indiquated that extract obtained by extraction( MeOH) showed antiradical activity higher than the others extracts

**Keywords:** *Asphodelus microcarpus*, phenolic natural, compound Extracts, DPPH, antioxidant activity.

## ملخص

يتضمن هذا العمل استخلاص ومعايرة المركبات الفينولية الكاملة المحتواة في جذور نبات *Asphodelus microcarpus* وكذا تقييم نشاطها المضاد للاكسدة. بينت النتائج استخلاص الفينولات بطريقة النقع في محاليل التالية: *Ethanol*, *Methanol*, *DCM*; *acetate* ان مردود كل منها % 10,4; 27%; 17,5%; 6% اوضحت نتائج التقييم الكمي للمركبات الفينولية بواسطة *foilin ciacalia* ان مستخلص ميثانول هو اكثر وفرة للفيتولات في هذا النبات *Asphodelus microcarpus* وكشفت النتائج التشايط المضاد للاكسدة ان مسنخلص ميثانول يملك اعلى تشبييط للجذور الحرة مقارنة بالمستخلصات الاخرى

**الكلمات الدالة (الكلمات المفتاحية):** (*Asphodelus microcarpus*)، النشاط المضاد للاكسدة، المركبات الفينولية، فلافونودية.



# Dédicace

Avant tout, je remercie Dieu qui a illuminé mon chemin et qui m'a armé de courage pour achever mes études

Je dédie le fruit de ce modeste travail :

A ma chère maman :

Tu es pour moi un tout et un bijou au qu'elle j'attache un précieux prix en vertu ton affection digne d'une mère résolue acquise.

A mon père ;

Ce travail est le fruit de tes sacrifices ton éducation, tes confort moral et matériel que tu m'a apporté.

A mes chers frères : Loufa, mohamed.

En témoignage de mon amour et de ma profonde admiration que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie .et feu frères selaimane et tayab, qui n'as pu voir ce que je suis devenue.

A mes chères sœurs : Fatna, Hayat et spécialement à ma petite sœur

Rokai Qui m'a soutenue dans les moments les plus durs je ne la remerciais jamais assez.

A ma grande mère

À toute la famille Kouidri, Houcini.

A mes chères copines et confidentes Amel.H, mebarka.B, souad.B, Soumia.R, Fatima.T, Avec qui j'ai partagé une tranche de ma vie .

A mes chères amies :

Aicha.B, Safia.B, fatoum.DJ, Nora.N, Djemaa.H, Amel.B avec qui j'ai partage des moments inoubliables voyant naitre cet œuvre.

A tous mes collègues de la promotion 2020 ; spécialement mon binôme Oumelkheir

Tous mes enseignants tout au long de mes études.

*Fatiha*



# Dédicace

À mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné  
un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils  
trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour

Je dédie ce travail aussi :

À mon mari Ismail et ma petite fille Insaf

À mes sœurs : Fatima Zohra et Nacira.

À mes frères : Tidjani, Toufik, Hadj Aissa, Omar, Abdelkader.

À tous mes collègues et amies spéciales : Khaoula, Aïcha .

À mon binôme Fatiha

À toute la famille

À tous ces personnes et à celles que j'ai oubliées j'adresse mes sentiments les  
plus chaleureux.

*Oumelkheir*



## *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la patience. La santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également à nos parents pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour nous permettre de suivre nos études dans les meilleures conditions Possibles au long de mes années d'étude.*

Louange à Dieu le tout puissant, le tout Miséricordieux, de nous avoir guidé vers le bon chemin, de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour terminer ce travail.

En premier lieu, nous exprimons notre profonde gratitude et nos plus vifs remerciements à nos encadreurs, **M<sup>r</sup>. Ben Ramdane Taieb**, Maitre-assistant à l'université de Laghouat, responsable de cette étude,. Nous sommes très honorés d'avoir pu bénéficier de leur encadrement.

Nous remercions sincèrement **M<sup>lle</sup> Bossoussa Hadjer**, pour leur précieuse aide en matière de détermination, leur disponibilité et leur gentilles

*Nos vifs remerciements vont à l'adresse de tous les membres du jury **M.***

***Boukerouis.D** pour avoir accepté de lire et de critiquer le présent travail*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements au chef de département de biologie pour son bonne humeur, son aide et ses encouragements.*

*Nous ne saurions oublier tous nos collègues de biochimie appliqué p romotion 2020.*



## Sommaire :

<b>Introduction générale</b>	2
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>I. Les plantes médicinales</b>	4
<b>I.1. Généralités</b>	4
<b>I.2. Aperçus sur les principes actifs des plantes médicinales</b>	4
<b>II. Les composés phénoliques</b>	5
<b>II.1. Définition</b>	5
<b>II.2. Les principales classes de composés phénoliques</b>	5
<b>II.3. Importance thérapeutique des composés phénoliques</b>	6
<b>III. Evaluation de l'activité antioxydante</b>	6
<b>III.1. Généralités</b>	6
<b>III.2. Les radicaux libres</b>	6
<b>III.3. Rôle des radicaux libres dans l'organisme</b>	7
<b>III.4. Définition du stress oxydant</b>	7
<b>III.5. Origine du stress oxydant</b>	7
<b>III.6. Les antioxydants synthétiques et naturels</b>	8
<b>III.7. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante</b>	8
<b>Matériels et méthodes</b>	
<b>I. Matériel végétal</b>	10
<b>II. Préparation des extraits</b>	10
<b>II.1. Prétraitement de l'échantillon</b>	10
<b>II.2. Extraction</b>	10
<b>II.2.1. Extraction solide liquide</b>	10
<b>II.2.2. Mode opératoire</b>	10
<b>III. Quantification des composés phénoliques et flavonoïdes</b>	13
<b>III.1. Dosage des phénols totaux</b>	13
<b>III.1.1. Principe</b>	13
<b>III.1.2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique</b>	13
<b>III.1.3. Mise en œuvre du dosage</b>	14
<b>III.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux</b>	14
<b>IV. Test DPPH</b>	14
<b>IV.1. Principe de la méthode</b>	14
<b>IV.2. Le protocole expérimental</b>	15
<b>Résultats et discussions</b>	
<b>I. Extractions et analyse phytochimique</b>	17
<b>I.1. Rendement des extractions</b>	17
<b>I.2. Dosage des phénols totaux</b>	18
<b>I.3. Teneur en flavonoïdes</b>	19
<b>II. Résultats du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH</b>	20
<b>Conclusion générale</b>	24
<b>Les références bibliographiques</b>	25
<b>Annexes</b>	31

**Liste des tableaux :**

<b>Tableau 1 :</b> Les activités biologiques de quelques métabolites secondaire	4
<b>Tableau 2 :</b> Principales classes des composés phénoliques	5
<b>Tableau 3 :</b> rendement, l'aspect et la couleur des extraits obtenus à partir de l'extraction : (solide-liquide)	17
<b>Tableau 4 :</b> Teneurs en phénols totaux des différents extraits de la plante étudiée	18
<b>Tableau 5 :</b> teneur en flavonoïdes des extraits des plantes	19
<b>Tableau 6 :</b> Les valeurs d'EC <sub>50</sub> en (µg/ml) des différents extraits de la plante investiguée et antioxydants standards	21

**Liste des figures :**

<b>Figure 1 :</b> Photo de la plante <i>Asphodelus microcarpus</i>	10
<b>Figure 2 :</b> Organigramme résumant les différentes étapes de l'extraction solide -liquide	12
<b>Figure 3 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	13
<b>Figure 4 :</b> Courbe d'étalonnage de quercitine	14
<b>Figure 5 :</b> Photo montrant la couleur des extraits obtenus.	17
<b>Figure 6 :</b> Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le tableau.	19
<b>Figure 7 :</b> courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration en antioxydants standards choisis pour l'étude.	20
<b>Figure 8 :</b> les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition PI% en fonction de la concentration en phénols des extraits d'Ac, d'DCM et de MOH	21
<b>Figure 9 :</b> Classement décroissant des extraits phénoliques de plante étudiée selon leurs EC <sub>50</sub> .	22

### Liste des Abréviations

ABTS : 2,2'-azino-di-3-ethylbenzthiazoline sulfonate

BHA : Butylate hydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluene

TBHQ : le tributylhydroquinone

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EC<sub>50</sub> : Efficience concentration

EOR : Espèces réactives à l'oxygène

H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub> : Acide phosphotungstique

H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> : Acide phosphomolybdique

AlCl<sub>3</sub> : trichlorure d'aluminium

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

GAE : Gallic acid equivalent

h : Heure

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène

LDL : Low density of lipoproteins

nm : Nanometre

O<sub>2</sub><sup>-</sup> : L'anion superoxyde

OH<sup>•</sup> : Une radical hydroxyle

ORAC : Oxygen Radical absorbance capacity

SOD : superoxyde dismutase

UV : Ultraviolet

ML : Micro litre

μM : Micro molaire

# **Introduction**

## **Générale**

## Introduction Générale

Depuis les temps les plus reculés. L'homme a utilisé les plantes, d'abord pour se nourrir puis, pour se soigner. Après de nombreux tâtonnements successifs au cours des siècles, une première distinction a pu être faite entre plantes comestibles et plantes toxiques. Au cours du temps, d'autres constatations ont permis de sélectionner des plantes pour soigner des maladies. Les connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle des médicaments. Jusqu'au début du XX<sup>ème</sup> siècle, presque tous les médicaments étaient d'origine végétale (**Mekkiou, 2005**).

Le continent Africain est un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde. L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (**Aberkane, 2006**).

Les substances naturelles, douées d'activité antioxydants, présentent un intérêt socioéconomique peut être sans équivoque dans le domaine de la recherche bio pharmacologique. Plusieurs laboratoires à travers le monde se sont orientés vers ce type de recherche des substances bioactives et leur valorisation (**Meziti, 2009**).

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à reproduire des Substances naturelles très diversifiées. En effet, à-côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques trèsvariés (alcaloïdes, terpènes, Composés phénoliques...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelque fois atteindre des valeurs élevées (**Macheix et Allemand, 2005**).

La présente étude, est consacrée à la valorisation photochimique d'une plante spontanée de la région de barouaguià *Asphodelus microcarpus*. Le choix de cette plante est basé sur le fait que cette dernière n'est pas connue chez les herboristes dans le traitement de certaines maladies, malgré son utilisation à une échelle très réduite et pour élargir la gamme d'étude sur cette plante.

Dans le cadre de cette étude, les capacités matérielles mises à notre disposition, nous ont permis de mettre en place une stratégie de recherche pour l'étude de l'activité antioxydant de différents extraits de l'espèce *Asphodelus microcarpus*.

Dans ce mémoire, on s'intéresse à la préparation des extraits naturels phénoliques et flavonoides pouvant présenter un intérêt thérapeutique potentiel, puis nous avons contribué au dosage des phénols totaux et flavonoides pour finir nous avons consacré la dernière partie à l'évaluation de l'activité antioxydant de ces extraits en adoptant un test chimique dont le choix c'est finalement fixé sur une analyse mesurant le pouvoir des extraits de balayer le radical stable DPPH'.

Par le présent travail, nous essayerons d'apporter une contribution à la valorisation des ressources végétales par une meilleure connaissance des données phytochimiques relatives à ce patrimoine et la mise en évidence des principes actifs issus du métabolisme secondaire de ces plantes.

# Synthèse bibliographique

## I. Les plantes médicinales

### III.1. Généralités

L'utilisation des plantes aux propriétés thérapeutiques est une pratique aussi ancienne que la civilisation humaine (**Rhayour, 2002**). Les premiers peuples, ont probablement découvert ces propriétés de façon empirique au cours des siècles et à chaque génération, ils ont ainsi accumulé des connaissances sur les plantes médicinales (**Zhiri, 2006**).

Etant donné l'intérêt fulgurant que suscite actuellement l'emploi des plantes médicinales pour combattre les maladies ou préserver la santé, la connaissance de celles-ci et des molécules actives dont elles présentent est aujourd'hui essentielle, et revêt même une importance capitale pour les producteurs agricoles, les économistes, les enseignants, les professionnels de la santé et les responsables de l'industrie pharmaceutique (**Chami, 2005**). Actuellement, ces connaissances continuent de s'accroître dans toutes les régions du monde, par exemple 40% des nouveaux Anticancéreux sont d'origine naturelle ou dérivés de produits naturels (**Taleb-Contini 2003**).

### III.2. Aperçus sur les principes actifs des plantes médicinales

Les propriétés médicinales que possèdent les plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent des protéines, des lipides et des hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même mais encore des animaux qui s'en nourrissent. De plus, les plantes synthétisent une gamme d'autres composés appelés métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui sont une source importante de molécules très utiles tels que ; les alcaloïdes, les terpènes, et les composés phénoliques (**Ganan et al, 2009**) qui ayant des activités biologiques et pharmacologiques très variées (**Meziti, 2009**).

**Tableau 1. Les activités biologiques de quelques métabolites Secondaires**

Les métabolites secondaires	Activités biologiques	Références
Alcaloïdes	Antitumoral antileucémique antispasmodiques antisécrétrices anticancéreuse antiparasitaires	<b>Hesse, 2002</b> <b>Dewick, 2001</b> <b>Bhat , 2005</b> <b>Katoh , 2004</b>
Huiles essentielles	Antiseptiques anti-inflammatoires antivirales antifongiques antitoxiques	<b>Nicolas, 1991</b> <b>Mishara et al, 1994</b>
Les terpènes	Antimicrobienne	<b>Langenheim, 1994</b>
Les composés phénoliques	inhibiteurs d'enzymes antioxydants antimicrobiens Antibactérienne anti -inflammatoire Anticoagulant	<b>Dahanukar et al, 2000</b> <b>Van Vuuren, 2008</b> <b>Tachakittirungrod et al, 2007</b> <b>Bruneton, 1999</b> <b>Hennebelle, 2006</b>

## II. Les composés phénoliques

### III.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules Indirectement essentielles à la vie des plantes (dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement (Zeghad, 2009).

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Urquiaga et Leighton, 2000). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques Simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al, 2005). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Urquiaga et Leighton, 2000).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et al, 2005).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet Protecteur contre l'apparition de certains cancers...) (Macheix et al, 2005).

### III.2. Les principales classes de composés phénoliques

Les composés phénoliques, sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans leur squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (Bruneton, 1999). Les différentes classes de ces composés phénoliques, et les plantes qui les renferment sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 2. Principales classes des composés phénoliques

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples
6	C <sub>6</sub>	Phénols Simples	Cathécol, hydroquinone
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols Benzoïques	Acide gallique, Acide salysalique, vanilline
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénone	3-acétyl-6-Méthoxybenzaldehyde
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides phénols Cinnamiques	Acide coumarique, Acide caféique
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphtoquinones	Shikonine
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Bellidifoline, mangocétine
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stiblènes	Hydrangéol, Pinosylvine
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoïde
18	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Lignanes	Matairésinol
30	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone
N	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitans

Source : Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006

### III.3.Importance thérapeutique des composés phénoliques

Les polyphénols, jouent un grand rôle dans la quantité, nutritive et hygiénique des aliments certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines (avec lesquelles les tanins se combinent), ... etc.

Les décès dus au infarctus du myocarde ou par athérosclérose coronarienne sont à associés au taux élevé des cholestérols du type LDL (LOW density Lipoproteins) circulant dans le sang. Des études ont démontré qu'une consommation importante d'antioxydants phénoliques (vitamine E, queucétine ...) pouvait être corrélée avec une baisse significative des décès par athérosclérose, en diminuant l'oxydation des LDL (**Frankel et al, 1995**).

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumons, peau, vessie,...etc) à tous les stades de cancérogénèse. Au stade d'initiation, ils agissent comme agent bloquant en empêchant l'activation de pro-carcinogène. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agent suppresseur de tumeurs. Les mécanismes impliqués peuvent la encore être très variés : prévention du stress oxydant, inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose et l'inhibition de l'angiogénèse. Les polyphénols, pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormonodépendantes, telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes (**Scalbert et Williamson, 2000**). Enfin, les composés phénoliques et en particulier, l'acide salicylique (acide hydroxybenzoïque) ont également des propriétés antiseptiques (**Ribereau, 1964**).

### III.Evaluation de l'activité antioxydant

#### III.1.Généralités

Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public (**Favier, 2003**).

Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, R. Gerschman puis D. Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory» pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant la SOD, démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit bel et bien des ERO dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants (**Favier, 2003**).

#### III.2.Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules présentant un ou plusieurs électrons célibataires. Ces électrons célibataires sont les facteurs d'instabilité et de réactivité puisque l'espèce radicalaire a tendance à les apparier en captant d'une autre molécule ou à les céder (**Chami, 2005**).

L'exercice vigoureux accélère la formation de radicaux libres, tout comme l'inflammation, l'exposition à certains produits chimiques, la fumée de cigarette, l'alcool, les situations pathologiques, la pollution ambiante et les diètes riches en matières grasses.

Les ERO sont nombreux, parmi les plus connus sont ; l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyle  $OH$ , les hydroperoxy produit lors de la peroxydation lipidique et le monoxyde d'azote (**Ganan et al, 2009**). Lorsqu'un radical libre interagit avec une autre molécule, lui dérobant de ce fait certaines de ces particules constituantes, un nouveau radical libre est

créé. Ces réactions ont souvent lieu à l'intérieur de la membrane cellulaire ou dans les régions avoisinantes et peuvent endommager les parois intérieures des cellules. Certains radicaux libres ciblent les mitochondries à l'intérieur des cellules et entravent leur capacité à produire de l'énergie, d'autres radicaux libres ciblent plutôt l'ADN et provoquent des mutations qui agissent sur l'expression génique (**Ganan et al, 2009 ; Taleb-Continil et al, 2003**).

### III.3.Rôle des radicaux libres dans l'organisme

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui a part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier, 2003**). à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (**Ardcestani et Yazdanparast, 2007**).

### III.4.Définition du stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents.

Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo, 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma, 1999**).

### III.5.Origine du stress oxydant

Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, les ischémies/reperfusions suivant des thromboses (**Favier, 2003**), le dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale ; l'activation de systèmes enzymatiques ; la libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules (**Pincemail, 2002**).

Les radicaux libres sont produits pendant l'irradiation, par la lumière UV, par rayons X et par les rayons  $\gamma$ , sont des produits des réactions métal-catalysées ; sont présent comme des polluants dans l'atmosphère ; sont produits par des neutrophiles et des macrophages pendant l'inflammation sont des sous-produits des réactions mitochondrie-catalysées de transport d'électron et d'autres mécanismes (**Valko et al, 2006**).

L'ingestion d'alcool est suivie par la formation de radicaux libres, également des antibiotiques, des anticancéreux. L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production des radicaux libres dans l'organisme (**Mohammedi, 2006**). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail, 2002**). Généralement, le stress

oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (**Favier, 2003**).

### **III.6. Les antioxydants synthétiques et naturels**

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées (**Dutta Gupta, 2011**).

La plupart des antioxydants utilisés en alimentation comme le butylhydroxyanisole (BHA) ; (voir annexe), le butylhydroxytoluène (BHT) et le tributylhydroquinone (TBHQ) ; de nature chimique présentent des effets négatifs sur l'organisme contribuant à l'apparition de certaines maladies (**Balasundram et al, 2006**).

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des molécules issues de plantes, qui sont des composantes essentielles des aliments (fruits et légumes) et assurent le bien-être des Hommes (**BhooshanPandey et al, 2009; Rolland, 2004**). Les antioxydants présents dans les plantes médicinales et plus spécifiquement les composés phénoliques, sont bénéfiques à la santé humaine en neutralisant les dommages cellulaires causés par les radicaux libres et les molécules de dioxygène ou de peroxyde (**Sanchez-Moreno et al 1998 ; Louis Léger, 2006**).

Les composés phénoliques peuvent agir par plusieurs manières pour réguler le processus de stress oxydatif : **(I)** par piégeage des espèces réactives de l'oxygène générées en permanence par notre organisme, **(II)** par chélation des métaux de transition et **(III)** par inhibition de quelques enzymes, en particulier les peroxydases (**Croft, 1999**).

### **III.7. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant**

L'activité antioxydante des composés phénoliques provient de leur capacité à donner un électron ou un hydrogène, et de délocaliser un électron impair à l'intérieur de leur structure aromatique. Ils protègent ainsi les molécules biologiques contre l'oxydation.

Les propriétés anti-oxydantes des composés phénoliques *in vitro* peuvent être évaluées grâce à plusieurs méthodes telles que l'ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) qui sert à évaluer la capacité antioxydante d'un aliment, ABTS (le balayage du radical cation 2,2-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl); mesure la capacité réductrice de ce radical stable en présence d'antioxydants.

Récemment, les mesures de l'activité anti-oxydante peuvent être aussi effectuées grâce aux modèles basés sur les cultures cellulaires (**Tri Yuong, 2009 ; Krishnaiah et al, 2010 ; Liu, 2010**).

# **Matériels Et** **Méthodes**

## I. Matériel végétale

La plante étudiée a été récoltée de wilaya Media de la région (barouaguia) durant le mois de mars



**Figure 1 :** Photo illustrant la plante *Asphodelus microcarpus*.

## II. Préparation Des Extraits

### II.1. Prétraitements De L'échantillon

La plante a été séchée à l'ombre. Après le séchage, les racines et les fleurs de la plante sèche obtenue sont réduites en poudre manuellement à l'aide d'un mortier qui présentera un meilleur contact avec les solvants d'extraction ; permettant ainsi d'améliorer le rendement des extractions. Après broyage la poudre est tamisée à la même granulométrie et utilisée pour l'extraction

### II.2. Extraction

Pour qu'une extraction soit optimale et efficace elle doit respecter plusieurs facteurs tels que les propriétés chimiques de soluté (solubilité), le transfert de matière, qui dépend de la taille des particules et de la structure de matériel végétal, le type de solvant choisi et de sa viscosité (mitra, 2003)

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée à froid extraction solide- liquide (figure 2)

#### II.2.1. Extraction solide –liquide

La méthode d'extraction employée ici a été opérée selon la méthode adaptée par (diallo et al, 2004).

Le protocole consiste à des macérations successives dans quatre solvants polarité croissante à savoir dichlorométhane l'acétate d'éthyle et le éthanol et le méthanol

#### II.2.2. Mode opératoire

Une quantité 1 g de poudre précédemment obtenue, est macérée dans 20 ml dichlorométhane pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité.

## Matériels Et Méthodes

L'extrait est filtré Puis le résidu est repris pour une deuxième macération dans un même volume 20ml dichlorométhane pendant 24 h à température ambiante et à l'obscurité.

Le résidu de l'extraction précédente, a été repris pour une seconde macération dans 20ml d'acétate d'éthyle, une troisième macération dans 20 ml méthanol et une dernière macération de 48 h dans chaque solvant avec renouvellement du volume d'extraction

Ceci, nous a permis d'avoir quatre fractions différentes dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol contiennent les composés phénoliques et flavonoïdes peu polaire et polaire

Les extraits organiques ainsi obtenus sont évaporés à sec sous pression réduite à 45 °C. Les extraits ainsi obtenus présentent généralement un aspect visqueux de couleur vert jaune clair et foncé

Les résidus sont solubilisés dans le méthanol et conservés à 4°C jusqu'à l'analyse. Le Protocole est résumé dans la figure 2



**Figure 2 :** Organigramme résumant les différentes étapes de l'extraction solide -liquide

### III. Quantification des composés phénoliques et flavonoïde :

#### III.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux & été effectué par une méthode adaptée selon Singleton et Ross (1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu commercial qui s'avère la plus sensible (Vermerris et Nicholson, 2006).

##### III.1.1. Principe :

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans un extrait en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Le réactif de Folin-Ciocalteu formé d'hétéro-polyacides; un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) de couleur bleu (Ribéreau-Gayon, 1968), absorbant à une longueur d'ondes de 760 nm.

La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux.

Pour quantifier les phénols totaux dans nos extraits une courbe d'étalonnage de l'acide gallique, a été réalisée.

##### III.1.2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

À partir d'une solution étalon d'acide gallique, une gamme étalon de solutions diluées à différentes concentrations a été préparée. 100  $\mu$ l de chaque solution diluée sont mis dans un tube auquel est ajouté 500  $\mu$ l du réactif de folin-Ciocalteu (10 fois diluée). Après deux minutes, 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% (m/v) sont ajoutés, les mélanges ainsi obtenues ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.

L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée par un spectrophotomètre UV-Visible, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance de chaque solution ainsi préparée nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure3).

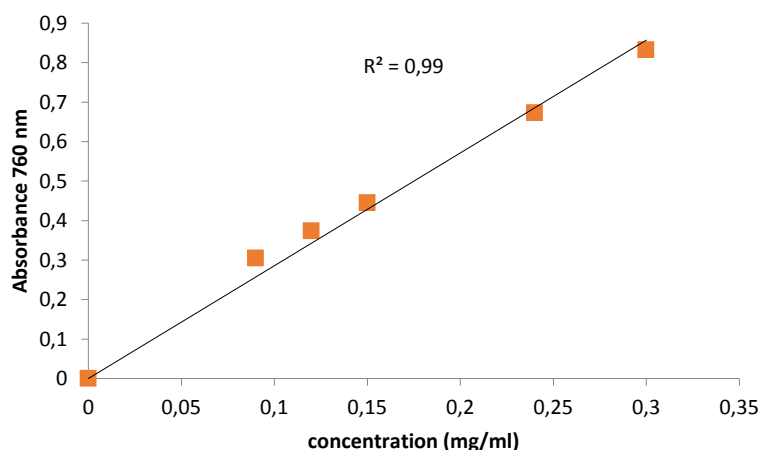


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### III.1.3. Mise en œuvre du dosage :

Pour la quantification des phénols totaux dans nos extraits, nous avons suivi la même procédure décrite précédemment. A noter que les extraits ont été dilués pour obtenir une absorbance finale comprise entre 0,5 et 1.

### III.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

Le protocole consiste à mettre dans un tube à essai 1 mL de chaque extrait *Asphodelus microcarpus* ou du standard (avec dilution convenable) et ajouter 1 mL de la solution d' $AlCl_3$  (2% dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 430 nm (Baghianiet al., 2012).

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est alors exprimée en mg d'équivalente quercitine par g d'extrait (mg EQ/g).

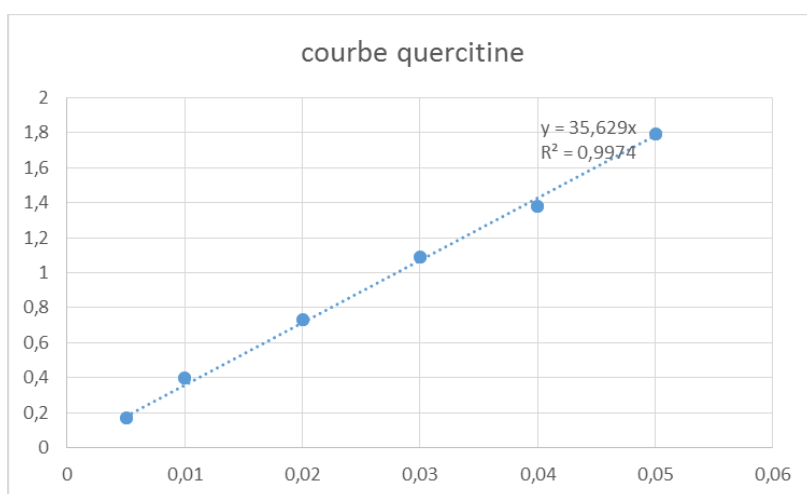


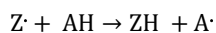
Figure 4 : Courbe d'étalonnage de quercitine.

## IV. Test DPPH

### IV.1. Principe de la méthode

Le Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violette qui absorbe la lumière polarisée à une longueur d'onde maximale qui peut aller de 515 nm à 520 nm (Bondet, 1997; Gomez-Alonso et al; 2003 ; Molyneux, 2004). Il est utilisé dans le but d'estimer l'activité antioxydante d'une substance quelconque

En présence d'une substance donneuse d'atome d'hydrogène, le radical libre (DPPH) prend la forme non radicalaire avec une perte de la coloration violette (Le mélange est de couleur jaune pâle, à cause de la présence du groupement picryl). La réaction de transformation est la suivante :



$Z\cdot$  comme étant le radical libre et AH, la molécule donatrice.

Le radical libre résultant  $A\cdot$  est plus stable ; il peut se convertir en composés non radicalaires.

### IV.2. Le protocole expérimental

## Matériels Et Méthodes

A partir d'une solution mère de chaque échantillon d'extrait à tester, nous avons préparé des dilutions à différentes concentrations croissantes.

Dans un tube à essai 1 ml de chaque dilution est mélangée à 1 ml de la solution de DPPH (250 UM). Le mélange réactionnel a été secoué vigoureuse, puis maintenu à l'obscurité pendant une durée de 30 minutes à une température ambiante.

La mesure de l'absorbance de chaque milieu réactionnel a été à l'aide du même spectrophotomètre UV-Visible à une longueur d'onde de 517 nm contre un blanc.

L'efficacité antioxydante de nos extraits est déterminée ensuite par le calcul du paramètre  $EC_{50}$  «efficient concentration» qui est défini comme étant la concentration en substance qui est à l'origine de la perte de 50% de l'activité du DPPH (la couleur) Ruan et al, 2008). C'est à dire qui représente la concentration d'inhibiteur (antioxydant) nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libre.

Nous avons également, mesure le pouvoir antiradicalaire par la même procédure pour la vitamine C (voir annexe) et le 3-Tertio-butyl-4, hydroxyanisole (BHA) pris comme d'antioxydant de référence a fin de référer l'activité de nos extraits.

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

## I.Extractions et analyse phytochimique

### I.1.Rendement des extractions

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leurs activités biologiques diverses en particulier leur propriétés antioxydante et anti-inflammatoire (Su et al., 2006). Dans la présente étude la méthode d'extraction est été utilisée l'extraction par diffusion à froid

**Tableau 3 :** Le rendement, l'aspect et la couleur des extraits obtenus à partir de l'extraction : (solide-liquide) :

Fraction organique	Couleur et aspects	La masse en (g)	Le rendement en (%)
Acétate	Jaune plus clair	0,0626	6
DCM	Jaune moins clair	0,175	17.5
Ethanol	Jaune clair	0.104	10.4
Méthanol	Jaune	0.27	<u>27</u>

D'après les résultats de l'extraction solide-liquide utilisant des solvants à polarité croissante (Tableau 3), nous pouvons déduire que le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait méthanolique avec (27%) tandis que le plus faible rendement a été remarqué avec l'extrait acétate (6 %).

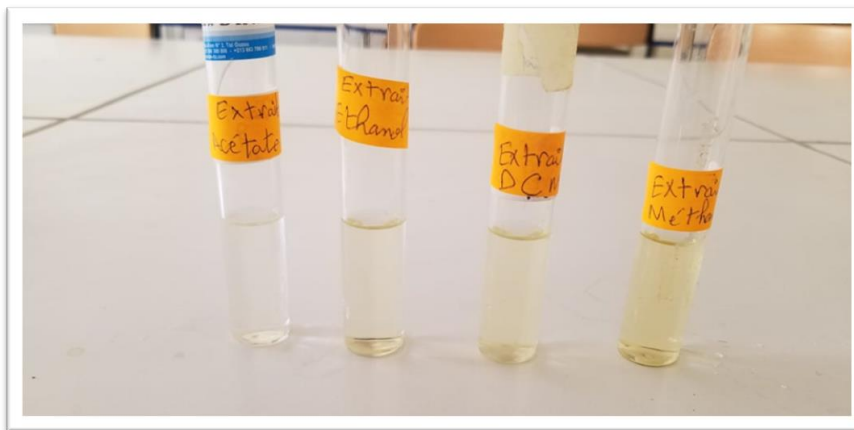


Figure 5 : Photo montrant la couleur des extraits obtenus.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'extrait méthanoïque est quantitativement le plus important. Cela voudrait dire que la plante contient beaucoup de composés solubles dans ce solvant. En témoignant de la coloration des quatre extraits, l'extrait méthanolique est d'un plus jaunâtre par rapport à celui des autres extraits. Cette différence de masse pourrait être due principalement à la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans le solvant utilisé (**Vermerris et Nicholson, 2006**) aussi leur degré de solubilité dans ce dernier et leur degré de glycosylation (**Markham.1982**).

On compare nos résultats concernant le rendement en polyphénols de la plante d'*Asphodelus microcarpus* avec des études qui ont été faites par Mayouf Nozha 2019 où les rendements des extraits méthanolique et aqueuses de la même plante sont 39.29% et 37.4% respectivement. D'après ces données, nous pouvons déduire que dans l'extraction (solide – liquide) Le rendement d'une dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al. 2008, Athamena et al, 2010**)

### I.2. Dosage des phénols totaux

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique précédemment réalisée (Fig3) et exprimée en milligrammes équivalents en acide gallique par gramme de la matière sèche. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Teneur en phénols totaux des différents extraits

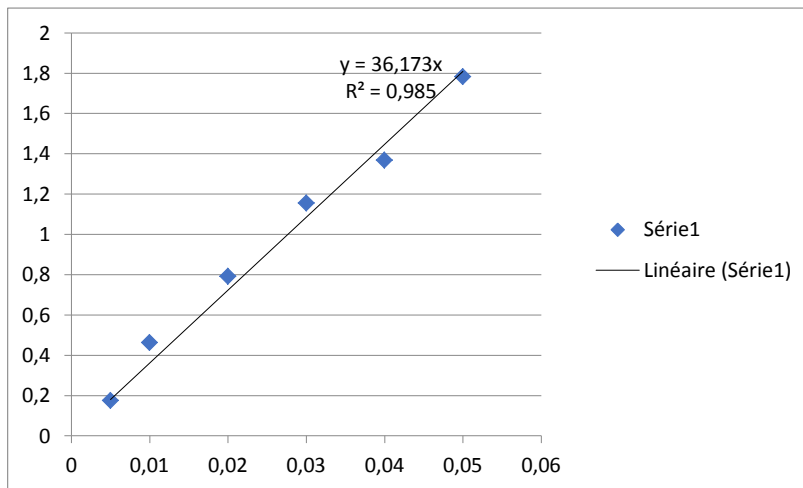
Extrait	C en « mg /GAE/g d'extrait »
Acétate	0.1
DMC	<u>0.13</u>
Ethanol	0.15
MOH	0.13

Dans le tableau ci-dessus, nous constatons que les quantités en polyphénols sont le même dans l'extraits DCM et MOH (0,13 mg GAE/g d'extraits)

La détermination quantitative des composés phénoliques totaux révèle que l'extrait éthanolique est les plus riches en composés phénoliques avec des teneurs de (0,15 mg GAE/g d'extraits).

### I.3.Teneur en flavonoïdes :

Concernant l'estimation de nos extraits en flavonoïdes, les teneurs sont exprimées en mEQ/g d'extrait sec, à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec la Quercitine.



**Figure 6.** Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le tableau.

**Tableau 5 :** teneur en flavonoïdes des extraits des plantes

Extrait	Teneur en flavonoïdes mEQ/g
<i>Acétate</i>	0,006
<i>DCM</i>	0,001
<i>ETHANOL</i>	0,02
<i>MOH</i>	0,01

À la première lecture de ces résultats, on constate que le teneur en flavonoïdes l'extrait Méthanolique possèdent un taux élevé (0,01 mg EQ/g) par rapport à celui de l'extrait éthanol et extraits DCM (0,2 mg EQ/g) (0,001mgEQ/g) de la MS respectivement. Par contre, l'extrait acétate représente la partie la plus pauvre .Selon **Falleh et al. (2008)** et **Terblanche et al. (2017)** une meilleure récupération de polyphénols et de flavonoïdes est obtenue avec le méthanol.

## II. Résultats du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH:

Le pouvoir d'inhibition (PI) de nos extraits vis-à-vis le radical libre DPPH a été exprimé en (%). Le pouvoir d'inhibition est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PI (\%) = [1 - (A \text{ solution échantillon} / A \text{ témoin})] \times 100$$

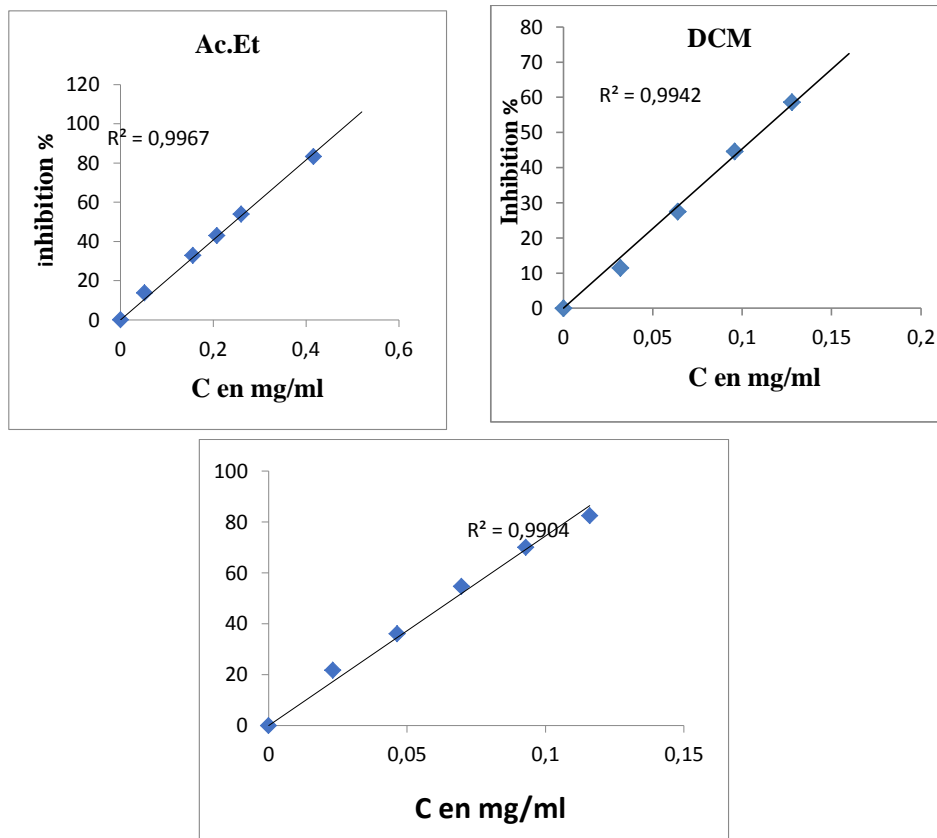
Commentaire [M1]:

Où :

*A Témoin* : L'absorbance de la solution de DPPH seul 517 nm

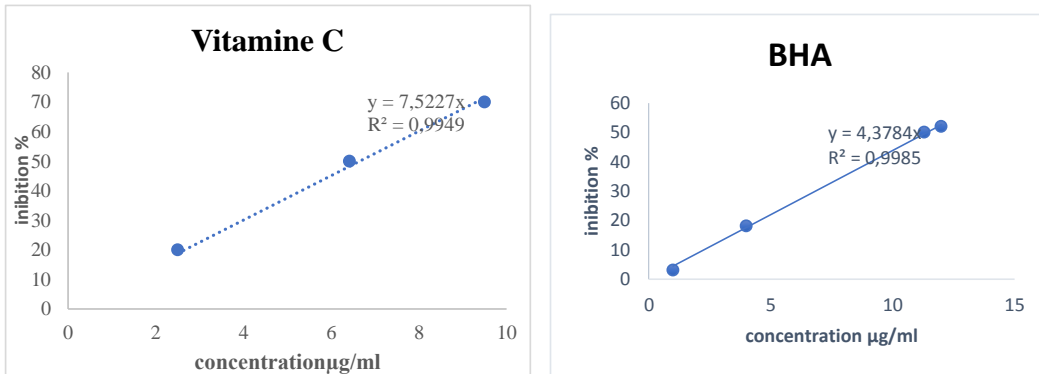
*A Echantillon* : L'absorbance du DPPH en présence de l'extrait testé à 517nm

Les figures qui suivent représentent les traces du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de concentration en composés phénoliques figure 7 ainsi que la figure 8 qui représente la variation des pourcentages d'inhibition (%) en fonction des concentrations en µg/ml des deux antioxydants standards choisis pour cette étude à savoir la vitamine C et BHA



**Figure 7 :** les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition PI% en fonction de la concentration en phénols des extraits d'Ac, d'DCM et de MOH .

## RÉSULTATS ET DISCUSSION



**Figure 8 :** courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I % en fonction de la concentration en antioxydants standards choisis pour l'étude

Le pourcentage d'inhibition ainsi déterminé à partir des traces précédentes, nous ont permis de déterminer la concentration d'inhibition à 50 % des antioxydants présents dans les extraits phénoliques exprimés en  $\mu\text{g/ml}$  qui représentent la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel.

De même, nous avons calculé les EC<sub>50</sub> de la vitamine C (l'acide ascorbique) et BHA (Butylhydroxyanisole) afin de les comparer avec ceux des extraits phénoliques. Les valeurs d'EC<sub>50</sub> obtenues sont résumées dans le (tableau 6). Ce paramètre est utilisé pour la comparaison entre l'activité antioxydante de nos échantillons avec celle des références : la vitamine C et le BHA. plus la valeur d'EC<sub>50</sub> est petite plus la capacité antioxydante de nos extraits est importante (**Shimamura, et al, 2007 ; Mazza et Miniati, 1993**)

**Tableau 6 :** les valeurs d'EC<sub>50</sub> en  $\mu\text{g/ml}$  des différents extraits de la plante investiguée et les antioxydants standards.

Nom des Extraits	EC <sub>50</sub> (mg /ml)
Acétate d'éthyle	237
DCM	115
MOH	67
BHA	11.30
Vitamine C	6.42

Les résultats présentés dans le (tableau 6) montrent que les valeurs de l'EC<sub>50</sub> varient globalement de 67  $\mu\text{g/ml}$  à 237  $\mu\text{g/ml}$ . La plus forte activité a été enregistrée pour l'extrait de MOH, par contre l'activité la plus faible a été enregistrée pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

En analysant l'ensemble de nos résultats (tableau 6) et sachant que le paramètre EC50 est inversement promotionnel à l'activité antioxydante .nos résultats, montrent clairement que les extraits phénoliques de *l'Asphodelus microcarpus* possèdent un potentiel antioxydant important comparable avec celui des antioxydants utilisés comme référence dans ce test.

En raison de simplification et afin de mieux comparer entre les activités antioxydantes obtenues par nos extraits ( les figures 7,8) illustre le classement décroissant du pouvoir antiradicalaire exprimé en EC<sub>50</sub> des extraits phénoliques de la plante *Asphodelus microcarpus* en comparaison avec les standards

D'après les valeurs EC50 obtenues nous constatant que la capacité réductrice des extraits est inférieure à celle déterminées pour antioxydants standards (vitamine C et BHA)

Extrait MOH présente le pouvoir anti-oxydant le plus élevé avec une IC50 de 67 mg/ml. Et l'extrait d'*Acétate d'éthyle* présente le pouvoir le plus faible avec une IC<sub>50</sub> de 237 mg/ml. Nous pouvons dire alors que la variation de la capacité antioxydante des extraits de *Asphodelus microcarpus* comparativement à celle des antioxydants standards choisis dans notre étude est due à la nature et à la polarité de nos molécules phénolique potentiellement activité existant dans nos extraits.

# Conclusion Générale

## Conclusion Générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie.

Les extraits naturels. Représentent une source importante de substances et de composés bioactifs. A cet effet, par le présent travail l'étude des propriétés antioxydantes par les extraits naturels de l'espèce *Asphodelus microcarpus*, a permis alors une initiation à l'évaluation des potentialités bioactives de cette espèce pour une étude chimique approfondie.

Tout d'abord, nous avons commencé ce travail par une extraction par diffusion à froids (solide –liquide) suivie des quantifications des phénols totaux et des flavonoïdes. Puis, nous avons procédé finalement à l'étude de l'activité antioxydante en utilisant le test de DPPH.

Ces résultats montrent que cette plante est relativement riche en composés phénoliques ; avec des teneurs qui varient (0,10 à 0.15mg EGA/ gramme de la matière sèche) des phénols totaux, et les flavonoïdes avec des teneurs qui varient (0.006 à 0.1mg EGA/ gramme de la matière sèche).

L'évaluation des propriétés antioxydantes par le test du DPPH a révélé que tous nos extraits manifestent une très forte activité, ou nous avons noté des valeurs d'EC<sub>50</sub> comprises entre 237 et 67 µg/mL, cette activité antioxydante vis-à-vis des radicaux DPPH est révélée indépendante de la concentration en phénols totaux.

Ce travail confirme de façon irréfutable les activités antioxydantes intéressantes des extraits phénoliques de la plante *Asphodelus microcarpus*. En plus, nous pouvons déduire de ce modeste travail que la polarité du solvant d'extraction influe principalement sur le rendement des extraits bruts ainsi que sur les teneurs en composés phénoliques et Flavonoïdes.

En perspective à cette étude plusieurs travaux peuvent être envisagés dans ce domaine de recherche. En premier temps, il faut signaler qu'il reste encore beaucoup de plantes Algériennes et locales utiles qui n'ont pas été étudiées et qui mériteraient d'être investiguées dans les domaines étudiés. Il est également envisageable d'élargir le panel des tests.

## A-B

**Aberkane M.C. (2006).** *Etude phytochimique la plante Public ria laciniala*. Thèse de doctorat. Université El-Hadj Lakhdar, Batna. 163p.

**Fernández-Gutiérrez A, Segura-Carretero A, (2014)** .*Tentative characterisation of Iridoid, phenylithanoid glucosides and flavonoides derivatives from Globularia alypum L (Globulariaceae) leaves by LC-ESI-QTOF-MS* .Phytochemical Analysis, 25(5):389-98.

**Ardestani A., Yazdanparast R. (2007).** *Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts*. Food Chem. 104: 21-29 p.

**Aruoma OI. (1999).** *Free radicals, antioxidants and international nutrition*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 8: 53-63 p.

**Balasundrani N., Sundram K., et Samman S. (2006).** *Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses*. Food Chemistry. 191-203 p.

**Bhat S., V., Nagasampagi B. A., et Sivakumar M.** *Chemistry Of Natural Products*. First Edition. 115p.

**Balashan Pandey K., Ibrahim Rizvi S. (2009).** *Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, Oxid &ative*. Medicine and Cellular Longevity. 270-2 78 p.

**Bondet V., Brand-Williams W., ct Berset C. (1997).** *Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH*. Free Radical Method. Lebensm.-Wiss. u.-Teehnol: 30. 609-615p.

**Boudiaf K. (2006)** .*Etude des effets anti-.xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa*. Thèse dc magistère. Département de biologie. Université Ferhat abbas, Sétif.

**Boudjellal K. (2009).** *Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'Elaeagnus angustifolia L*. Thèse magister .Université El-HadJ Lakhdar, Batna .54 p.

**Bouزيد W. (2009).** *Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de crataegus monogyna Jacq*. Thèse Magister. Université El-HadJ Lakhdar, Batna 69 p.

**Bruneton J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Techniques et Documentation. 3<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier. Paris. 199-388 p.

## C-D

**Chami F. (2005).** *Evaluation in vitro de l'Action Antifongique (les Huiles Essentielles d'Origan et de Girofle et de leurs Composés Majoritaires in vivo Application dans la Prophylaxie et le Traitement de la Candidose Vaginale sur des Modèles de Rat et de Souris Immunodéprimés*. Thèse doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, has. 129 pp.

## Les références bibliographiques

- Croft K. D. (1999).** *Antioxidant effects of plant phenolic compounds, antioxidant in human health.* 109-121 p.
- Dahanukar S.A ., Kulkarni R.A.,et Rege N.N., (2000).** *Pharmacology of medicinal plants and natural products. Indian Journal of Pharmacology.* 81-118 p.
- Dewick ,P.,I.,I. (2001).** *Medicinal Natural Products.* Wiley. 2<sup>nd</sup> Ed Studies in Natural Products Chemistry. Chapitre 6. 291p.
- Diallo A. (2005).** *Etude de la phytochimie et des activités biologiques de Syzygium, guineense willd. (MYRTACEAE).* Thèse de doctorat. Université de Bamako.Mali.96 p.
- Diallo D ., Sanglon R ., Yasambou11-.,l'raoré A ., Coulibaly K ., ct Mu'iga A., (2004).***Etude des Constituants des feuilles de Zizyphus, mauritiana Lam. (Rhamnacées), utilisées traditionnelement dans le traitement du diabète au Mali .Comptes rendus. Chimie. 7 :* 1073-1080 p.
- Dutta Gupta S. (2011).** *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher plant. CRC press.* 362 p.

## F-G

- Favier A. (2003).** *Le stress oxydant « Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ».* Actualité chimique. 108-115 p.
- Frankel E N., Water house A L., ct Teissedre P L. (1995).** *Agric. Food. Chem.* 43.221-235 p.
- Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C, (2008).***Phenolic composition of Cynara cardunculus L organs, and their biological activities.* ComptesRendus Biologie, 331: 372-379.
- Gañan M., Martinez-Rodriguez A.J., et Carrascosa A. V. (2009).** *Antimicrobialactivity of phenolic against Campylobacter jejuni,* Food Control. 739-742 pp.
- Gilani A.II., Aziz N., Khurram I.M., Chandra K.S., et Iqbal A. (2001).** *Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of Nigella sativa seeds (Kalonji).* Journal of the Pakistan Medical Association: 51. 115-120 p.
- Gomez-Alonso S., Fregapane G., SalvadorM.D., et Gordon M.H. (2003).** *Changes in phenolic composition and antioxidant activity of Virgin olive oil during friying.* Journal of Agriculture and Food Chemistry: 5 1. 667-672.

## H-K

- Hennebelle T. (2006.).** *Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota*

### Les références bibliographiques

*Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées)*. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et technologique de Lille. France. 304 p.

**Hesse M. (2002)**. *Alkaloids -Nature's Curse or Blessing*. 2<sup>nd</sup> Ed. 413 p.

**Karathanos V.T., Mouritzinos I., Yannakopoulou K., et Andrikoploulos N. K. (2007)**. *Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with  $\beta$ -cyclodextrin*. Food chemistry. 652-659 p.

**Katoh M., Matsune R., Nagase H., et Honda T. (2004)**. *Tetrahedron Lett.* 45, 6221.

**Khacheba I. (2011)**. *Evaluation de pouvoir inhibiteur des extraits phénoliques naturels sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase*. Thèse de magister. Université Amar telidji, Laghouat. 49 p.

**Krishnaiah D., Sarbatly R., et Nithyanandam R. (2010)**. *A review of the antioxidant potential of medicinal plant species*. Food and Bio products processing. 17p.

**Kunga M.R., Balsamy T., Thayumanavan P., et Palanisamy R. (2009)**. *Inhibitory effect of *Gymnema Montanum* leaves on  $\alpha$ -glucosidase activity and  $\alpha$ -amylase activity and their relationship with polyphenolic content*. Journal of medicinal chemistry research. Med Chem Res. 19:948-961.

**Kintzios S, Papageorgiou K, Yiakoumettis I, Baricevic D, Kusar A, (2010)**. *Evaluation of the antioxidant activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 53:773-776.

## L-M

**Langenheim J. H. (1994)**. *Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles*. Journal of Chemical Ecology. 20: 1223-1280 p.

**Lee K.W., Kim Y. J., Lee H. J., et Lee C.Y. (2003)**. *Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine*. J.Agric\_ Food Chem: 51.7292-7295 p.

**Louis Léger C. (2006)**. *Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action anti-oxydante, interactions*. OCL. 59-69 p.

**Macheix J. J., Fleuriet A., et Allemand C. J., (2005)**. *Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique* ». Ed Presse polytechniques et universitaires romandes. 6, 121 et 192 p.

**Mazza G., Miniati E. (1993)**. *Anthocyanins in fruits, vegetables and grains*. C Press Boca Raton. 12-18 p.

**Mekkiou R. (2005)**. *Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox**. Thèse de doctorat. Université de Mentouri. Constantine 199 p.

### Les références bibliographiques

- Meziti A. (2009).** *Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella saliva L.* Thèse magistère. Université EI-Hadj Lakhdar Batna. 81p.
- Mishara A.K., Dubey N.k. (1994).** *Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities.* Appl. Environ. Microbiol. 60(4):1101-1105.
- Mitra S. (2003).** *Sample preparation Techniques in Analytical Chemistry.* John Wiley & Sons edition. Hoboken. New Jersey. 162-458 p.
- Mohammedi, Z. (2006).** *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen.* Thèse de magister. Université Abou Bakr Belkaied, Tlemcen.105p.
- Molyneux P. (2004).** J Sci Technol: **26.** 211-219 p.
- Markham KR, (1982)** .*Techniques of flavonoid identification Academic press, London* Chap1 and 2, 1-113.

## N-R

- Nicolas V. (1991).** *Huiles essentielles : Production mondiale, échanger internationaux et évaluation des prix.* 10<sup>ème</sup>. journée internationale, des huiles essentielles. Actes, Ravista italiana Eppos. Numéro spécial 02/1992 : 534-539 p.
- Nostro A., Germano M.P., d'Angelo. V., et Cannatelli M.A. (2000).** *Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobialactivity.* Letters in AppliedMicrobiology. 379-384 p.
- Rhayour K. (2002).** *Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Escherichia coli, Bacillus subtilus et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortitutum.* Thèse do doctorat. Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah, fés.158 p.
- Ribereau G P. (1964).** *Les composes Phénoliques du raisin et du vin.* Ann. Physiol. Veg. I.N.R.A.
- Ribéreau-Gayon P. (1968).** *Les composés phénoliques des végétaux.* Editions Dunod, Paris.254 p.
- Rodriguez Vaquero M.J., Alberto M.R., et Manca de Nadra M.C. (2007).** *Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines.* Food Control. 93-101 p.
- Rolland Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. OCL. 419-425 p.
- Ruan Z., Zhang L.L., et Lin Y.M. (2008).** Evaluation of the Antioxidant Activity of Syzygiumcumini leaves. Molecules. **13(10):** 2545-2556 p.

## S-T

**Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., et Saura-Calinto F. (1998).** *A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols.* J Sci food Agric. 270-276 p.

**Shimamura T., Zhao W., et Hu Z. (2007).** *Mechanism of Action and Potential for Use of Tea Catechin as an Anti-infective Agent.* *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry.* 57 -62 p.

**Tachakittirungrod S., Okonogi S., et Chowwanapoonpohn S. (2007).** *Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: of antioxidant action of guava leaf extract.* Food Chemistry. 381-388 p.

**Taleb-Contini s.H., José Salvador M., Watanabe E., Yoko Ito I. et Rodrigues de Oliveira D C. (2003).** *Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two Chromolaena species.* Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 403-408 p.

**Tri Vuong P. (2009).** *Activités antidiabétiques et neuroprotectrices du jus de bleuet biotransformé.* Thèse. Université de Montréal. 190 p.

**Terblanche U, Semakalu CC, Mtunzi F, Pillay M, (2017).** *Screening of Variables Influencing Extraction Yield of Cotyledon orbiculata: 23 Full Factorial Design.* Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Research, 9 (3): 303-312.

## O-P

**Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M, (2001).** *Antioxydants in food Istedition Practical Applications* , Woodhead Publishing Limited, Cambridge, p 400

## V-Z

**Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., et Mazur M. (2006).** *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.* Chemico-Biological Interactions. **160**:1-40 p.

**Van Vuuren S.F. (2008).** *Antimicrobial activity of South African medicinal plants.* Journal of Ethnopharmacology. 462-472 p.

**Vermerris W., Nicholson R. (2006).** *The Role of Phenols in Plant Defense. In: Phenolic Compound Biochemistry,* Springer. Dordrecht, The Netherlands. 211-234 p.

**Vermerris, W. ; and Nicholson, R. 2006.** *Phenolic Compound Biochemistry.* Springer Science. Netherlands. 276p

**Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC, (2007).** *Free radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical.* Talanta, 71, 230-235.

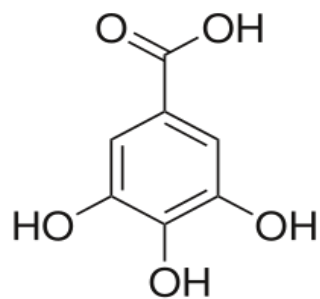
### Les références bibliographiques

**Zeghad N. (2009).** *Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne.* Thèse magister. Université Mentouri, Constantine. 130 p.

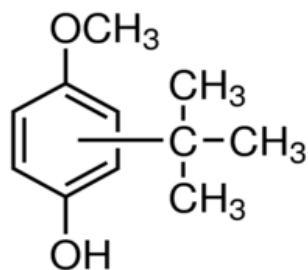
**Zhiri A. (2006).** *Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré.* Science nutrition, prévention et santé. 16 p.

**Zhang BB, Zhao K, (2016).** *Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant anti-inflammatory effects.* *Curr Opin. Food Science*, 8: 33-42.

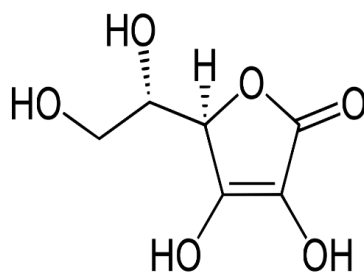
Annexe



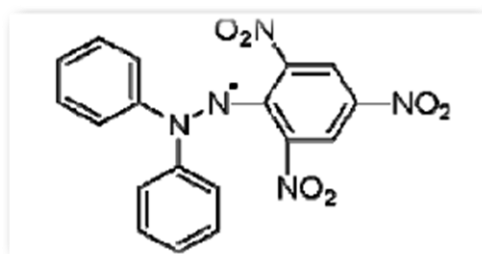
Acide gallique



BHA (l'hydroxyanisole butylé)



Vitamine C



DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

## Annexe

النشاط المضاد للأكسدة.  
الكلمات الدالة (الكلمات المفتاحية): (*Asphodelus microcarpus*)، النشاط المضاد للأكسدة،  
المركبات الفينولية، فلافونودية.

)