

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

**Filière** : Sciences Biologiques

**Option** : Biochimie appliquée

### THEME

---

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits polaires de l'espèce *Smilax aspera*.**

---

**Devant de jury :**

**Président :** Mme KRAZA Lamia

**Examinatrice :** Mme NEBEG Halima

**Promotrice :** Melle ZAKHROUF Zohra

**Diriger par :**

- BENATIA Nafissa

- KHINECHE Ahlem

- HAMIDAT Hiba Khadra

Année Universitaire 2021/2022

## Résumé

Notre travail s'inscrit sur la valorisation des racines de la plante *Smilax aspera* une des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle dans notre région. Nous nous sommes intéressées sur le dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes ainsi l'étude de l'activité antioxydante par les tests de DPPH et ABTS.

Après une étape de délipidation par Héxane, deux systèmes d'extraction sont suivis (MOH/H<sub>2</sub>O et ACT/ H<sub>2</sub>O) avec une réalisation d'un fractionnement en utilisant les solvants : Acétate d'éthyle et le dichlorométhane. Le dosage quantitatif des polyphénols et des flavonoïdes montre une présence dans les quatre fractions avec des concentrations relativement élevées dont la plus importante c'est la fraction de Acétate d'éthyle de ACT/ H<sub>2</sub>O présentant des teneurs de  $89,26205 \pm 3,00067$  mg EAG/g d'extrait sec et  $11.67633 \pm 0.233396$  mg EQr/g d'extrait sec pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement. La fraction de dichlorométhane de système MOH/H<sub>2</sub>O a révélé le pouvoir antioxydant le plus important par le test de DPPH avec une  $IC_{50} = 0.324 \pm 0.0166$  mg/ml. Le pouvoir réducteur par le test d'ABTS en utilisant la méthode de VCEAC montre des valeurs importantes et très proches qui varient entre  $0.207658 \pm 0.004087$  et  $0.239776 \pm 0.003746$  g de l'extrait /g vit C.

Ces résultats ont fourni un appui scientifique aux propriétés antioxydantes des racines de *S. aspera in vitro*. Une évaluation plus poussée des propriétés spécifiques des flavonoïdes et des études *in vivo* sont nécessaires ultérieurement.

**Mots clés :** *Smilax aspera*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, ABTS,

## Abstract

Our work is based on the valorization of the roots of the plant *Smilax aspera* one of the plants used in traditional medicine in our region. We were interested in the dosage of total polyphenols and flavonoids as well as the study of antioxidant activity by DPPH and ABTS tests.

After a hexane dilapidation step, two extraction systems are followed (Methanol/H<sub>2</sub>O and Acetone/H<sub>2</sub>O) with fractionation using the solvents: ethyl acetate and dichloromethane. The quantitative dosage of polyphenols and flavonoids shows a presence in the four fractions with relatively high concentrations, the most important of which is the fraction of ethyl acetate of ACT / H<sub>2</sub>O with contents of  $89.26205 \pm 3.00067$  mg EAG/g of dry extract and  $11.67633 \pm 0.233396$  mg EQr/g of dry extract for the polyphenols and the flavonoids respectively. The dichloromethane fraction of the MOH/H<sub>2</sub>O system revealed the most important antioxidant power by the DPPH test with an  $IC_{50} = 0.324 \pm 0.0166$  mg/ml. The reducing power by the ABTS test using the VCEAC method shows significant and very close values which vary between  $0.207658 \pm 0.004087$  and  $0.239776 \pm 0.003746$  g of the extract / g vit C.

These results provided scientific support for the antioxidant properties of *S. aspera* roots *in vitro*. Further evaluation of the specific properties of flavonoids and more *in vivo* studies are needed later on.

**Key words:** *S. aspera*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, ABTS

## ملخص

يعتمد عملنا على تقييم جذور نبات الفشاغ أحد النباتات المستخدمة في الطب التقليدي في منطقتنا. وذلك بمعايرة مجموع البوليفينول والفلافونويد وكذلك دراسة نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبارات DPPH و ABTS . بعد مرحلة استخلاص الليبيدات بالهكسان ، يتم اتباع نظامي استخلاص (الميثانول / H<sub>2</sub>O والأسيتون / H<sub>2</sub>O) مع التجزئة باستخدام المذيبات: أسيتات الإيثيل و ثنائي كلورو ميثان. تُظهر المعايرة الكمية من البوليفينول والفلافونويد وجوداً في الأجزاء الأربعة بتركيزات عالية نسبياً ، وأهمها جزء أسيتات الإيثيل من ACT / H<sub>2</sub>O بمحتويات  $89.26205 \pm$  g/ EAG mg 3.00067 من المستخلص الجاف و  $11.67633 \pm 0.233396$  g/ EQr mg من المستخلص الجاف للبوليفينول والفلافونويد على التوالي. أظهر جزء ثنائي كلورو ميثان في نظام H<sub>2</sub>O / MOH أهم قوة مضادة للأكسدة باختبار DPPH مع  $0.324 \pm 0.0166$  mg IC<sub>50</sub> / ml. تُظهر القدرة الإحتزالية بواسطة اختبار ABTS باستخدام طريقة VCEAC قيمة معتبرة وقريبة جداً تتراوح بين  $0.207658 \pm 0.004087$  و  $0.239776 \pm 0.003746$  mg من المستخلص / mg فيتامين c.

قدمت هذه النتائج إضافة علمية للخصائص المضادة للأكسدة لجذور نبات الفشاغ في المختبر. هناك حاجة إلى مزيد من التقييم للخصائص المحددة للفلافونويد والمزيد من الدراسات.

**الكلمات المفتاحية:** الفشاغ ، البوليفينول، الفلافونويد ، نشاط مضاد للأكسدة ، DPPH ، ABTS.

## Dédicace

*Toutes louanges et tous remerciements sont dus à Allah*

*Avec grande plaisir je dédie ce travail*

*À l'être le plus cher de ma vie, mon inspiration, ma motivation, ma joie, le symbole de la bonté, qui n'a pas cessé de m'encourager tout au long de mes études, et de prier pour moi. Ma mère **Saida**.*

*A mon cher père **Atia**, qui je porte fièrement son nom, qui m'a inculqué le sens de la responsabilité, de la dignité, de l'honneur et de l'humilité, qui m'a éclairé mon chemin.*

*A ma précieuse sœur **Imane**, et mon aimable frère **Ibrahim**, pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes études. Et à ma petite nièce **Basma***

*Je leur souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite.*

*A ma grande famille, mes collègues et mon amie **Amira** pour sa présence de tous les instants.*

*Merci pour avoir cru à moi et pour votre amour, Sans vous je ne serais jamais arrivé à ce stade de ma vie.*

*Nafissa*

## **Dédicace**

*Dieu soit loué, je le loue et le remercie pour ses bénédictions et ses dons, et je lui demande de nous accorder une bénédiction dans ce travail.*

### ***A mes parents***

*J'adresse mes sincères remerciements à mes parents, qui ont eu le plus grand crédit pour mon succès après la grâce de Dieu Tout-Puissant*

*Aucune dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma  
Considération et mes profonds sentiments envers eux*

*Je prie mon dieu de les Bénir de veiller sur eux j'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.*

### ***A Mes frères***

*Mes paroles ne suffisent pas et n'expriment pas ma gratitude et mon appréciation pour vous, mon frère. Je suis fier que tu sois mon frère, ton amour pour moi, ta gentillesse et ta gentillesse sont des qualités qui illuminent ma vie.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.*

*Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*Hiba*

## Dédicace

*Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut  
sur lui*

*Et des prophètes ainsi que ses compagnons pour nous avoir apporté la  
religion de l'Islam*

*Je dédie cet humble travail.*

*La plus belle créature créée par Dieu sur terre...*

*Pour cette source de tendresse, de patience et de générosité*

*À ma mère Samra.*

*À celui qui s'est sacrifié pour moi, aux ailes de la garde et du  
protecteur de mon cher père Amar.*

*À mon frère Oussama*

*À mes sœurs : Roufaïda, Noor, Nour El-hudan, Khadija*

*Pour toute ma famille par mon père et ma mère*

*À tous mes amis, chers amis de l'art : Ebba, Nariman, Yumna,  
Norhan, Najma , Emy, Shahed et Nawrass , à mes collègues.*

*Ahlem*

# Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Allah** pour nous donner la force de continuer et dépasser tous les obstacles et difficultés.*

*Notre profonde gratitude va à notre honorable promotrice **Melle ZAKHROUF Zohra** pour son aimable disponibilité et ses précieux conseils, et pour avoir suivi notre travail avec une extrême bienveillance.*

*Ainsi qu'aux membres du jury **Mme NEBEG Halima** et **Mme KRAZA Lamia** pour accepter d'examiner notre travail et de l'enrichir par leur propositions.*

*Nous remercions sincèrement Monsieur **YOUSFI Mohamed** le directeur de Laboratoire des Sciences Fondamentales pour nous offre l'opportunité d'effectuer notre recherches de fin d'études au sein de ce laboratoire.*

*Nous tenons également à remercier toute l'équipe pédagogique de département de Biologie.*

# Table de matière

## LISTE DE TABLEAU

## LISTE DES FIGURES

## ABREVIATION

## Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique.....	8
Chapitre I : la Plante étudiée .....	8
I.1. La famille SMILACACEAE .....	8
I.2. Le genre <i>Smilax</i> .....	8
I.3. L'espèce <i>Smilax aspera</i> .....	8
I.4. Classification .....	9
I.5. Répartition .....	9
I.6. Description de la plante .....	9
I.7. Utilisation de la plante .....	10
I.8. Etude phytochimiques .....	10
Chapitre II : Les métabolites secondaires.....	11
II.1. Généralités.....	11
II.2. Définition .....	11
II.3. Les polyphénols .....	12
II.3.1. Phénols simples .....	13
II.3.2 Les flavonoïdes.....	13
II.3.3. Anthocyanes .....	13
Chapitre III. L'activité antioxydante .....	14
III.1. Les radicaux libres .....	14
III.1.1. Définition .....	14
III.1.2. L'origine des radicaux libres.....	14
III.1.3. Les conséquences possibles des dommages aux tissus liés aux radicaux libres..	14
III.2. Les antioxydants .....	15
III.2.1. Définition .....	15
III.2.2. Les systèmes antioxydants: .....	15

III.3. Stress oxydatif.....	17
I. Matériels.....	20
I.1. Matériel végétal .....	20
I.2. Les produits chimiques .....	20
II. Méthodes .....	21
II.1. Extraction des composés phénoliques .....	21
II.2. Dosage des composés phénoliques .....	23
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	23
II.3.2. Dosage des flavonoïdes .....	24
II.3. Evaluation de L'activité antioxydante .....	24
II.3.1. Mesure de l'activité antioxydante par le test DPPH.....	24
II.3.2. Mesure de l'activité antioxydante par le test ABTS .....	25
Partie III: Résultats et discussions .....	28
I. Résultats de rendements en extraits bruts.....	28
II. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes .....	29
II.1. Teneur totale en polyphénols.....	29
II.2. Dosage des flavonoïdes .....	31
III. Etude du pouvoir antioxydante .....	33
III.1. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH .....	33
III.2. Évaluation de l'activité antioxydante par le test ABTS .....	36
Conclusion .....	40

## Liste des Tableaux

Tableau 1. Nomenclature de la plante <i>Smilax aspera</i> (Ghedira et Goetz, 2016), .....	9
Tableau 2. Principaux constituants chimiques de <i>Smilax aspera</i> L.....	10
Tableau 3. Les antioxydants enzymatiques importants (Powers <i>et al.</i> , 2004).....	15
Tableau 4. Quelques antioxydants non enzymatiques.....	16
Tableau 5. Les produits chimiques et les réactives utilisés .....	20
Tableau 6 : Rendement d'extraction des composés phénoliques de « SA » .....	28
Tableau 7. Teneurs totales en polyphénols, des extraits obtenus de l'espèce <i>S. aspera</i> .....	29
Tableau 8 : Teneurs totales en flavonoïdes, des extraits obtenus de l'espèce <i>S. aspera</i> .....	31
Tableau 9. Les valeurs d'IC50 du test DPPH de chaque extrait.....	35

## Liste des figures

Figure 1. Parties aériennes de <i>Smilax aspera</i> L. (Ghédira et Bhatta, 2020).....	8
Figure 2. Classification des polyphénols. (Hardman, 2014). .....	12
Figure 3. Les étapes de travail expérimental .....	19
Figure 4. .Procédure de l'extraction des composés phénoliques. ....	21
Figure 5. Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide des extraits bruts.....	22
Figure 6. Les extraits après l'évaporation. ....	22
Figure 7. Structure chimique de l'acide gallique. ....	23
Figure 8. Structure chimique de la quercétine.....	24
Figure 9. Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). (Bibi-Sadeer <i>et al.</i> , 2020).....	25
Figure 10. Formation du radical cation ABTS <sup>+</sup> à partir d'ABTS (Sarr <i>et al.</i> , 2015) .....	26
Figure 11. Histogramme montre le rendement de l'extraction des 4 extraits de « SA ».....	28
Figure 12. Histogramme de la teneur en phénols totaux des extraits de <i>S. aspera</i> . ....	30
Figure 13. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg/ml).....	30
Figure 14. Courbe d'étalonnage à la quercétine. ....	32
Figure 15. Histogramme de la teneur en flavonoïdes des extraits de <i>S. aspera</i> .....	32
Figure 16. Représentation graphique du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) de vitamine C.....	34
Figure 17. Représentations graphiques du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) des extraits .....	34
Figure 18. Classement croissant des valeurs IC50 des extraits et vit C. ....	35
Figure 19. Représentation graphique du taux d'inhibition d'ABTS. ....	36
Figure 20. Histogramme de la teneur en flavonoïdes des extraits de <i>S. aspera</i> .....	37

## Abréviations

**A blanc** : Absorbance du blanc  
**ABTS** : L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)  
**AC-O-E** : Acétate d'éthyle  
**Act** : Acétone  
**Aéch** : Absorbance de l'échantillon  
**AG** : Acide Gallique  
**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'Aluminium  
**Ca<sup>2+</sup>** : ion calcium  
**CAT** : Catalase  
**EC50/IC50** : concentration inhibitrice à 50%  
**ELL** : extraction liquide –liquide  
**EOA** : Espèce Oxygéné activé  
**ERO** : Espèce réactive oxygéné  
**FAE** : Fraction acétate d'éthyle  
**FDCM** : Fraction Dichlorométhane  
**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure de fer (III)  
**FT** : Flavonoïde totaux  
**GAE** : Acide Gallique équivalent  
**GPx** : Glutathion Peroxydase  
**GSH** : Glutathion  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'Hydrogène  
**HBA** : Acide hydrox benzoïque  
**HCl** : chlorure d'Hydrogène  
**HOC** : Acide hypochloreux  
**I%** : pourcentage d'inhibition  
**K** : potassium  
**Mext** : masse d'extrait après évaporation du solvant  
**Mg** : le magnésium  
**MOH** : méthanol  
**Ms** : matière sèche  
**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium  
**Qr** : Quercitine  
**R** : rendement  
**RL** : Radical Libre  
**ROOH** : Hydroperoxyde  
**ROS** : Réactif Oxygène Species  
**SOD** : Super Oxyde Dismutase  
**Vit C** : Acide Ascorbique

# *Introduction*

---

L'utilisation thérapeutique des plantes est ancrée dans les traditions de toutes les cultures. Il existe environ plusieurs plantes sur terre, ont des propriétés médicinales qui peuvent contribuer par leur principe actif à agir directement sur le corps.

Les plantes ont été utilisées comme sources de remèdes pour le traitement de nombreuses maladies depuis les temps anciens et les gens de tous les continents en particulier l'Afrique ont cette vieille tradition. (Abd El-Ghani, 2016). Elles contiennent généralement des mélanges de différents composés phytochimiques, également appelés métabolites secondaires qui peuvent agir individuellement, de façon additive ou en synergie pour améliorer la santé. En effet, les plantes médicinales, contrairement aux médicaments pharmacologiques, Les actions combinées de ces substances tendent à accroître l'activité du principal constituant médicinal en accélérant ou en ralentissant son assimilation dans le corps. (Mahomoodally, 2013).

Les composés phénoliques représentent le deuxième groupe le plus abondant de composés organiques dans le règne végétal (juste derrière la cellulose), et montrent différentes activités dans la plante telles que le soutien structurel, et la protection contre les rayons ultraviolets (UV) le rayonnement solaire, le stress biotique ou abiotique, pathogènes, herbivores, etc. Du point de vue des consommateurs, les composés phénoliques assurent une protection contre les maladies chroniques transmissibles non seulement par leur activité antioxydante, mais aussi par la régulation de nombreux processus cellulaires à différents niveaux, y compris l'inhibition enzymatique, la modification de l'expression génétique, phosphorylation protéique, etc. (Laura *et al.*, 2019)

Le stress oxydatif a été décrit comme un facteur causatif concerné dans diverses maladies chroniques humaines comme le cancer, les maladies cardiovasculaires etc. Ce dommage oxydatif est obtenu par l'attaque de radicaux libres sur diverses biomolécules, notamment les protéines, les lipides et l'ADN, déclenchant enfin la décomposition et la perte des cellules. (Ghedadba *et al.*, 2015)

L'objectif de la présente étude est de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des extraits polaires des racines de la plante *Smilax aspera*

Ce travail est subdivisé en trois parties :

- Dans la première partie de notre mémoire, Nous avons présenté les données bibliographiques : le premier chapitre a abordé une description de l'espèce étudié, les caractères botaniques, les propriétés thérapeutiques et l'intérêt biologique. Le deuxième chapitre a porté sur l'étude des métabolites secondaires, dans le troisième nous avons donné des notions sur le stress oxydative et les antioxydants.
- Dans la deuxième partie, nous présentons les techniques utilisées *in vitro* passant par la mesure des composés phénoliques, et l'évaluation du pouvoir antioxydant par différentes méthodes (test DPPH et ABTS)

- La troisième partie est consacrée à la présentation des différents résultats obtenus et une discussion

Enfin, on termine par une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats issus de cette étude.

# *Partie I :*

## *Synthèse bibliographique*

---

## Partie I : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : la Plante étudiée

#### I.1. La famille SMILACACEAE

Cette famille est classé dans l'ordre des Liliales, est une famille de plantes à fleurs monocotylédones (Xu, Chang ; 2019) herbacées à souche vivace, elle comporte seulement 3 genres : *Heterosmilax*, *smilax* et *tapagerai* (Edina, 2016)

La famille des smilacaceae comporte 310 espèces qui sont largement distribuées dans les régions tropicales, subtropicales et tempérés (Amado, 2018)

#### I.2. Le genre *Smilax*

Le genre *Smilax.L* s'appelle « sarsapilla » en anglais, il est dioïque, vivace, à feuilles caduques et persistantes, grimpante. La plupart des colonies de *Smilax* sont propagées par des rhizomes, *Smilax* est une plante très tolérante aux dommages, capable de repousser à partir de ses rhizomes après avoir été coupée ou brûlée par le feu. (Yıldız *et al.*, 2019).

#### I.3. L'espèce *Smilax aspera*

*Smilax aspera.L* est un arbuste épineux grimpant, présent dans les clairières et les lisières des forêts méditerranéennes typiques (Lovato et D'Antuono, 2001). La plante est grimpe à partir d'un rhizome et forme de nombreuses branches et étendues, jusqu'à 15 mètres (Delgado-pelayo et Hornero Méndez, 2012).

Le nom *Smilax* est un nom grec utilisé comme arbre mortel ou vénéneux en raison du fait que ces vignes sont très agressives et tuent l'arbre hôte en l'ombrageant.

***aspera*** : rugueux et dur, faisant peut-être référence à ses feuilles coriaces (Mifsud, 2021).



Figure 1. Parties aériennes de *Smilax aspera* L. (Ghédira et Bhatta, 2020).

#### I.4. Classification

Règne: Plantae

Division: Trachéophyta

Ordre: Liales

Famille: Smilacaceae

**Genre:** *Smilax*

**Espèce:** *Smilax aspera*

Selon (Ghedira et Goetz, 2016), cette plante a plusieurs nom vernaculaires sont attribué, le tableau 1

**Tableau 1. Nomenclature de la plante *Smilax aspera* (Ghedira et Goetz, 2016).**

<b>Nom français</b>	<i>salsepareille d'Europe</i>
<b>Nom anglais</b>	sarsparilla.
<b>Nom arabe</b>	عشبة حرة / فشاغ

#### I.5. Répartition

*Smilax aspera* se trouve dans la région méditerranéenne et crosse. Elle se trouve aussi en Afrique de l'Est, Inde, cachemire, Siri-Lanka et Yunnan (province du sud-ouest de la chine) (Cherifi, Hami, 2017).

En Algérie, le genre *Smilax* est représenté par une seule espèce, *S. aspera*. Les populations de *S. aspera* se rencontrent dans toute la zone tellienne, en sous-bois ou dans des formations ouvertes pre-forestières. Elles se développent dans des biotopes et des situations écologiques très contrastées. (Boubetra *et al.*, 2022).

#### I.6. Description de la plante

Les tiges sont semi-ligneuses avec des épines abondantes. Les feuilles sont généralement en forme de cœurs bordés de quelques épines.

Les inflorescences sont associées sous forme de grappes ramifiées produisant des bois sphériques juteuse de 7 à 9 mm de diamètre (racème d'ombelles) sous forme de fruits, qui sont initialement verts et deviennent rouges en murissant (Delgado-pelayo et Hornero Méndez, 2012).

## I.7. Utilisation de la plante

*Smilax aspera* est utilisée en médecine traditionnelle pour:

- Traiter le diabète et rhumatismes et pour traiter les symptômes de la ménopause chez les femmes.
- l'extrait des feuilles est utilisé pour soigner la dysenterie.
- le suc des tiges et des feuilles est utilisée pour les problèmes de post-grossesse ou de maternité, la gale et les maladies de la peau.
- Les fruits mûrs sont presses et appliquées sur la peau pour soigner la gale. (Bhatta *et al.*, 2020). Traiter la syphilis, la goutte, les rhumatismes, l'asthme, les maux de dents, les blessures et même les douleurs oculaires. (Martins *et al.*, 2014). les racines soulagent l'inflammation (*Smilax aspera* inhibe la production de Nodes cellules Raw2647 et inhibe également la production de TNF $\alpha$  (Ghédira, Goetz ; 2016). Ont un effet détoxifiant, soulagent l'irritation. (Bhatta *et al.*, 2020).
- Les fruits de *smilax aspera* sont consommés dans le centre et l'ouest du Népal, les jeunes pousses et la fleur sont utiliser comme des légumes, et utilisée dans la fabrication des cornichons.
- Les racines, les feuilles et les jeunes pousses sont utilisé comme nourriture
- Les jeunes pousses de printemps sont consommées dans certaines régions d'Italie.
- En Turquie, les feuilles sont utiliser pour du sarma. (Bhatta *et al.*, 2020).

## I.8. Etude phytochimiques

*Smilax aspera*.L contient des **constituants chimiques** dont les principaux sont présentés dans le tableau 2:

Tableau 2. Principaux constituants chimiques de *Smilax aspera* L (Ghédira, Goetz ; 2016).

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques individuels
Les saponines de structure stéroïdique (2 à 4%)	curilline G, asperagaside E, asparoside A, asparoside B....

<b>Phénols</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Smiglabrone A, smiglabrone B, smilachromanone, smiglastilbene, smiglactone, smiglabrol</li> <li>- Resvératrol</li> <li>- (+) catéchine et (-) épicatechine</li> </ul>
<b>Anthocyanosides</b>	Pélagonidine 3-O-rutinoside, cyanidine 3-O-rutinoside
<b>Caroténoïdes</b>	$\beta$ -carotène, $\beta$ -cryptoxanthine
<b>Phytostérols</b>	Alpha- et bêtasitostérols, stigmastérol
<b>Acides gras</b>	Acides palmitique, stéarique, linoléique...
<b>Sels minéraux</b>	Sels de K (1,25 %), Ca et Mg (0,3 à 0,4 %)
<b>Autres</b>	Acide sarsapique, acide ascorbique

## Chapitre II : Les métabolites secondaires

### II.1. Généralités

Les plantes ont développé une vaste gamme de composés chimiques pour se protéger contre les envahisseurs externes comme les insectes, les ravageurs et les pathogènes microbiens. Ces composés précieux peuvent être extraits de différentes parties de la plante telle que les feuilles, les pousses, les racines et les fleurs et être étudiés pour leurs propriétés pharmaceutiques. (Habibi *et al.*, 2018).

L'une des principales originalités des végétaux est leur capacité à produire des substances naturelles très variées. En effet, en plus des métabolites primaires conventionnels (hydrates de carbone, protéines, lipides, acides nucléiques), ils accumulent souvent ce qu'on appelle des métabolites. (Macheix *et al.*, 2005).

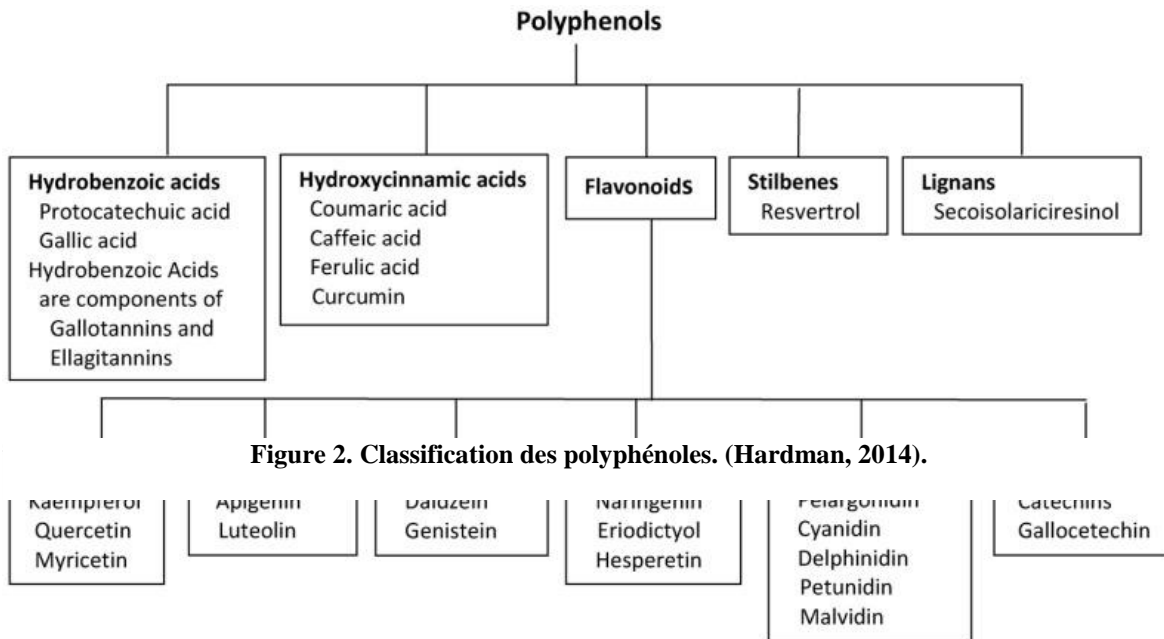
### II.2. Définition

Les métabolites secondaires sont produits dans une certaine période de croissance des plantes et des micro-organismes. Ce sont de petites molécules avec des structures chimiques complexes qui ne sont pas nécessaires à la croissance et à la reproduction, comme les pigments, les hormones, les toxines et les antibiotiques (Chen *et al.*, 2021).

Les métabolites secondaires peuvent être classés en plusieurs grands groupes (composés phénoliques, terpéniques et stéroïdes, et composés azotés incluant les

alcaloïdes). Chacune de ces classes contient une très grande variété de composés qui possèdent une très large multitude d'activités en biologie humaine. (Krief, 2003).

Les métabolites secondaires peuvent être classés sur la base de leur structure chimique (par exemple, avoir des anneaux contenant du sucre), de leur composition (contenant de l'azote ou non), de leur solubilité dans divers solvants ou de la voie par



laquelle ils sont synthétisés (p. ex., phénylpropanoïde, qui produit des tanins). Et généralement classés selon leurs voies biosynthétiques. Les familles sont généralement considérées : Phénoliques, Terpènes et Stéroïdes, et Alcaloïdes, Flavanoïdes. (Tiwari, Rana ; 2015).

### II.3. Les polyphénols

Les polyphénols constituent un groupe important et hétérogène de composés phytochimiques contenant des anneaux de phénol (Kim *et al.*, 2016).

Les polyphénols sont des antioxydants naturels qui agissent comme une barrière contre le stress oxydatif dû aux espèces réactives d'oxygène (ROS). Malgré tous les avantages que ces polyphénols confèrent, leur utilisation est très limitée. L'intégrité et la biodisponibilité des polyphénols déterminent l'efficacité de ces composés. Cependant, les polyphénols sont sensibles à la chaleur et sujettes à l'oxydation. (Noor *et al.*, 2022).

Les composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus répandus, omniprésents dans le règne végétal, même si le type de composé présent varie selon le phylum considéré. Les phénoliques sont rares dans les bactéries, les champignons et les algues. Les bryophytes produisent régulièrement des **polyphénols**, y compris des **flavonoïdes**, mais c'est dans les plantes vasculaires que se trouve toute la gamme des polyphénols. (Lattanzio, 2013).

### II.3.1. Phénols simples

Les phénols simples et les phénoliques appartiennent à une classe de composés qui sont apparemment largement répandus dans la nature et sont donc consommés dans la plupart des régimes alimentaires. (Maga, Katz ; 1978).

#### II.3.1.a. Acides hydroxy benzoïques

Les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque (HBA) sont métabolites phénoliques à structure générale C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Les acides C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub> apparentés (acides phénylacétiques) sont parfois des composants mineurs des aliments. Les variations de la structure basique de l'HBA comprennent les hydroxylations et les méthylations du cycle aromatique. (Tomás-Barberán, Clifford ; 2000).

#### II.3.1.b. Acides hydroxy cinnamiques

Le groupe des acides hydroxy cinnamiques, la plus grande classe, comprend une structure à chaîne latérale à trois carbones (C<sub>6</sub> à C<sub>3</sub>), par exemple les acides caféique, férulique, coumarique et sinapique. Elles présentent de multiples fonctions physiologiques, comme des antioxydants, des anti-inflammatoires, des antimicrobiens, des anticollagénases et des activités mélanogénique (Taofiq *et al.*, 2017).

### II.3.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont un groupe important de composés phénoliques des plantes. À ce jour, plus de 6000 flavonoïdes ont été identifiés. Les flavonoïdes se composent de 2 anneaux de benzène (A et B), qui sont reliés par un anneau de pyrène contenant de l'oxygène (C) (Erlund, 2004). Les variations de l'hétérocycle C donnent lieu à flavonols, flavones, catéchines, flavanones, anthocyanidines et isoflavonoïdes (Hollman, Katan ; 1997).

Les flavonoïdes sont des constituants essentiels des cellules de toutes les plantes supérieures. Ils ressemblent dans leurs propriétés régulatrices la plupart des vitamines liposolubles, mais servent en plus, en raison de leur couleur et de leur odeur, comme communicateurs avec l'environnement (Havsteen, 2002).

### II.3.3. Anthocyanes

Anthocyanidines et anthocyanes, hydroxylés et composés de flavylium glycosidiés, sont des pigments végétaux responsables des teintes rouges, bleues et violettes des fleurs et des fruits dans la nature (Barana *et al.*, 1996)

Le degré de bleuissement est influencé par l'état d'hydroxylation/méthoxylation de l'anneau B anthocyane. Cependant, le nombre de variations de ces couleurs ne peut s'expliquer par les couleurs des anthocyanidines relativement peu connues (Asen *et al.*, 1972).

## **Chapitre III. L'activité antioxydante**

### **III.1. Les radicaux libres**

#### **III.1.1. Définition**

Les radicaux libres sont des espèces d'atomes ou de molécules, avec au moins un électron non apparié dans les orbitales les plus externes. (GriVeau *et al.*, 1995).

Ce déséquilibre est temporaire et comblé en acquérant un autre électron ou en déplaçant cet électron libre vers une autre molécule. (Afonso *et al.*, 2007)

#### **III.1.2. L'origine des radicaux libres**

##### **III.1.2.a. Production endogène**

Les radicaux libres peuvent être produits par plusieurs processus biochimiques différents dans le corps, notamment:

- la réduction de l'oxygène moléculaire pendant la respiration aérobie produisant des radicaux super oxyde et hydroxyle;
- les sous-produits de la chimie tels que l'oxydation des catécholamines et l'activation des électrons du produit en cascade de l'acide arachidonique, qui peuvent réduire l'oxygène moléculaire en superoxyde ;
- production de superoxyde et d'acide hypochloreux (HOCl), un puissant oxydant, par les phagocytes activés ;

Production d'oxyde nitrique par l'endothélium vasculaire et d'autres cellules. (Betteridge, 2000).

##### **III.1.2.b. Production exogène**

Des radicaux libres peuvent être produits dans le corps en réponse à un rayonnement électromagnétique externe, tel que les rayons gamma, qui peuvent diviser l'eau pour produire des radicaux hydroxyles. Si les défenses antioxydantes sont déficientes, des dommages peuvent survenir dans divers tissus. (Betteridge, 2000)

#### **III.1.3. Les conséquences possibles des dommages aux tissus liés aux radicaux libres**

Les radicaux libres sont des molécules intrinsèquement instables en raison de la présence d'électrons non appariés. En conséquence, ils peuvent être très réactifs. (Betteridge, 2000).

Cette forte réactivité cause des nombreux dommages aux constituants cellulaires, tels que les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington), les désordres pathologiques (syndrome d'ischémie perfusion), les phénomènes de vieillissement ; (Durand, 2003) les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, les cataractes. (Hernández-Ledesma *et al.*, 2005).

## III.2. Les antioxydants

### III.2.1. Définition

Un antioxydant est une substance qui est présente à de faibles concentrations et qui retarde ou empêche considérablement l'oxydation du substrat oxydable. Les antioxydants sont efficaces car ils peuvent donner leurs propres électrons aux ROS et ainsi neutraliser les effets néfastes de ces derniers. (Kunwar, Priyadarsini ; 2011).

### III.2.2. Les systèmes antioxydants:

Sont classés en deux grands groupes :

#### III.2.2.a. Les antioxydants enzymatiques

Sont présents dans le corps comprennent le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) qui agissent comme la première ligne de défense du corps contre les ROS en catalysant leur conversion en espèces moins réactives ou inertes. (Kunwar, Priyadarsini ; 2011). Les antioxydants enzymatiques importants sont représentés dans le tableau 1.

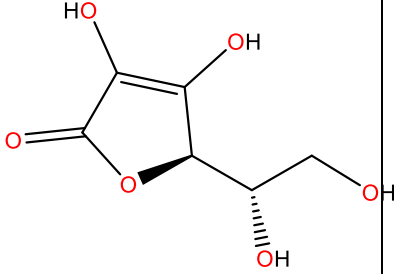
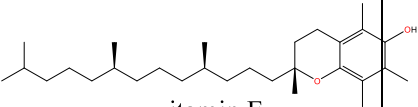
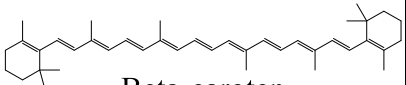
Tableau 3. Les antioxydants enzymatiques importants (Powers *et al.*, 2004)

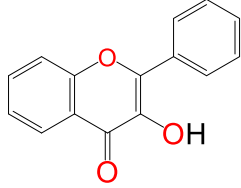
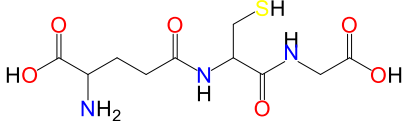
Les antioxydants enzymatiques	Les propriétés
- Superoxyde dismutase SOD	- Situé à la fois dans les mitochondries et le cytosol; dismute les radicaux superoxydes.
- Glutathion peroxydase GPx	- Situé dans les deux mitochondries et cytosol ; élimine le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes organiques.
- Catalase CAT	- Situé dans le cytosol (et dans les mitochondries du cœur); élimine le peroxyde d'hydrogène.

#### III.2.2.b. Les antioxydants non enzymatiques

De nombreux antioxydants non enzymatiques existent dans les cellules. Les défenses non enzymatiques importantes incluent, mais ne sont pas limitées au glutathion, la vitamine E, à vitamine C, à l'acide lipoiq, et aux caroténoïdes. (Powers *et al.*, 2004).

Tableau 4. Quelques antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques	Les propriétés	La structure
<p>- <b>Vitamine C</b> (Acide ascorbique)</p>	<p>- Soluble dans l'eau, agit comme un antioxydant vis-à-vis des lipides dans le plasma humain surchargé en fer in vitro, (Chen <i>et al.</i>, 2000). réduit les radicaux organiques et inorganiques, elle est impliquée dans la régénération du radical tocophéryle en <math>\alpha</math>-tocophérol. (Jomova, Valko ; 2011).</p>	 <p>Ascorbic acid</p>
<p>- <b>Vitamine E</b> (<math>\alpha</math>-tocophérol)</p>	<p>- Situé dans les membranes cellulaires, les muscles squelettiques, le foie, le cœur et les tissus pulmonaires (<math>\approx</math> 20-30 nmol/g) ; soluble dans les lipides. (Evans, 2000).</p>	 <p>vitamin E</p>
<p>- <b>Caroténoïdes</b></p>	<p>- Lipophiles, ils peuvent agir comme des filtres légers et prévenir le stress oxydatif en diminuant l'exposition à la lumière. (Stah <i>et al.</i>, 2003)</p> <p>Certains caroténoïdes, y compris le <math>\beta</math>-carotène, désactivent l'oxygène singulet hautement réactif dans certaines conditions et peuvent bloquer les réactions induites par les radicaux libres. (Bendich, 1989).</p>	 <p>Beta-caroten</p>
<p>- <b>Flavonoïdes</b></p>	<p>- Antioxydants amphipathiques situés dans toute la cellule ; capable de piéger les radicaux dans les environnements lipidiques et aqueux. (Powers <i>et al.</i>, 2004).</p>	

<p>- <b>Glutathione</b></p>	<p>- Située dans les chloroplastes et le cytosol, ce tripeptide (γ-glutamylcystéinyglycine), qui fonctionne dans le métabolisme, la catalyse, le transport et la protection cellulaire, apporte aux cellules un milieu réducteur. (Meister, 1992).</p>	 <p>Flavonol</p>  <p>Glutathion</p>
-----------------------------	--	---

### III.3. Stress oxydatif

**Définition:** Le stress oxydatif a été défini comme une perturbation de l'équilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène EOR (radicaux libres) et les défenses antioxydants, pouvant entraîner des lésions tissulaires. (Betteridge, 2000)

Il existe de véritables réactions en chaîne antioxydants qui consistent en un «passage successif» de l'électron non apparié. Par exemple, il y a la vitamine C, la vitamine E-glutathion. Ces antioxydants sont généralement des éléments nutritifs indispensables. (Leverve, 2009).

La vie aérobie est caractérisée par une formation régulière de pro-oxydants équilibrée par un taux similaire de leur consommation par des antioxydants. Pour maintenir l'homéostasie, il est nécessaire pour la régénération continue de la capacité antioxydante, et si cela n'est pas respecté, les dommages oxydatifs s'accumulent, entraînant des événements physiopathologiques. (Sies, 1991).

## *Partie II*

# *Matériel et méthodes*

---

## Objectif

Notre travail à été réalisé au sein du laboratoire de recherche des sciences fondamentales université Ammar Telidji-LAGHOUAT. Ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des différents extraits polaires de la plante *Smilax aspera*.

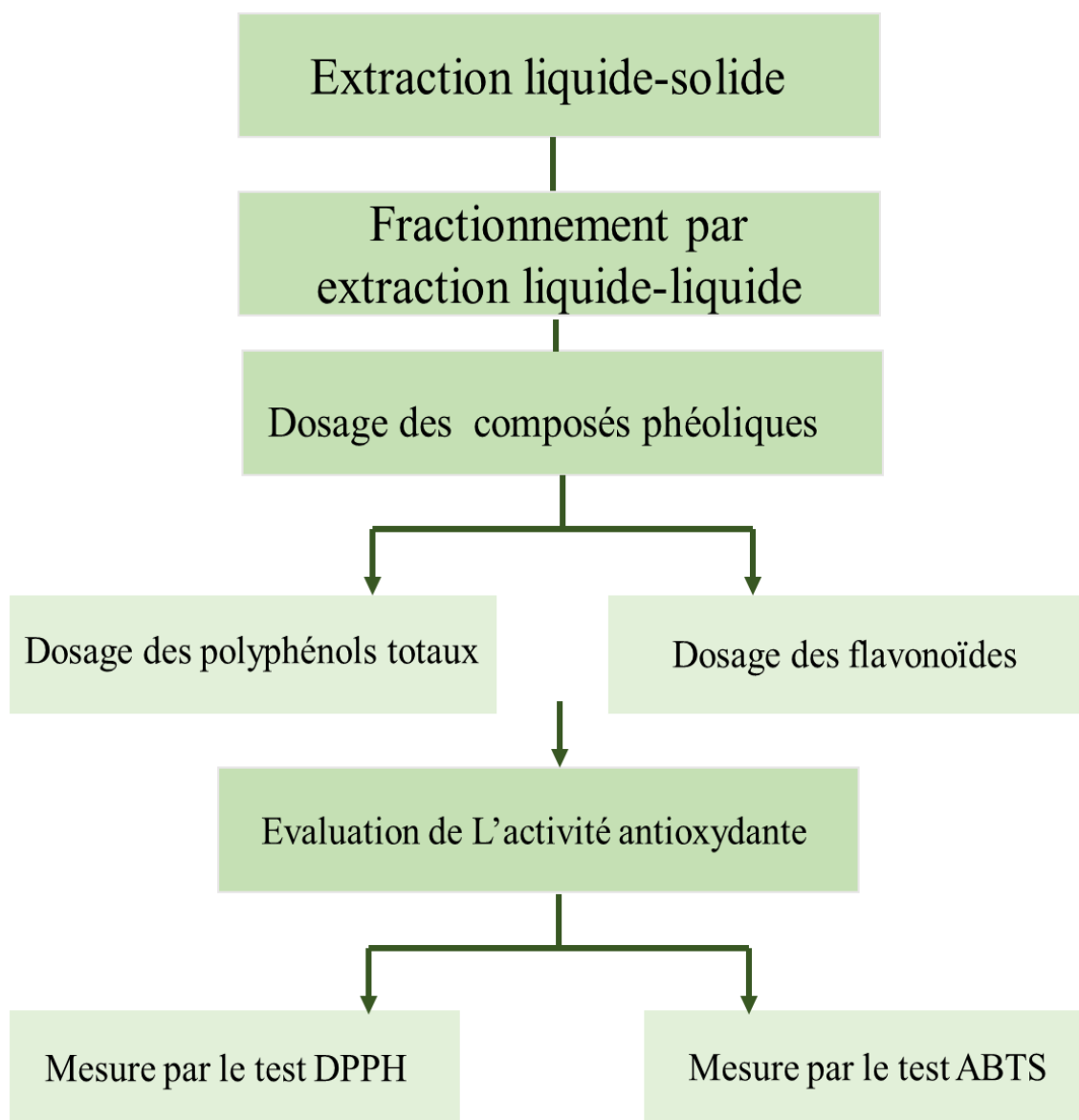


Figure 3. Les étapes de travail expérimental

## I. Matériels

### I.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé les tourteaux d'hexane de la plante *Smilax aspera* ; Une délipidation a été réalisée pour éliminer les compositions apolaires. La partie de la plante qui nous intéresse sont les racines.

### I.2. Les produits chimiques

Les principaux produits chimiques utilisés dans ce travail sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5. les produits chimiques et les réactives utilisés

Matériels	Caractéristiques
<b>Les solvants utilisés</b>	
Eau distillée (H <sub>2</sub> O)	D = 0.998 g/ml
Acétone (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	D = 0.79 g/mL
Méthanol (CH <sub>3</sub> OH)	D = 0.79 g/mL
Dichlorométhane (CH <sub>2</sub> CL <sub>2</sub> )	D = 1.33 g/mL
Acétate d'éthyle (C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> )	D = 0.9 g/mL
Hexane (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	D = 0.66
<b>Les composés phénoliques</b>	
Quercitrine (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> )	MM = 302,236 g/mol
Acide gallique (C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub> )	MM = 170.12 g/mol
Acide ascorbique (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> )	MM = 176,12 g/mol
<b>Les réactifs chimiques</b>	
Folin-Ciocalteu à (10%)	/
Carbonate de sodium à (7,5%) (NA <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	MM = 105,9888 g/mol
Le chlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub> à (2%)	MM = 133,34 g/mol
Tampon phosphate à (pH =6,6)	/
Chlorure de fer FeCl <sub>3</sub> à (0,1%)	MM = 162,2 g/mol
DPPH (C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> )	MM = 394,32 g/mol
ABTS (C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S <sub>4</sub> )	MM = 514,62 g/mol

## II. Méthodes

### II.1. Extraction des composés phénoliques

Dans le but de calculer le rendement nous avons réalisé une extraction solide-liquide. La procédure d'extraction des composés phénoliques est représentée dans la figure 5 :

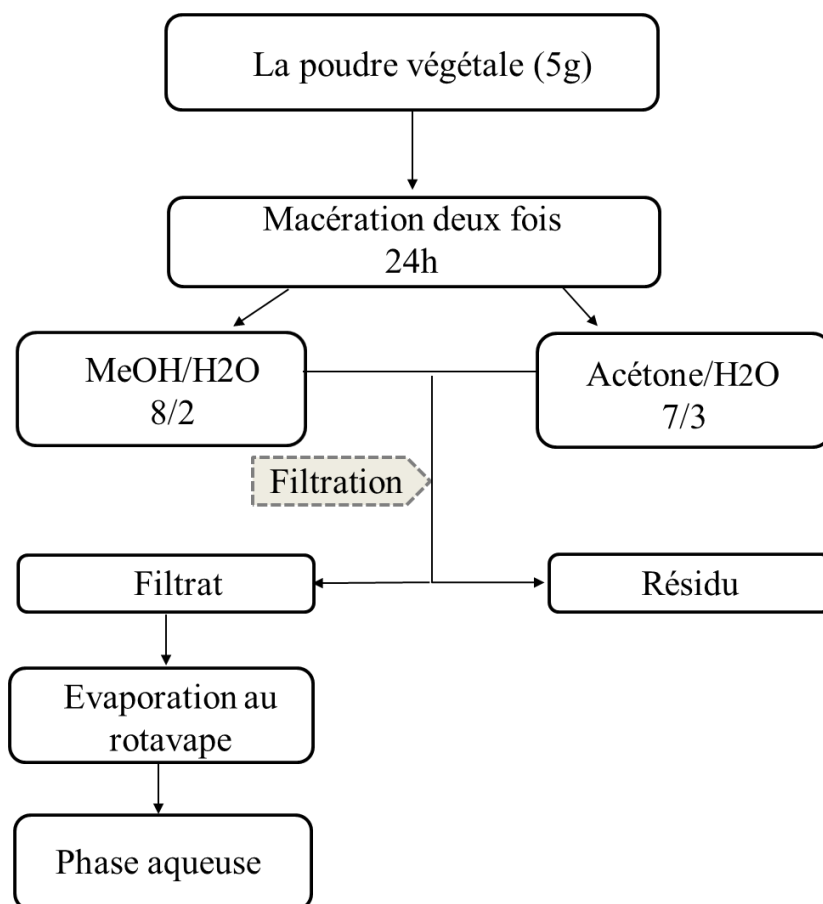
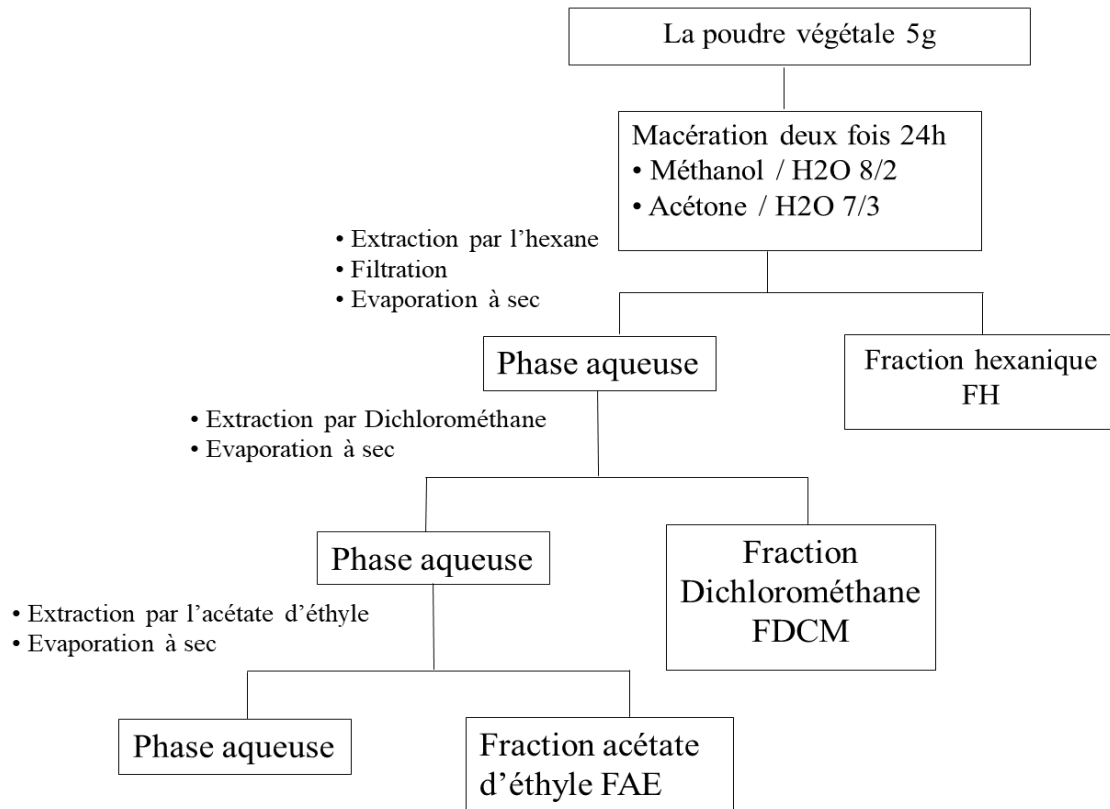


Figure 4. Procédure de l'extraction des composés phénoliques.

Les tourteaux d'hexane de *S. aspera* (5 g) extraite dans deux systèmes de solvant (Méthanol / eau 8/2, Acétone / eau 7/3) pendant 24h a été filtrée, évaporée avec le Rotavap rotatif sous pression réduite. Les phases aqueuses ont été fractionnées par une extraction liquide / liquide successivement avec les solvants suivants : n-hexane, dichlorométhane, et l'acétate d'éthyle de manière progressive. Les solvants de chaque fraction ont été éliminés par évaporation. Le protocole du fractionnement est illustré dans la figure 6 :



**Figure 5. Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide des extraits bruts.**

Les résidus secs obtenus pour les quatre extraits après le fractionnement et l'évaporation sont présentés dans la figure 7 :



**Figure 6. Les extraits après l'évaporation.**

- **Détermination du rendement d'extraction :** Le rendement d'extraction est calculé selon l'équation suivante

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}} / M_{\text{éch.}}$$

Où :

R : est le rendement en % ;

$M_{\text{ext}}$  : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg ;

$M_{\text{éch}}$  : est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

## II.2. Dosage des composés phénoliques

### II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

**Principe :** Le dosage de polyphénols totaux dans les extraits de la plante, a été effectué par la méthode colorimétrique utilisant le réactif de folin-ciocalteu, on utilise l'acide gallique comme référence.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Bancuta *et al.*, 2016) La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. (Boizot, Charpentier ; 2006).

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de polyphénols contenus dans les extraits de la plante. (Chalal, Tighernine ; 2012).

#### **Mode opératoire :**

On introduit 50  $\mu$ l de l'acide gallique dans des tubes à essai à différentes concentrations de 0.05 à 0.35 mg/ml, avec 250 $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau, le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 3 min, puis on ajoute 1 ml de carbonate de sodium à 4%. Les tubes sont agités et incubés durant 30 minutes à l'abri de la lumière L'absorbance mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre permet de tracer la courbe d'étalonnage (l'absorbance à 760 nm en fonction de la concentration en AG mg/ml)

Nous avons suivi le même protocole pour doser les échantillons. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec.

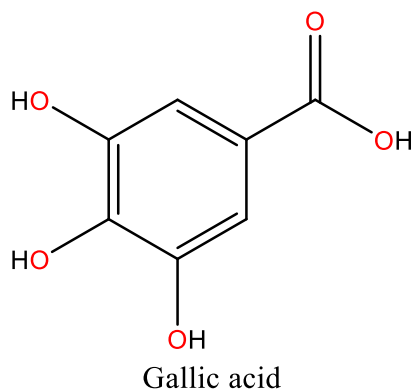
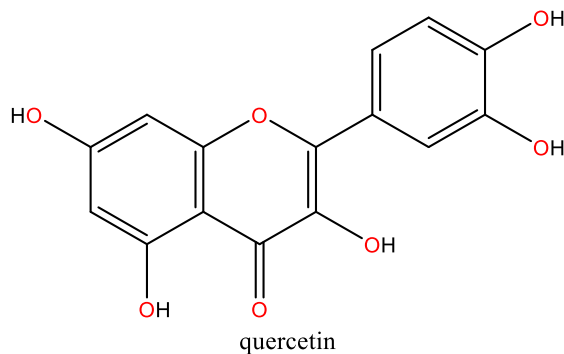


Figure 7. Structure chimique de l'acide gallique.

### II.3.2. Dosage des flavonoïdes

**Principe :** le dosage des flavonoïdes est effectué par la méthode basée sur la formation d'un complexe jaune entre Le trichlorure d'aluminium avec les flavonoïdes, il absorbe dans le visible à 430 nm. Nous avons utilisé la solution de quercitrine comme une référence.



**Figure 8. Structure chimique de la quercétine.**

**Mode opératoire:** On ajoute 500 µl de la quercitrine diluée dans le méthanol, avec différentes concentrations, à 500 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% (m/v). Après 15min d'incubation à l'abri de la lumière, l'absorbance de la solution de couleur jaunâtre est déterminée à 430 nm contre un blanc. Le même protocole était suivi pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de quercétine par gramme de l'extrait sec. (mg EQr/g ES).

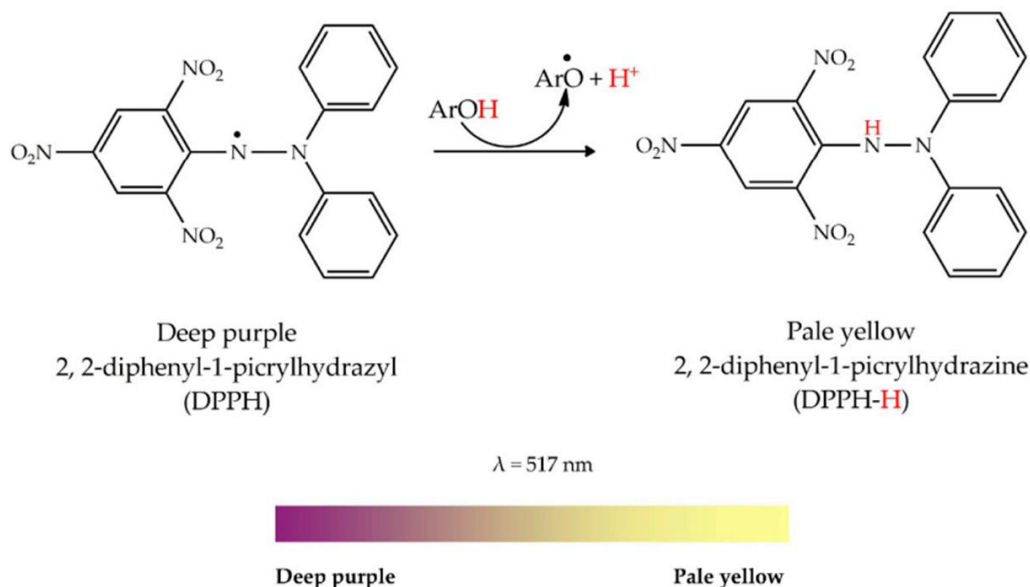
### II.3. Evaluation de L'activité antioxydante

C'est dans ce contexte que nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits des racines de *S.aspera*. L'effet antioxydant des extraits de cette plante a été évalué par spectrophotométrie en utilisant les méthodes de piégeage des radicaux libres acide 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyle (DPPH•) et 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS+•). (Sarr *et al.*, 2015)

#### II.3.1. Mesure de l'activité antioxydante par le test DPPH

**Principe :** Le DPPH est un radical libre, stable à température ambiante, qui produit une solution violette dans l'éthanol. Il est réduit en présence d'une molécule antioxydante, donnant naissance à des solutions d'éthanol non colorées. L'utilisation du DPPH offre un moyen simple et rapide d'évaluer les antioxydants. (Mensor *et al.*, 2001).

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir anti radicalaire d'un antioxydant pur ou d'un extrait antioxydant, (Noureddine *et al.*, 2015). La couleur violette de le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), se réduit en 2.2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune en présence des piègeurs de radicaux libres. (Athamena *et al.*, 2010).



**Figure 9.** Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). (Bibi-Sadeer *et al.*, 2020)

**Mode opératoire :** La détermination de l'activité anti radicalaire par le test de DPPH a été effectuée selon le Protocol suivant :

On ajoute à 0.5 mL de chaque extrait 0.5 mL de DPPH 250µM, laisse à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La diminution de l'absorbance de la solution résultante a ensuite été mesurée par spectrophotométrie à 517 nm.. Le standard utilisé est le Vitamine C.

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante :

$$I\% = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}} \times 100$$

Où

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR %)

$A_{\text{contrôle}}$  : absorbance de témoin

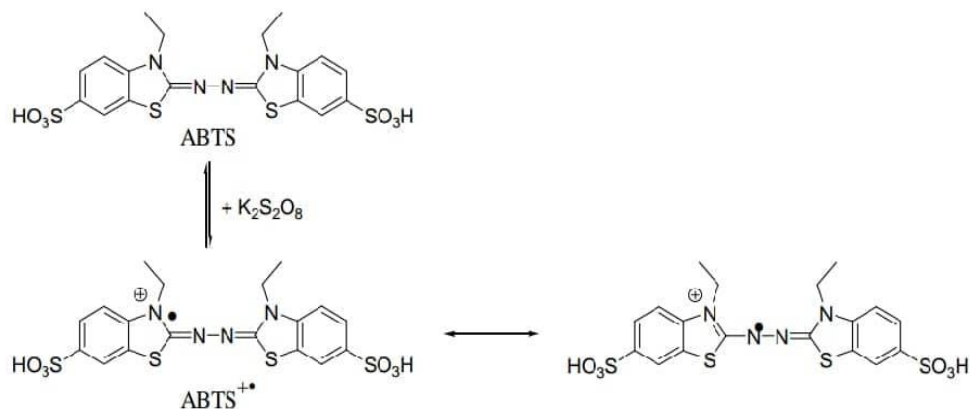
$A_{\text{échantillon}}$ : absorbance de l'échantillon

**IC50** ou concentration inhibitrice de 50 est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement en utilisant les graphes tracés.

### II.3.2. Mesure de l'activité antioxydante par le test ABTS

**Principe :** Le test ABTS est basé sur l'inhibition de l'absorbance du radical cationique ; ABTS+, qui a une longueur d'onde caractéristique à 734 nm, par des antioxydants. Dans ce test, le radical ABTS est un chromogène bleu-vert. (Murali *et al.*, 2011)

**Mode opératoire :** l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{\bullet+}$ , obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence ; on a choisi la vitamine C comme référence. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine en présence de  $H_2O_2$ ). Le radical  $ABTS^{\bullet+}$ , en contact avec un donneur de  $H^{\bullet}$  conduit à l' $ABTS^+$  et à la décoloration à 734 nm de la solution.



**Figure 10.** formation du radical cation  $ABTS^+$  à partir d'ABTS (Sarr *et al.*, 2015)

*Partie III.*

***Résultats et discussions***

## Partie III: Résultats et discussions

### I. Résultats de rendements en extraits bruts

Dans notre travail, nous avons réalisé des extractions par deux systèmes de solvants différents : acétone/ eau 7 : 3 ; Méthanol / eau 8 :2 . Pour chaque système on a effectué un fractionnement en utilisant le Dichlorométhane suivi par l'acétate d'éthyle. Les rendements de l'extraction ont été calculés par rapport au poids total de l'extrait sec que nous avons obtenu après le séchage, Les résultats obtenus à partir de ces extractions (le rendement, la couleur de l'extrait) est présenté dans le tableau et la figure ci-dessous:

Tableau 6 : Rendement d'extraction des composés phénoliques de « SA »

Les extraits		Rendements %	Couleur	Aspect
MOH/H <sub>2</sub> O	DCM	0,422	Jaune ambré	pâteux
	AC-O-E	1,194	Marron	pâteux
ACT/H <sub>2</sub> O	DCM	0,502	Rouge	pâteux
	AC-O-E	1,402	Brun	pâteux

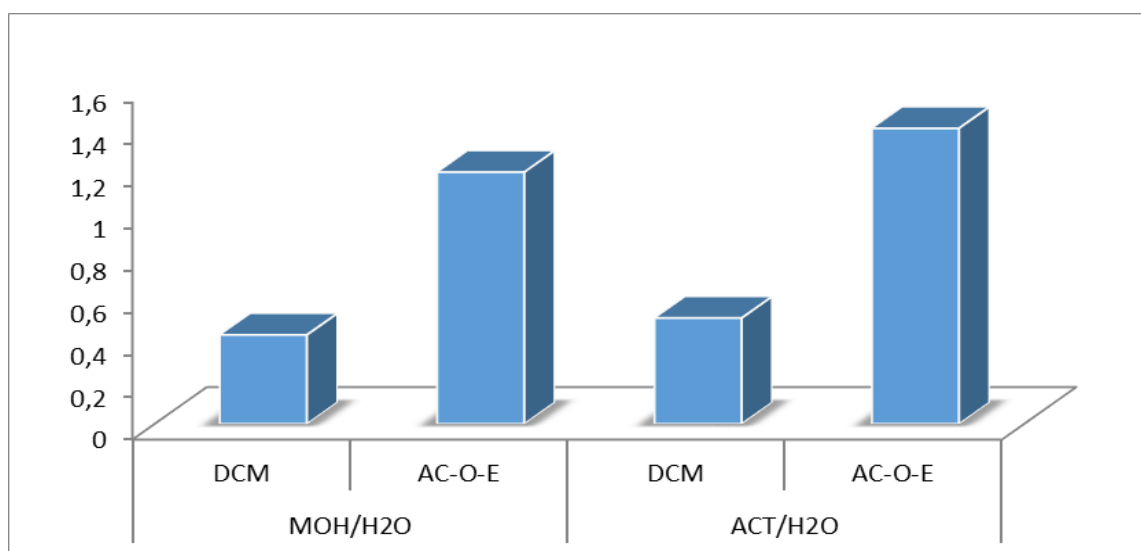


Figure 11. Histogramme montre le rendement de l'extraction des 4 extraits de « SA ».

Le calcul des rendements de différents extraits de l'espèce *S. aspera* montre que les extraits de l'acétate d'éthyle (soit méthanolique ou acétonique) présente un meilleur rendement que le dichlorométhane. Nous constatons que l'extrait hydro-acétonique AC-O-E présente le rendement le plus élevé (1.402%), suivi par l'extrait hydro-méthanolique AC-O-E (1.194%), tandis que l'extrait de dichlorométhane représente un faible rendement que ce soit hydro-méthanolique ou hydro-acétonique (0.422%, 0.502% respectivement).

Ainsi Le solvant d'extraction influence le taux d'extraction, d'autres facteurs qui influencent le rendement tels que la température et la granulométrie (la taille des particules), d'après les études de Penchev *et al* en (2010); le taux d'extraction devient meilleur en cas des particules plus petites.

## II. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

Afin de comparer les extraits préparés à partir de la plante étudiée, un dosage des polyphénols totaux, et en flavonoïdes ont été effectués.

Le choix de ces substances s'explique principalement par le fait que la majorité des propriétés biologiques et pharmacologiques des végétaux leur sont attribuées. Plusieurs études ont fait remarquer que les composés phénoliques ont des propriétés biologiques intéressantes, comme l'activité antioxydante. (De Beer *et al.*, 2002) antimicrobiennes, antivirales (Zorofchian *et al.*, 2014) et anti-inflammatoires (Zhang, Tsao ; 2016). Anticancéreuses (Roleira, *et al.*, 2015).

### II.1. Teneur totale en polyphénols

La méthode de dosage des polyphénols totaux est celle de Folin-Ciocalteu, L'acide gallique a été utilisé comme standard. Les résultats des teneurs totales en polyphénols, des extraits obtenus de l'espèce *Smilax aspera* sont représentés dans le Tableau 7 :

Tableau 7. Teneurs totales en polyphénols, des extraits obtenus de l'espèce *S. aspera*

Extraits		Teneur totale en polyphénols (mg EAG/g d'extrait sec)
MOH/H <sub>2</sub> O	DCM	57.0863 ± 3.6252
	AC-O-E	50.90646 ± 5.25079
ACT/ H <sub>2</sub> O	DCM	89.26205 ± 3,00067
	AC-O-E	43.04706 ± 0,412163

Les valeurs ont été calculées à partir des gammes d'étalonnages établis par l'acide gallique (ci-dessous), et elles sont exprimées en milligramme d'équivalent de standards par gramme d'extrait.

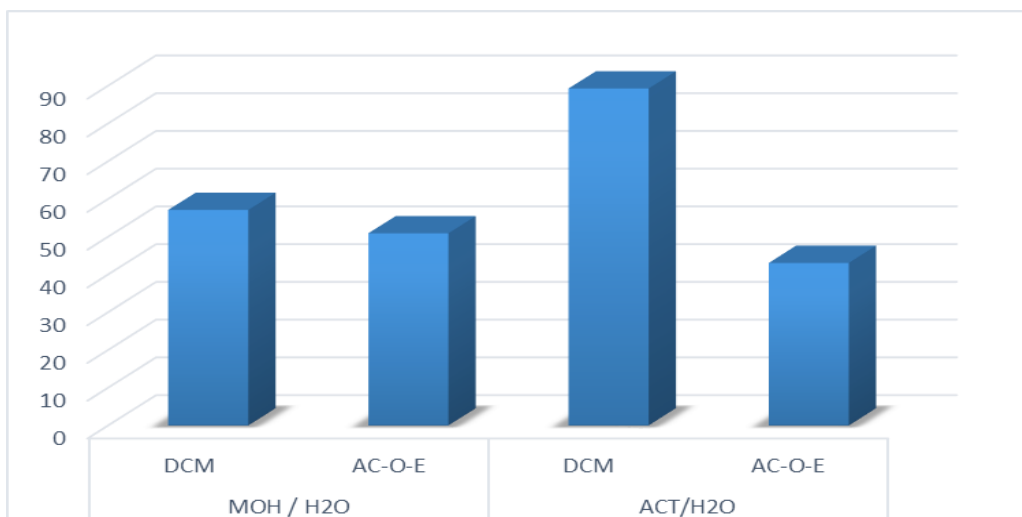


Figure 12. Histogramme de la teneur en phénols totaux des extraits de *S. aspera*.

Les extraits présentait des différences de teneur totale en fonction des polarités des solvants utilisés pour les procédés d'extraction.

Les teneurs les plus importants en polyphénols ont été observées dans l'extrait ACT/H<sub>2</sub>O dichlorométhane (89,26205 ± 3,00067 mg EAG/g d'extrait), suivis par l'extrait MOH/H<sub>2</sub>O dichlorométhane (57,0863 ± 3,6252 mg EAG/g) l'extrait MOH/H<sub>2</sub>O acétate d'éthyle (50,90646 ± 5,25079 mg EAG/g d'extrait végétal) respectivement alors que l'extrait ACT/ H<sub>2</sub>O acétate d'éthyle a donné des teneurs les plus faibles (43,04706 ± 0,412163 mg EAG/g d'extrait).

La comparaison entre les quatre extraits de la plante étudiée montre que les teneurs en polyphénols totaux sont très élevés dans l'extrait de dichlorométhane dans l'acétone/eau et l'arrangement comme suit : **ACT/DCM > MOH/DCM > MOH/ AC-O-E > ACT/ AC-O-E**. Et de cela, nous pouvons dire que le dichlorométhane est le meilleur solvant pour les polyphénols totaux dans cette espèce *S. aspera*.

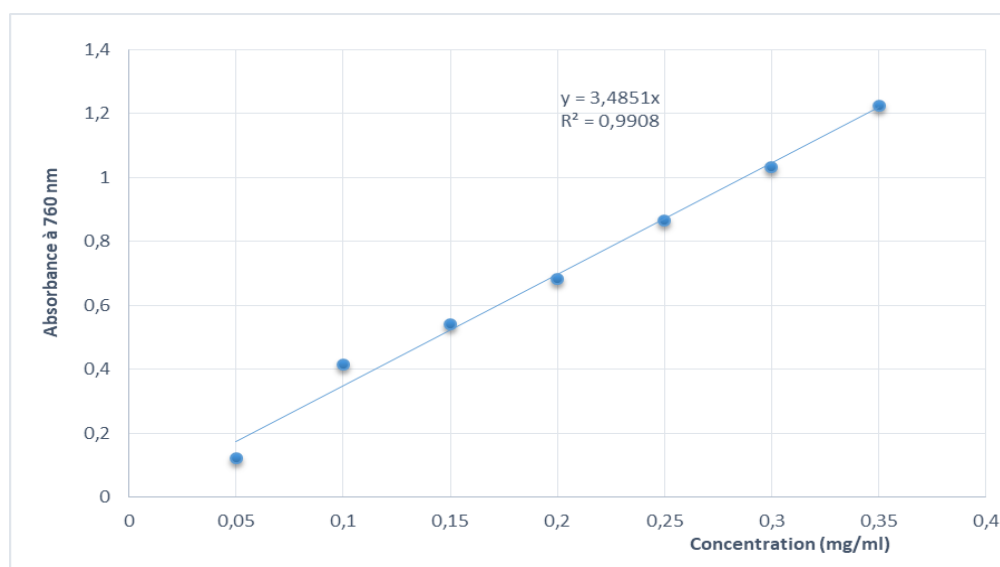


Figure 13. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg/ml).

Les résultats de notre expérience sont comparables à ceux des travaux antérieurs effectués par (Solis *et al.*, 2008), dans lesquels la teneur en polyphénol de *Smilax spinosa* MILL laisse extrait varie entre (11,60 et 71.81 mg/g poids sec), inférieure aux résultats obtenus dans notre expérience (43.04706 mg/g et 89.26205 mg/g de poids sec). Dans leur étude le contenu polyphénolique le plus élevé était dans la fraction soluble dans l'eau et plus bas dans la fraction acétate d'éthyle, contrairement à nos résultats (les plus élevés pour ACT/H2O\_DCM et les plus faibles pour ACT/H2O\_ AC-O-E).

Il est important de noter que la teneur en polyphénols des plantes peut varier au sein des espèces végétales, morphologie et les solvants ou partie de la plante utilisée.

(Solis *et al.*, 2008), en utilisant les fractions acétate d'éthyle, n-butanol et méthanol eau de *S. spinosa* MILL racine extrait, ont démontré une similitude avec nos résultats, où la racine a également été utilisée. La fraction acétate d'éthyle dans leur étude a montré la teneur en polyphénol le plus élevé suivie par n-butanol, méthanol et l'eau, à contraire notre étude nous utilisons différents solvants.

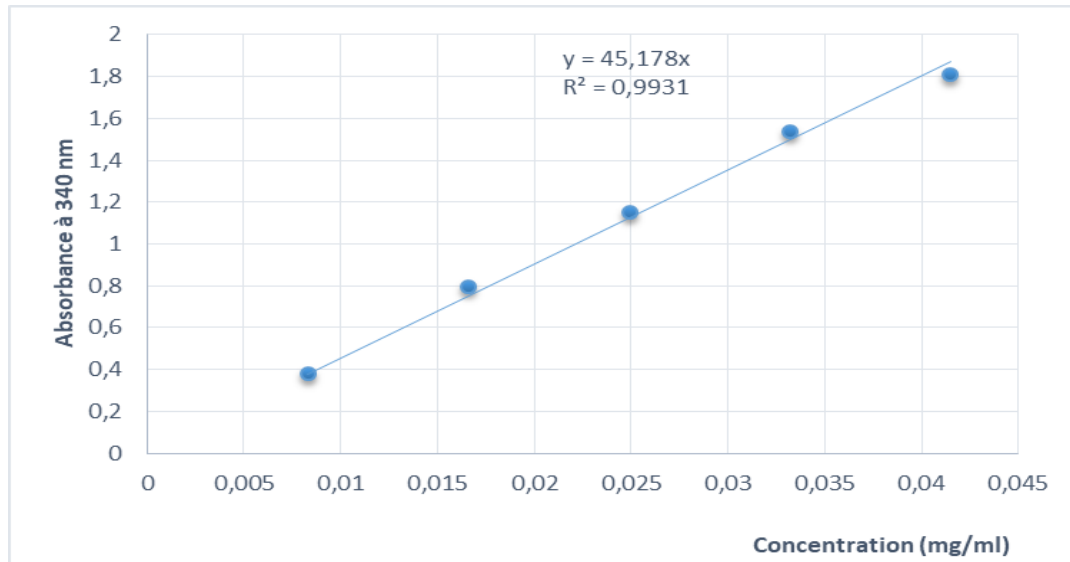
## II.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été quantifiés par la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). La teneur en flavonoïdes de l'extrait est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage. La Quercétine est utilisé comme standard (figure ci-dessous).

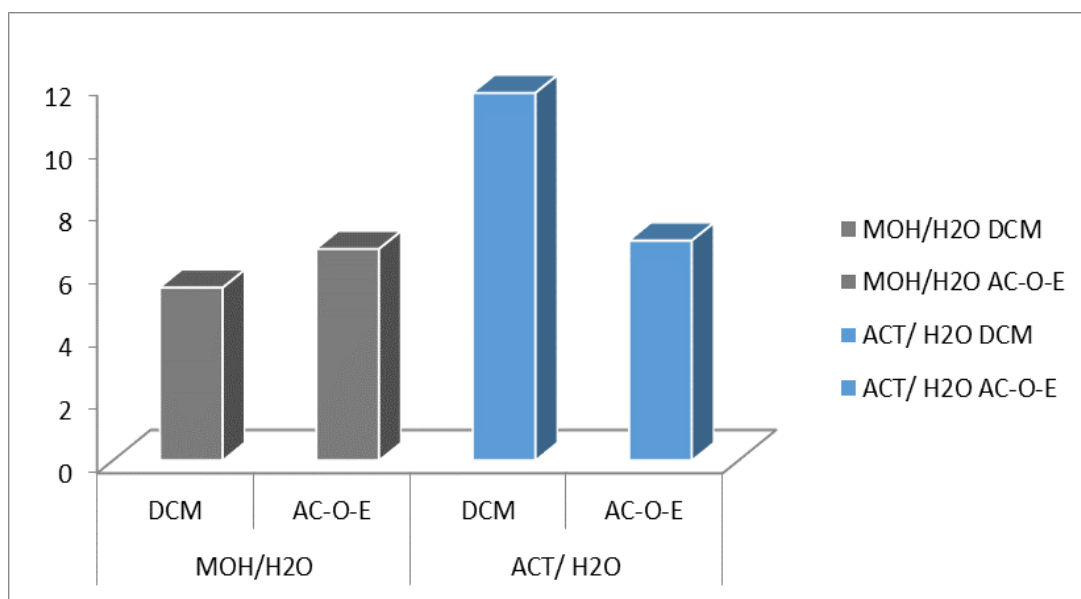
Les fractions représentant les flavonoïdes totaux (FT) dans les quatre extraits de l'espèce *S. aspera* sont déterminé en mg équivalent de Quercétine par gramme de matières sèches. Les résultats des teneurs totales en flavonoïdes, des extraits obtenus de l'espèce *S. aspera* sont représentés dans le **Tableau 8**.

**Tableau 8 : teneurs totales en flavonoïdes, des extraits obtenus de l'espèce *S. aspera***

Extraits		Teneur totale en Flavonoïdes (mg EQr/g d'extrait sec)
MOH/H <sub>2</sub> O	DCM	5.487633 ± 0.139206
	AC-O-E	6.716567 ± 0.24134
ACT/ H <sub>2</sub> O	DCM	11.67633 ± 0.233396
	AC-O-E	6.9833 ± 0,142009



**Figure 14. Courbe d'étalonnage à la quercétine.**



**Figure 15. Histogramme de la teneur en flavonoïdes des extraits de *S. aspera***

Les teneurs les plus élevées en flavonoïdes ont été observées dans l'extrait ACT/ H<sub>2</sub>O dichlorométhane ( $11.67633 \pm 0,233396$  mg EQR/g d'extrait sec), l'extrait ACT/H<sub>2</sub>O acétate d'éthyle ( $6.9833 \pm 0,142009$  mg EQR/g d'extrait sec), suivis par l'extrait de MOH/H<sub>2</sub>O acétate d'éthyle ( $6.716567 \pm 0,24134$  mg EC/g d'extrait végétal) .tandis que l'extrait MOH/H<sub>2</sub>O dichlorométhane a donné des teneurs les plus faibles ( $5.487633 \pm 0.139206$  mg EQR/g).

En comparant les quatre résultats obtenus à partir du tableau, nous disons que le meilleur solvant de flavonoïdes totaux dans l'espèce *S. aspera* est : Dichlorométhane de l'extrait (acétone/H<sub>2</sub>O).

**ACT/DCM > ACT/ AC-O-E > MOH/ AC-O-E > MOH/ DCM**

Les résultats sont comparables à ceux des travaux antérieurs effectués par (Solis *et al.*, 2008), qui ont démontré que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait de racine de *S. spinosa* MILL variait entre 31,27 mg/g de poids sec et 45,27 mg/g de poids sec, ce qui est supérieur aux résultats obtenus dans notre expérience (11,67633 mg/g et 5,487633 mg/g de poids sec). L'acétate d'éthyle a montré la plus haute teneur en flavonoïdes, tandis que L'eau a eu la plus faible, contrairement à notre expérience. Il est important de noter que la teneur en flavonoïdes des plantes peut également varier au sein des espèces végétales et de la morphologie ou de la partie végétale utilisée et les solvants utilisés.

### **III. Etude du pouvoir antioxydante**

#### **III.1. Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH**

L'activité antioxydante des extraits a été déterminée à partir des IC 50, qui correspondent à la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente en fonction de la concentration de l'extrait. Plus la valeur de l'IC50 est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. Ces indices sont calculés comme suit:

$$I\% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100\%$$

Où :

$A_{\text{blanc}}$  : absorbance du blanc

$A_{\text{échantillon}}$  : absorbance de l'échantillon

IC50 est calculée sur la base de la courbe du pourcentage d'inhibition.

Les résultats de cette étude sont illustrés dans les figures suivantes :

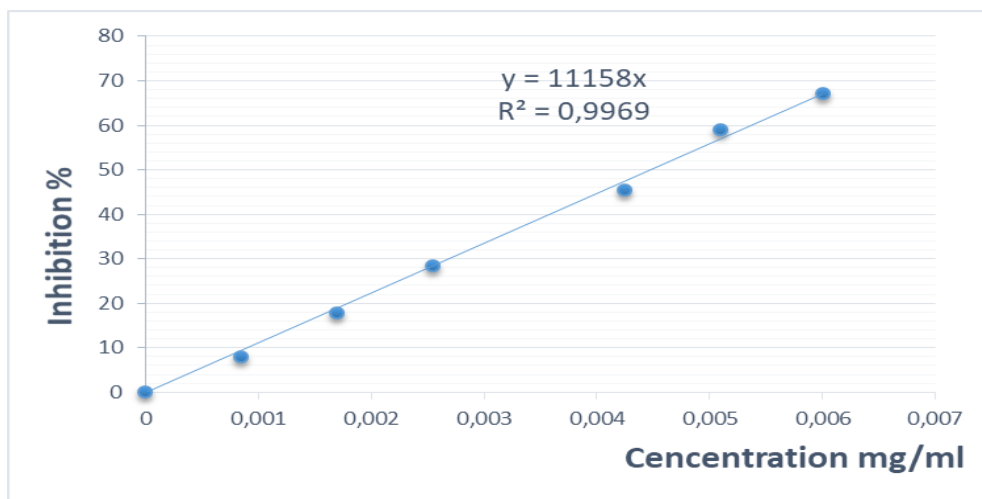


Figure 16. Représentation graphique du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) de vitamine C

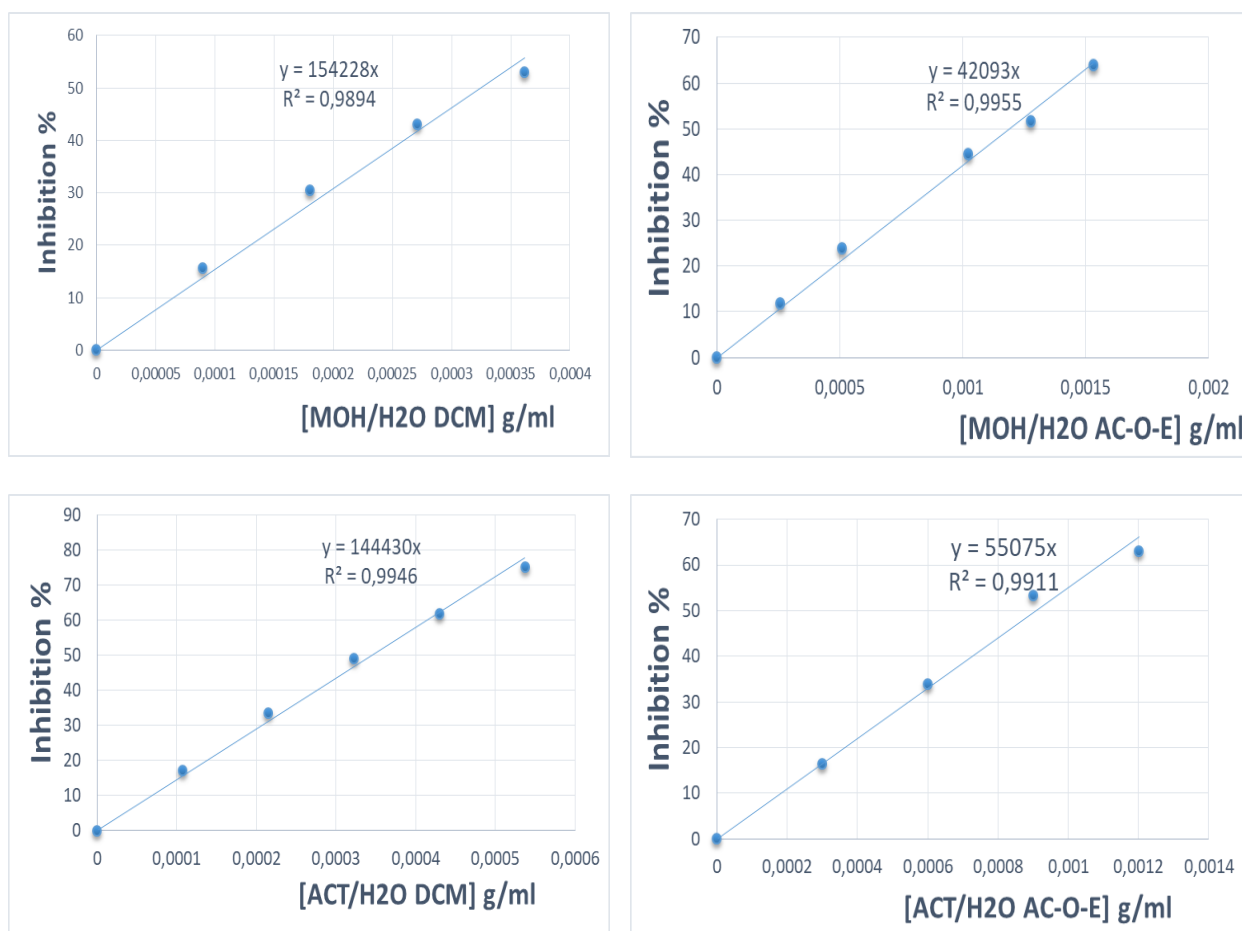
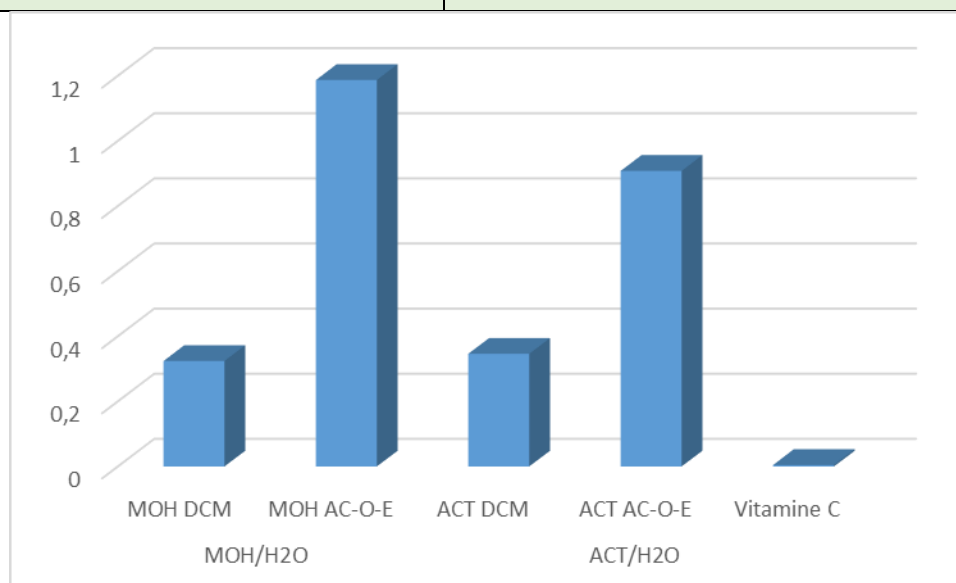


Figure 17. Représentations graphiques du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) des extraits

**Tableau 9. Les valeurs d'IC50 du test DPPH de chaque extrait**

Extraits		IC50 (mg/ml)
MOH/H <sub>2</sub> O	DCM	0.324 ± 0.0166
	AC-O-E	1.187 ± 0.487
ACT/ H <sub>2</sub> O	DCM	0.3461 ± 0.1773
	AC-O-E	0.9078 ± 0.0738
Vitamine C		0.004481 ± 0.2692



**Figure 18. Classement croissant des valeurs IC50 des extraits et vit C.**

De ces résultats d'inhibition de DPPH, nous constatons que tous les extraits ont une activité anti-radicalaire à dose importants. Les valeurs d'IC50 des extraits et de Vitamine C sont représentées dans l'ordre suivant :

**Vitamine C < MOH/DCM < ACT/DCM < ACT/AC-O-E < MOH/AC-O-E.**

Les fractions de DCM de deux systèmes méthanol/eau et acétone/eau ; donne la meilleure pouvoir antioxydantes avec des IC50 de 0.324 mg/ml et 0.3461 mg/ml respectivement ; tandis que les résultats de l'AC-O-E de deux systèmes montrent qu'ils ont un pouvoir antioxydante le plus faible (1.187 mg/ml et mg/ml). On peut conclure que le pouvoir antioxydante est relatif à la polarité des solvants, pour que la polarité de DCM et l'AC-O-E soit de 0.49 et 0.58 respectivement. En comparaison avec l'antioxydant standard (acide ascorbique) ; les extraits bruts testés sont moins actif.

Peu d'études ont été faites sur cette plante *Smilax aspera*, la plupart de ces études portaient sur la partie aérienne de celle-ci, mais nous n'avons pas trouvé des études sur ses racines.

Selmi *et al.*, 2019 ont réalisé des études sur l'arbuste de *Smilax aspera* et testé le pouvoir antioxydante par le test de DPPH, et ont obtenu une valeur d'IC50 (= 0.224 g/ml) supérieur au nôtre.

Si on compare nos résultats de *S. aspera* avec les résultats de l'étude menée par Mandal *et al.*, 2008 sur les racine de l'espèce *Smilax chinensis* (dans laquelle ils ont fait l'extraction avec le méthanol, l'acétate d'éthyle et le chloroforme) nous constatons que le pouvoir antioxydante de l'espece *S. chinensis* est plus élevé avec IC50 = 0.190 mg/mL de méthanol et 0.079 mg/mL de l'acétate d'éthyle.

### III.2. Évaluation de l'activité antioxydante par le test ABTS

La mesure de l'absorbance effectuée par spectrophotométrie à 517 nm, nous avons calculé l'inhibition moyenne à partir les valeurs de l'absorbance, ensuite nous avons tracé la courbe d'étalonnage de la vitamine C (voir figure 17)

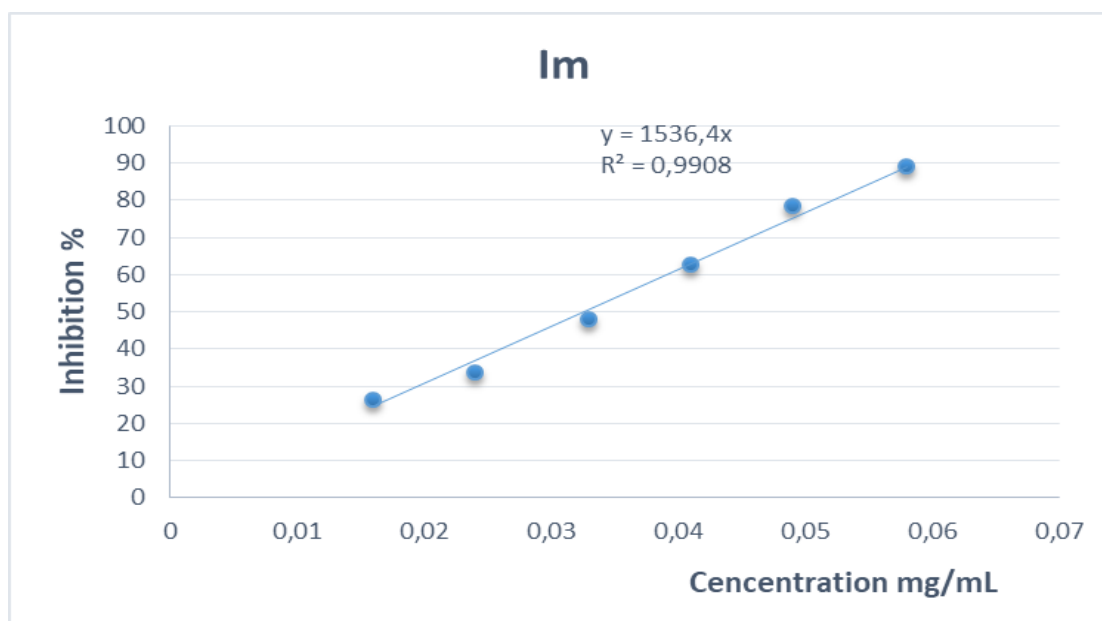


Figure 19. Représentation graphique du taux d'inhibition d'ABTS.

Les résultats de l'activité antioxydante par le test de l'ABTS sont exprimés par VCEAC g de l'extrait sec /g equivalent de vit c. Qu'on peut définir comme la quantité de vitamine C qui présente le même pouvoir antioxydante d'un gramme de l'extrait.

Extrait		concentration	VCEAC	Interprétation
MOH/ H <sub>2</sub> O	DCM	0.00016	0.221753±0.003909	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0.221g de vitc
	AC-O-E	0.00016	0.239776±0.003746	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0.239g de vitc
ACT/ H <sub>2</sub> O	DCM	0.00016	0.234359±0.006612	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0.234g de vitc
	AC-O-E	0.00016	0.207658±0.004087	1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0.207g de vitc

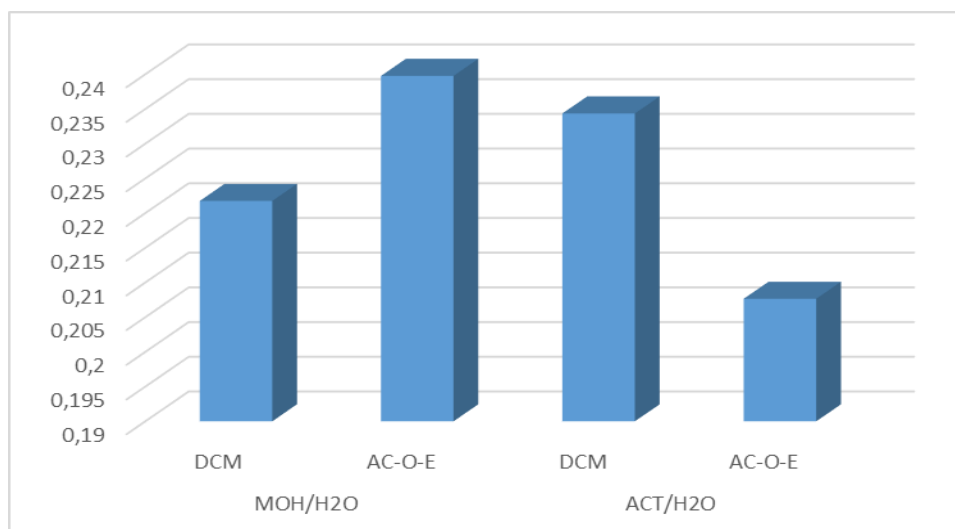


Figure 20. Histogramme de la teneur en flavonoïdes des extraits de *S. aspera*

Le VCEAC les plus élevées en ABTS ont été observées dans l'extrait MOH/ H<sub>2</sub>O Acétate d'éthyle (**0.239776± 0.003746**) de concentration 0.00016mg/ml c'est 1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de 0.239g de vit c, l'extrait ACT/H<sub>2</sub>O DCM (**0.234359±0.006612**), suivis par l'extrait de MOH/H<sub>2</sub>O DCM (**0.221753±0.003909**) Respectivement tandis que l'extrait ACT/H<sub>2</sub>O Acétate d'éthyle a donné des VCEAC les plus faibles.

En comparant les quatre résultats obtenus à partir du tableau, **MOH/ AC-O-E > ACT/DCM > MOH/ DCM > ACT/AC-O-E**

les résultats de l'étude menée par Murali *et al.*, 2010 sur les racine de l'espèce *Smilax zeylanica* L montre que le pouvoir antioxydante de *Smilax Zeylanica* L est de  $IC_{50} = 3.0 \pm 0.033$  ug/mL (pour l'extrait de méthanol).

Cela s'explique par la différence de l'espèce, aussi par les différentes factures d'influences telles que les solvants ou la région de récolte, et les méthodes d'extraction utilisées.

# *Conclusion*

La phytothérapie est à une grande importance dans le domaine de la santé publique, notamment dans les pays en voie de développement. De nos jours les plantes médicinales entrent dans la composition de compléments alimentaires, de médicaments.

Dans ce travail, nous avons mis en évidence les teneurs en polyphénols totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydante des extraits hydro-méthanolique et hydro-acétonique des tourteaux d'hexane de *Smilax aspera*. Pour une extraction efficace nous avons utilisé la technique d'extraction par macération 24h suivie par un fractionnement par extraction liquide liquide en utilisant l'acétate d'éthyl et le dichlorométhane comme solvants.

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que :

- La teneur en flavonoïdes ; la valeur la plus élevée a été remarquée pour l'extrait de ACT/H<sub>2</sub>O fraction de DCM ( $11.69 \pm 0.233$  mg/g),
- De même pour les composés phénoliques, l'extrait de ACT/H<sub>2</sub>O fraction de DCM ( $89.26 \pm 3.00067$ ) est le plus riche.

L'activité antioxydante de différents extraits polaires de *S. aspera* a été évaluée par deux méthodes : Piégeage des radicaux libres DPPH, et Piégeage des radicaux ABTS•+

En ce qui concerne le piégeage des radicaux DPPH l'activité la plus élevée est obtenue avec l'extrait de MOH/H<sub>2</sub>O DCM (IC<sub>50</sub> :  $0.324 \pm 0.0166$  mg/mL).

Dans le cas du test ABTS, les résultats ont été presque proches mais avec des valeurs puissantes, la meilleure c'est l'extrait MOH/H<sub>2</sub>O fraction de AC-O-E (1g de l'extrait a un pouvoir antioxydant équivalent de  $0.239776 \pm 0.003746$  g de vitamine C).

Après la réalisation de ce travail, on peut conclure que les racines de *Smilax aspera* possèdent un pouvoir antioxydant remarquable et puissant et Comme perspectives d'avenir, d'autres activités biologiques sont nécessaires, comme les activités antimicrobienne, anti-inflammatoire et aussi des activités anticancéreuses, sachant que cette plante est utilisée dans notre région dans les recettes traditionnelles pour le traitement de cancer.

# *Références Bibliographiques*

(A)

Abd El-Ghani, M. M. J. A., & America, B. J. o. N. (2016). Traditional medicinal plants of Nigeria: an overview. *7*(5), 220-247.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. J. R. d. r. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *74*(7), 636-643.

Amado, P. A., Ferraz, V., da Silva, D. B., Carollo, C. A., Castro, A. H. F., & Alves Rodrigues dos Santos Lima, L. J. N. p. r. (2018). Chemical composition, antioxidant and cytotoxic activities of extracts from the leaves of *Smilax brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae). *32*(5), 610-615.

Asen, S., Stewart, R., & Norris, K. J. p. (1972). Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *11*(3), 1139-1144.

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese science journal*, *11*(1), 69-81.

(B)

Bancuta, O., Chilian, A., Bancuta, I., Ion, R., Setnescu, R., Setnescu, T., & Gheboianu, A. J. R. J. P. (2016). Improvement of spectrophotometric method for determination of phenolic compounds by statistical investigations. *61*(7-8), 1255-1264.

Baranac, J. M., Petranović, N. A., Dimitrić-Marković, J. M. J. J. o. A., & Chemistry, F. (1996). Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. *44*(5), 1333-1336.

Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, *9*(8), 709.

Bendich, A., & Olson, J. A. J. T. F. j. (1989). Biological actions of carotenoids 1. *3*(8), 1927-1932.

Betteridge, D. J. J. M. (2000). What is oxidative stress? , *49*(2), 3-8.

Bhatta, S., Joshi, L. R., Kunwar, R. M., Bussmann, R. W., & Paniagua-Zambrana, N. Y. (2020). *Smilax aspera* L. *Smilax ovalifolia* Roxb. Smilacaceae. In R. M. Kunwar, H. Sher, & R. W. Bussmann (Eds.), *Ethnobotany of the Himalayas* (pp. 1-11). Cham: Springer International Publishing.

Boizot, N., & Charpentier, J.-P. J. C. d. T. d. I. I. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. 79-82.

Boubetra, K., Azizi, N., Amirouche, N., Bouyaiche, M., Zanndouche, O., Ouamrane, L., . . . Amirouche, R. J. A. d. I. R. F. e. A. (2022). Caractérisation caryologique de *Smilax aspera* L.(Smilacaceae), espèce lianescente de la forêt algérienne. *12*(1), 43-50.

(C)

Challal, A., Tighermine, L. (2011) Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* L.

Chen, K., Suh, J., Carr, A. C., Morrow, J. D., Zeind, J., Frei, B. J. A. j. o. p.-e., & metabolism. (2000). Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *279*(6), E1406-E1412.

Chen, W., & Hu, Q. J. M. (2021). Secondary metabolites of *Purpureocillium lilacinum*. *27*(1), 18.

Cherifi, L., & Hami, A. (2017). *Activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de deux plantes: Pulicaria odora et Smilax aspera de la région de Tizi-Ouzou.* Université Mouloud Mammeri,

(D)

De Beer, D., Joubert, E., Gelderblom, W., Manley, M. J. S. A. J. o. E., & Viticulture. (2002). Phenolic compounds: a review of their possible role as in vivo antioxidants of wine. *23*(2), 48-61.

Delgado-Pelayo, R., Hornero-Méndez, D. J. J. o. a., & chemistry, f. (2012). Identification and quantitative analysis of carotenoids and their esters from sarsaparilla (*Smilax aspera* L.) berries. *60*(33), 8225-8232.

Durand, G., Polidori, A., & Pucci, B. J. I. A. C. (2003). La vectorisation de pièges à radicaux libres. 26.

(E)

Edina, R. H. L. (2016). *ETUDES CHIMIQUES ET EVALUATION DE L'ACTIVITE ANALGESIQUE DE L'ESPECE SMILAX ANCEPS (SMILACACEAE)*. (these de Master II), Université d'Antananarivo

Erlund, I. J. N. R. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. 24(10), 851-874.

Evans, W. J. J. T. A. J. O. C. N. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. 72(2), 647S-652S.

(G)

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. J. P. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. 13(2), 118-129.

Ghédira, K., & Goetz, P. (2016). Salsepareille *Smilax sarsaparilla* L.(syn. *Smilax aspera* L.)[Smilacaceae]. In: Lavoisier.

Griveau, J. F., & Le Lannou, D. (1995). Radicaux libres et spermatozoïdes humains: physiologie et physiopathologie. Andrologie, 5(3), 369-381.

(H)

Habibi, P., Soccol, C. R., & Grossi-de-Sa, M. F. J. H. R. (2018). Hairy root-mediated biotransformation: recent advances and exciting prospects. 185-211.

Hardman, W. E. (2014). Diet components can suppress inflammation and reduce cancer risk. Nutrition research and practice, 8(3), 233-240.

Havsteen, B. H. J. P., & therapeutics. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. 96(2-3), 67-202.

Hernández-Ledesma, B., Dávalos, A., Bartolomé, B., Amigo, L. J. J. o. A., & Chemistry, F. (2005). Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *53*(3), 588-593.

Hollman, P., Katan, M. J. B., & Pharmacotherapy. (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *51*(8), 305-310.

(J)

Jomova, K., Valko, M. J. O. S. i. V., & Signaling, I. M. A. o. C. (2011). Free Radicals, Signal Transduction, and Human Disease. *17*, 95.

(K)

Khare, C. P. (2007). *Smilax aspera* Linn. In C. P. Khare (Ed.), *Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary* (pp. 1-1). New York, NY: Springer New York.

Kim, Y., Keogh, J. B., & Clifton, P. M. J. N. (2016). Polyphenols and glycemic control. *8*(1), 17.

Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*. Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS,

Kunwar, A., & Priyadarsini, K. I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, *1*(2).

(L)

Lattanzio, V. J. N. P. (2013). Phenolic Compounds: Introduction 50. 1543-1580.

Laura, A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. In *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* (pp. 253-271): Elsevier.

Leverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants?. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, *44*(5), 219-224.

Lovato, A., & D'Antuono, L. (2001). *Germination Trials and Domestication Potential of Three Native Species with Edible Sprouts: Ruscus aculeatus L., Tamus communis L. and Smilax aspera L.* Paper presented at the International Symposium on Sustainable Use of Plant Biodiversity to Promote New Opportunities for Horticultural Production 598.

(M)

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques).

Maga, J. A., Katz, I. J. C. R. i. F. S., & Nutrition. (1978). Simple phenol and phenolic compounds in food flavor. *10*(4), 323-372.

Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. J. N., & Technology. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). (9), 35.

Mahomoodally, M. F. J. E.-B. C., & Medicine, A. (2013). Traditional medicines in Africa: an appraisal of ten potent African medicinal plants. *2013*.

Mandal, S. C., Jana, G. K., Das, S., Sahu, R., Venkidesh, R., & Dewanjee, S. (2008). Hepatoprotective and antioxidant activities of *Smilax chinensis L.* root. *Pharmacologyonline*, 2, 529-535.

Martins, A. R., Soares, M. K., Redher, V. L., Bajay, M. M., Villela, P., Zucchi, M. I., & Appezato-da-Glória, B. (2014). Use of anatomical, chemical, and molecular genetic characteristics in the quality control of medicinal species: A case study of sarsaparilla (*Smilax spp.*). *Economic botany*, 68(4), 410-425.

Meister, A. J. B. p. (1992). On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *44*(10), 1905-1915.

Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. d., Coube, C. S., & Leitão, S. G. J. P. r. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *15*(2), 127-130.

Mifsud, S. (2021) *Smilax aspera* profile created on Nov-2005. Retrieved from MaltaWildPlants.com on 19-Apr-2022)

Murali, A., Ashok, P., & Madhavan, V. J. I. J. P. P. S. (2011). In vitro antioxidant activity and HPTLC studies on the roots and rhizomes of *Smilax zeylanica* L.(Smilacaceae). 3(1), 192-195.

(N)

Noor, A., Al Murad, M., Chitra, A. J., Babu, S. N., & Govindarajan, S. J. F. B. (2022). Alginate based encapsulation of polyphenols of Piper betel leaves: Development, stability, bio-accessibility and biological activities. 47, 101715.

Noureddine, A., Saidat, B., Bakchiche, B., Maatallah, M. J. I. J. o. I., & Studies, A. (2015). Etude comparative des indices d'activité antioxydante des essais du Cérium et du DPPH: Application sur trois plantes médicinales locales [Comparative study of antioxidant activity index by the tests of cerium and DPPH: Application on three local medicinal plants]. 13(3), 681.

(P)

Penchev, P., Angelov, G., & Condoret, J.-S. J. R. d. g. i. (2010). Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). 5, 115-123.

Powers, S. K., Deruisseau, K. C., Quindry, J., & Hamilton, K. L. J. J. o. s. s. (2004). Dietary antioxidants and exercise. 22(1), 81-94.

(R)

Roleira, F. M., Tavares-da-Silva, E. J., Varela, C. L., Costa, S. C., Silva, T., Garrido, J., & Borges, F. J. F. C. (2015). Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. 183, 235-258.

(S)

Solis, S. Y., Lay, H. L., & Yen, T. B. (2012). Antioxidant Activity of *Smilax spinosa* Mill. Root Extract.

Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., . . . Sciences, C. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). 9(3), 1263-1269.

Solis, S. Y., Lay, H. L., & Yen, T. B. (2012). Antioxidant Activity of *Smilax spinosa* Mill. Root Extract.

Selmi .H., Dhifallah .A ., Hammami. O., Jedidi. S et Rouissi. H ., (2019). Propriétés chimiques, activité antioxydante et fermentation ruminale de *Calycotum villosa*, *Smilax aspera* et *Phillyrealatifolia* en vue de leurs utilisation en alimentation animale. Revue Agriculture. 10(1) : 67 – 74. Article.

Sies, H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. The American journal of medicine, 91(3), S31-S38.

Stahl, W., & Sies, H. J. M. a. o. m. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. 24(6), 345-351.

(T)

Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. J. M. (2017). Hydroxycinnamic acids and their derivatives: Cosmeceutical significance, challenges and future perspectives, a review. 22(2), 281.

Tiwari, R., Rana, C. J. I. J. o. E. R., & Science, G. (2015). Plant secondary metabolites: a review. 3(5), 661-670.

Tomás-Barberán, F. A., Clifford, M. N. J. J. o. t. S. o. F., & Agriculture. (2000). Dietary hydroxybenzoic acid derivatives—nature, occurrence and dietary burden. 80(7), 1024-1032.

(X)

Xu, Z., & Chang, L. (2017). Smilacaceae. In *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3* (pp. 865-871): Springer.

(Y)

Yıldız, Ö. Ş., Ayanoğlu, F., Bahadırılı, N. P., Türkmen, M. J. J. o. A., Food, & Environmental Sciences, J. (2019). DETERMINATION OF SOME MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SARSAPARILLA (*Smilax aspera* L. and *Smilax excelsa* L.). 73(1), 26-35.

(Z)

Zhang, H., & Tsao, R. J. C. O. i. F. S. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. 8, 33-42.

Zorofchian Moghadamtousi, S., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. J. B. r. i. (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. 2014.