

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE 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

**Etude de l'activité antioxydante des extraits
phénoliques de l'espèce *Globularia alypum L.***

Présenté par :

- M^{elle} Ghouini Sabrina.
- M^{elle} Kada Amina Yasmine.
- M^{elle} Oulad boubou Koubiba.

Devant le jury composé de :

Président(e) : M ^{me} Zakhrouf Zahra	M.A.A
Rapporteur : M ^{me} Kraza Lamia	M.A.A
Examinatrice : M ^{me} Khacheba Ihen	M.C.A

Soutenu publiquement le : 01.07.2019.

Dédicace

Avec un très grand honneur je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents que Dieu les protège ;

Mes chers frères : Atallah , Nouredine ;

Mes chères sœurs : Djihane , Fouda , Itham , Siham , Merieme

*Mon cher frère Abd errahmane que Dieu le protège pour son soutien et son
encouragement ;*

*Tous les Membres de ma familles Kada et Ben ferhat ; à mes grandes
mère (mama badra Tathi ; mama skondia Foudaïsi) ; à mes grands père
(Ben Hamza et Nouredine « Allah yarehmo »)*

*A tous mes amies : Chatta A ; Bendjemai M ; Dacudi Kh ; Lachekhem
S.*

A ma promotion de master 2018-2019

A tous ceux qui me sont chers .

-Ashamdo S'allah-

Kada Amina Yasmine

dédicace

*C'est grâce à dieu (الله) de m'avoir aidé pour accomplir ce modeste travail
À mes tendres parents qu'ils n'ont pas hésité d'offrir toutes les possibilités
quelque soit ses natures et dans toutes les conditions, pour, m'avoir encouragé et
conseillé*

*À mes chers frères Abdelskader, Saffedine, Yacine, Zakaria et ma sœur
Hayet*

À mes petits neveux : Abdeldjessil, Chehinaze

À mes amie : Herra, Aicha, Hiba

À ma chère encadreur Kraza Lamia

À ma promotion Master Biochimie appliquée

*À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université pour
m'avoir poussé à continuer ainsi que tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

Et à tous les êtres chers à mes yeux que je n'est pas évoqués.

Ghouini Sabrina

Dédicaces

À l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À l'esprit de mon père Allah yarhmo ;

À ma très cher Mère, en qui j'ai trouvé le soutien immense dans les études et la vie, espérant que ce travail soit pour eux le témoignage de ma profonde affection ;

À mes sœurs: Lohra , Mislana ,et Linebe

mes frères: Mohamad , Cherif Ali ,L'arbi.

À toute ma famille : Mabroka , Fossin , Ahmad et chacun par son nom.

À tous mes amies et collègues

Ouled boubou Koubaiba.

Remerciement

Tout d'abord je tiens surtout à adresser mes plus vifs remerciements à mon promotrice Mm. Kraza, Maître de conférences qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.

Nos remerciements vont aussi à Mr Berramdane . d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Nous remercions également Mme Khacheba J. d'avoir accepté de juger ce travail.

Dans oublier les membres du laboratoire de biologie pour leur disponibilité, leur sympathie et leur gentillesse, ainsi que tous les enseignants qui ont contribué a notre formation, qu'ils retrouvent à travers ce mémoire le fruit de leurs longues années de travail.

Liste des abréviations

Ac Et : Acétate d'Éthyle

DPPH :1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

EAG :En Equivalent d'Acide Gallique

EC₅₀ :Concentration en antioxydant capable de réduire 50%du radical DPPH

EQ :Equivalent de Quercétine

ERO : Espèce réactives de l'oxygène

MS :Matière sèche

PPM :phosphomolybda

UV :ultra- violet

HO• :Radical hydroxyle

VCEAC :Vitamin C Equivalent Antioxydant Capacity

V/V :volume/volume

Liste des figures

Figure 01: Classification de l'espèce <i>Globularia alypum L</i>	02
Figure 02: Interrelation entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires...	04
Figure03 : Production de radicaux libres lors de la phagocytose d'une bactérie.....	09
Figure04 : neutralisation d'un radical libre par un antyoxydant.	09
Figure05 : Rôle des radicaux libres dans la communication cellulaire.....	10
Figure06 : différentes étapes d'extraction hydro-alcoolique de la plante <i>Globularia alypum L</i>	14
Figure07 : les étapes d'extraction aqueuse de la plante <i>Globularia alypum L</i>	15
Figure 08 : les différentes étapes de l'extraction solide-liquide par des solvants à polarité croissante	17
Figure09 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	20
Figure 10 : Histogramme présente des pourcentages des rendements des extraits de l'espèce <i>Globularia alypum L</i>	23
Figure 11 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	24
Figure 12 : courbe d'étalonnage de quercitrine.....	25
Figure 13: Graphes représentes la variation de pourcentages d'inhibitions (PI%)en fonction des concentrations des antioxydants standards (vitamine C, Quercétine, Acide gallique).....	27
Figure14 : courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration des extraits d'espèce <i>Globularia alypum L</i>	28
Figure 15: Histogramme classement croissant des valeurs EC ₅₀ (extraits et standards).....	30
Figure16 : courbes représentants la variation du l'absorbance en fonction de la concentration d'antioxydant standard (vitamine C, Quercétine, acide gallique).....	31
Figure 17 : courbe représentant la variation du l'absorbance en fonction de la concentration d'extraits de l'espèce <i>Globularia alypum L</i>	32

Liste des tableaux

Tableau01 : classification des métabolites secondaires.....	5
Tableau02 : Localisation produits du métabolisme secondaires(classification).....	7
Tableau03 : Structure des squelettes des polyphénols.....	8
Tableau04 : Rendement, aspect et couleur des différents extraits étudiés	22
Tableaux 05 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de la plante <i>Globularia alypum L.</i>	24
Tableaux 06 : teneur des flavonoïdes (mg/g) de la poudre sèche des extraits utilisés.....	26
Tableaux 07 : Les valeurs d'EC ₅₀ des différents extraits et les antioxydants standards	29
Tableaux 08 : Les valeurs VCEAC des différents extraits et les antioxydants standards.....	33

Table de matière

Dédicaces

Remerciements

Liste des Abréviations

Liste des figures

Introduction..... 01

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

I-1-Présentation de la plante..... 02

I-1-1-Description botanique..... 02

I-1-2- Classification..... 02

I-1-3- Nom vernaculaires..... 02

I-1-4- Répartition géographique 03

I-1-5- Principe actif 03

I-1-6- Utilisation médicinale 03

I-2-Aperçu sur les principes actifs des plantes médicinales 03

I-3-Les métabolites primaires 03

I-4-Les métabolites secondaires 04

I-4-1- classification des métabolites secondaires..... 04

I-4-2- Localisation des métabolites secondaires..... 07

I-4-3-Classification des composés phénoliques..... 07

I-5- Le stress oxydant 08

I-5-1- Définition d'un radical libre 08

I-5-2- Les types des radicaux libres 09

I-5-2-1-Les espèces réactives dérivées de l'oxygène 09

I-5-2-2-Les espèces libres non oxygénées 09

I-6 - Activités antioxydantes..... 11

I-6-1- Définition 11

I-6-2- Les antioxydants 11

I-6-2-1-Les antioxydants primaires 11

I-6-2-2-Les antioxydants secondaires 11

I-6-3-Utilisations des antioxydants..... 12

Chapitre II : Matériels et méthodes

II-1-Matériel végétal	13
II-1-1- Collecte et conservation.....	13
II-2- Préparation des extraits polyphénolique	13
II-2-1- Extraction hydro-alcoolique	13
II-2-2- Extraction aqueuse	15
II-2-3- Extraction par des solvants à polarité croissante	16
II-3- Rendement de l'extraction exprimé en (%)	18
II-4-Dosage des composés phénoliques	18
II-4-1-Dosage des polyphénols totaux	18
II-4-1-1- Principe.....	18
II-4-1-2- Procédure expérimentale	18
II-4-2-Dosage des flavonoïdes	19
II-4-2-1- Principe	19
II-4-2-2- Procédure expérimentale	19
II-5- Evaluation de l'activité antioxydante	19
II-5-1- Test de DPPH	19
II-5-1-1- Principe de la méthode	19
II-5-1-2-Procédure expérimentale	20
II-5-2- Test de phosphomolybdate	20
II-5-2-1- Principe de la méthode	20
II-5-2-2-Procédure expérimentale	21

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Analyse des extraits	22
III-1-1- Rendement des extraits	22
III-1-2-Dosage des phénols totaux.....	23
III-1-3-Dosage des flavonoïdes.....	25
III-2-Evaluation de l'activité antioxydante	27
III-2-1-résultat du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH.....	27
III-2-2 Résultats du pouvoir antioxydant par le test du phosphomolybdate	30
Conclusion	34
Référence bibliographies	36

Introduction

Les plantes sont depuis toujours une source habituelle de remèdes sous forme de préparation traditionnelles ou de principes actifs purs. Il est donc logique que les chercheurs recensent les plantes ou les extraits végétaux existant sur place et susceptibles de s'ajouter avec profit à la liste nationale de médicaments ou même de remplacer certaines préparations pharmaceutique (**Norman et al, 1986**).

Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydant et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (**Teixeira et Silva, 2004**).

Au cours de dernières années, on a consacré beaucoup d'attention aux antioxydants naturels et à leurs bienfaits pour la santé. Les formulations médicamenteuses à bas d'antioxydants sont utilisées pour la prévention et le traitement de nombreuses maladies complexes (**stankovic N et al 2016**).

En effet, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement tant dans la santé et vis-à-vis des maladies chronique pernicieuses (cancer) que dans l'industrie agro-alimentaire (**Small et Catling, 2000**). Entre 1940 et 2002, 40 % des médicaments anticancéreux étaient des produits naturels et leurs dérivés, par contre seulement 8 % ont été synthétiques et même imités de ces produits (**Newman et al., 2003**).

Dans ce présence travail,, nous nous sommes intéressés a l'étude des extraits phénoliques de l'espèce *Globularia alypum L* a fin d'évaluer leur propriétés antioxydantes par deux tests DPPH et phosphomolybdate.

Ce mémoire a débuté par une synthèse bibliographique qui regroupe une description botanique de l'espèce étudiée, ainsi qu'un aperçu sur les principes actifs des plantes médicinales et leurs effets biologiques, ceci est suivi par un rappel sur le stress oxydant, les radicaux libres et l'activité antioxydant.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale dans laquelle nous allons effectuer:

- L'extraction et dosage des phénols totaux et des flavonoïdes.
- L'évaluation de l'activité antioxydant *in vitro* des extraits de cette plante, en utilisant deux tests : Piégeage du radical libre DPPH et le test de phosphomolybdate.

Introduction

La troisième partie est réservée à la discussion et l'interprétation des résultats obtenus. Finalement nous terminons par une conclusion générale et perspective de cette étude.

I-1-Présentation de la plante : *Globularia alypum* L.

I-1-1-Description botanique

Les espèces de *Globularia*, sont des arbustes ayant des rameaux d'environ d'hauteur (30-60cm), à feuilles alternes, dont les fleurs groupées en capitules plus ou moins globuleux entourés de bractées. Les fleurs ont une corolle à deux lèvres, la supérieure bilobée souvent atrophiée, l'inférieure trilobée. Elles sont en général bleues, à quatre étamines (**Leporatti et Ghedira., 2009**).

I-1-2- Classification : selon (Quezel et Santa., 1963).


<p>Règne : Plantae</p> <p>Embranchement : Spermaphyta</p> <p>Sous embranchement : Angiospermae</p> <p>Division : magnoliophyta</p> <p>Classe : Dicotyledone</p> <p>Ordre : Scrophulariales</p> <p>Famille : Globulariaceae</p> <p>Genre : <i>Globularia</i></p> <p>Espèce : <i>Globularia alypum</i> L</p>	
---	---

Figure 01 : Classification de l'espèce *Globularia alypum* L. (**Kraza L., photo originale 2017**)

I-1-3- Nom vernaculaires

Arabe : *Globularia alypum* appelée communément «Tasselgha», « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zouitna », « alk », « haselra », « oulbarda » (**Chograni et al., 2011**). Au Maroc elle est appelée Einlarneb (**Jouad et al., 2002**).

Français : Globulaire turbithe, Séné de Provence, Herbe terrible

I-1-4- Répartition géographique

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et Asie (Egypte, Arabie) est répartie en forêts, dans les terrains rocailloux (**Quezel et Santa., 1963**).

I-1-5- Principe actif

La littérature mentionne l'isolement et la caractérisation de plusieurs composés dans *Globularia*. Ce sont essentiellement des flavonoïdes, des polyphénols, des tannins, des anthocyanines (**Khelifi et al., 2011**), glucoside (globularine), résine, mucilages, tanin, choline, chlorophylle, acide-cinnamique, acide globularique (**Chograni et al., 2011**).

I-1-6- Utilisation médicinale

Globularia alypum L est une plante riche en minéraux et antioxydants telles que les composés phénoliques. Cette fameuse espèce est doté d'un pouvoir anti-inflammatoire, antidiabétique, antibactérien, et utilisée pour le traitement des maladies gastro-intestinales (**Khelifi et al. 2011**).

I-2-Aperçu sur les principes actifs des plantes médicinales

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Iserin, 2001**).

Une des originalités majeures de plante médicinales réside dans leur capacité à produire 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 représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Jeun et Annie, 2005**).

I-3-Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques (**Kim et al. 2003**).

I-4-Les métabolites secondaires

La fonction physique des métabolites secondaires n'est pas toujours évidente mais 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 variés (composés phénoliques, les alcaloïdes, terpènes,...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelque fois atteindre des valeurs élevées (figure 02). (Merghem, 2009).

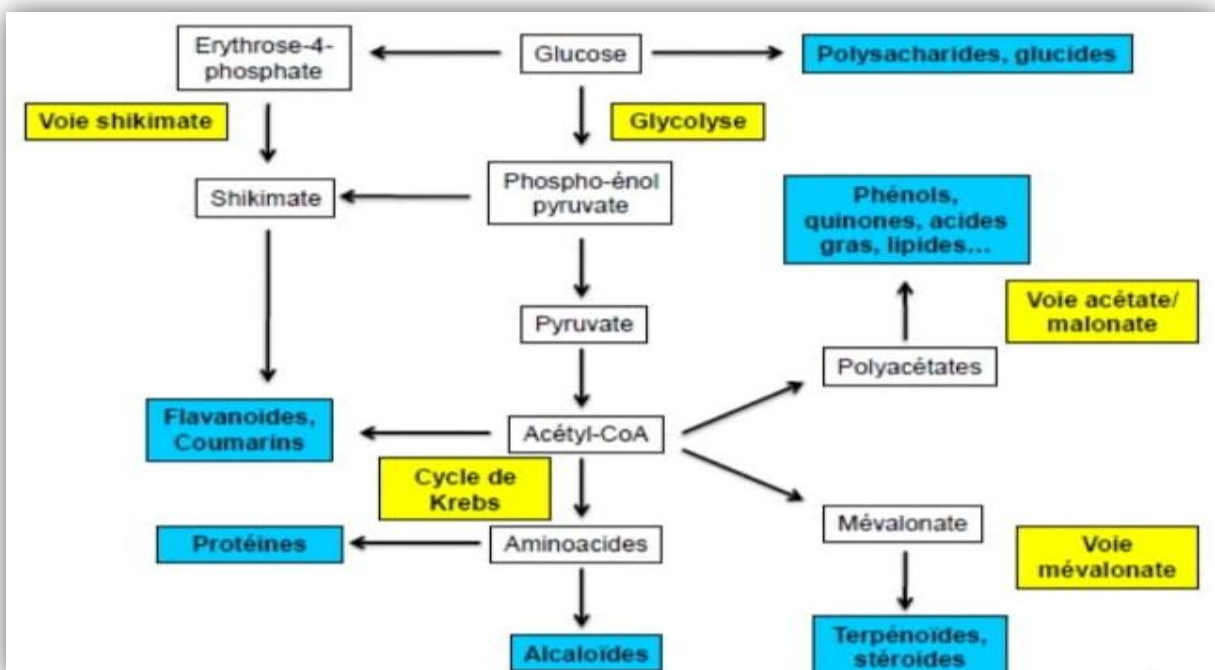


Figure 02 : Interrelation entre les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Bruneton, 1993)in (Boukri.N.,2014).

I-4-1- classification des métabolites secondaires

Les composés du métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes (tableau 01) :

- Les alcaloïdes et composés azotés.
- Les composés phénoliques.
- Les composés terpéniques (Merghem, 2009).

Tableau01 : classification des métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires	Définitions	Utilités
<p>Composés phénoliques</p>	<p>Les polyphénols sont des composés qui ont plus d'un groupe hydroxyle phénolique attaché à un ou plusieurs cycles benzéniques. le terme est un peu trompeur car il a tendance à faire penser aux polymères. Les composés phénoliques sont caractéristiques des plantes et, en tant que groupe, ils se trouvent généralement sous forme d'esters ou de glycosides plutôt que sous forme de composés libres. il est important de réaliser cela si vous souhaitez extraire des phénols de tissus végétaux (Vermerris., 2006).</p> <p>Les flavonoïdes, également appelés bioflavonoïdes, sont des antioxydants poly phénols naturellement présents dans les plantes. Ce sont des métabolites secondaire, c'est-à-dire des composés organiques qui n'interviennent pas directement dans la croissance ou le développement des plantes.</p>	<p>Certains flavonoïdes ont des propriétés fongicides et insecticides. Au niveau des feuilles et fleurs, les flavonoïdes ont un rôle attractif pour les abeilles ou répulsif sur les insectes herbivores. (Merghem, 2009) Les flavonoïdes aussi servent comme signaux pour interactions de la plante avec les symbiotes. Flavones et les flavonols sont émis comme substances du signal de racines légumineuses dans ordonnez d'induire l'expression des gènes exigée pour nodulation (Heldt, 2004)</p>
<p>Composés azotés :</p> <p>(alcaloïdes, acides aminés...ect)</p>	<p>un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale a caractère alcalin et présentant un structure moléculaire hétérocyclique complexe .</p> <p>Les alcaloïdes étant en grande majorité des amines, ils sont très facilement oxydés à l'air en N-oxydes, ce qui facilite leur dégradation (Benarous. K, 2010). Comme son nom l'indique, un acide aminé est une petite molécule qui</p>	<p>Ces alcaloïdes sont des toxines qui manifestent des propriétés hépatotoxique, pneumo-toxique, mutagène, cancérigène et embryotoxique. Dans certains cas, leur hémisynthèse a permis d'améliorer quelques propriétés telles que : virostatique, anti-leucémique, anesthésique, hypotensive, antispasmodique, neuromusculaire et d'assurer le blocage ganglionique.</p>

	<p>possède une fonction acide et une fonction amine primaire. En effet, les acides aminés sont des composés organiques bi-fonctionnels qui contiennent un groupe amine basique (-NH₂) et un acide carboxylique (-COOH), dont l'enchaînement compose les protéines: on dit qu'une protéine est un polymère d'acides aminés(les monomères). (Samira Nair, 2009).</p>	<p>La solubilité dans l'eau diminue avec le nombre d'atome de carbone de la chaîne aliphatique. Or, s'il ya un agent polaire, la solubilité augmente,. En effet, en générale les acides aminés sont solubles dans l'eau Si pH très bas ou très élevé. (Allali <i>et al.</i>, 2008).</p>
Térpénoïdes	<p>Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005).</p>	<p>Les familles de molécules les plus connues pour être des agents de défense contre divers agresseurs pour les conifères sont en majorités les monoterpènes et les sesquiterpènes (Malecky, 2005).</p>
Tanins	<p>Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire compris entre 500 et 3000 qui présente, à coté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Haslam, 1996 ; Cowan, 1999).</p>	<p>Concernant le pouvoir antioxydant des tanins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. Les tanins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres (Rahman <i>et al.</i>, 2006).</p>
Saponines	<p>Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polairesliés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse. (Vincken <i>et al.</i>, 2007).</p>	<p>Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, molluscicides (Vincken <i>et al.</i>, 2007), anti-inflammatoires et antalgiques. Les applications des saponines s'étendent à l'agriculture, avec utilisation pour l'assainissement des sols (Chen <i>et al.</i>, 2008).</p>

Les huiles essentielles	Une huile essentielle selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. (Franchomme, P <i>et al.</i> ,2001).	Dans une autre étude, il a été montré que celles de <i>Chromolaena odorata</i> présentaient des actions positives sur la fonction Cyclooxygénase de la Prostaglandine H-synthétase (Bedi <i>et al.</i> , 2010).
--------------------------------	--	---

I-4-2- Localisation des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires possèdent une répartition quantitatives qui varient entre les différentes tissus de la plante (tableau 02).

Tableau02 : Localisation produits du métabolisme secondaires (Merghem, 2009).

Classe	Nombre de structure	Distribution
Composés phénoliques		
Phénol simple	200	Feuilles et tissus
Flavonoïdes	1000	Angiospermes
Proanthocyanidines		Gymnospermes
Quinones	500	Rhamnacées
Composés azotés		
Alcaloïdes	5500	Angiosperme, feuille, fruit, racine
Amine	100	Angiosperme, fleur
Aminoacide non protéique	400	Graines
Glucoside cyanogénique	30	Feuille et fruits
Glucosinate	75	Crucifères
Terpénoides		
Monoterpènes	1000	Huiles essentielles
Diterpènes	600	Composées, angiosperme
sesquiterpènes	1000	Latex, résines
Saponines	500	Feuilles, fleur, fruit
Caroténoïdes	500	Apoginacées

I-4-3-Classification des composés phénoliques

Les polyphénols sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Bailleul et al., 2004**).Tableau 03.

Tableau 03 : Structure des squelettes des polyphénols (classification)(**Crozier et al., 2006**).

Nombre de carbones	Squelette	classification	Exemple
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique
8	C6-C2	Acétophénones	Gallacetophénone
8	C6-C	Acide phénylacétique	Acide P- hydroxyphényl-acétique
9	C6-C3	Acides hydroxycinamique	Acide p-coumarique
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine

I-5- Le stress oxydant

Est défini comme un déséquilibre de la balance entre la formation des radicaux libres (Caractère pro-oxydant) et la capacité du corps à les neutraliser, à réparer les dommages oxydatifs (système antioxydant) et à réguler leur production .Le stress oxydant semble être impliqué dans de multiples maladies liées au vieillissement, telles que la maladie d'Alzheimer, l'artériosclérose et la cataracte (**Favier, 2006**).

I-5-1- Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (figure03) (Dacosta, 2003).

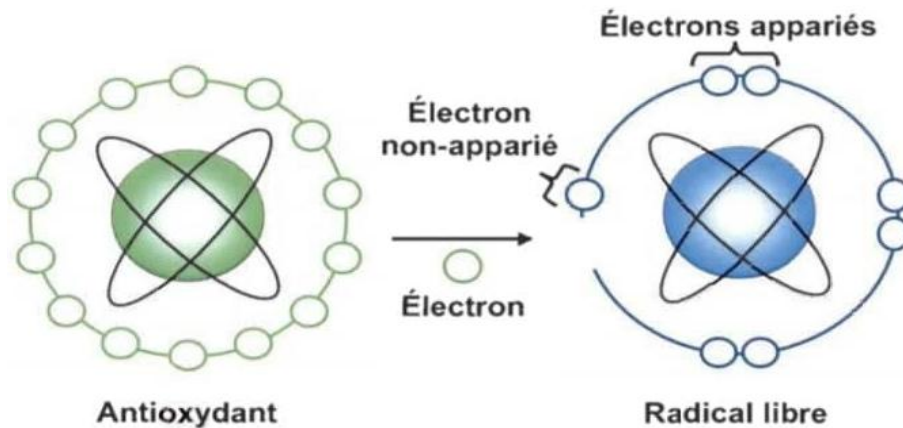


Figure03 : neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Gilgun-Sherki *et al.*,2001).

I-5-2- Les types des radicaux libres

I-5-2-1- Les espèces réactives dérivées de l'oxygène

L'oxygène doit sa grande réactivité à sa structure particulière. En effet, il possède deux électrons radicalaires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme. Les mitochondries utilisent la plus grosse part de l'oxygène inspiré pour la production d'énergie. Cependant 3 à 5% de cet oxygène utilisé par les mitochondries lors de l'activité métabolique normale est inévitablement à l'origine de radicaux libres oxygénés, hautement toxiques (Justine, *et al* 2005).

I-5-2-2- Les espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les ERO. Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs. Nous

citerons, par exemple, les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques. Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ROS générant des molécules réactives et nocives (figure 04) (Justine, *et al* 2005).

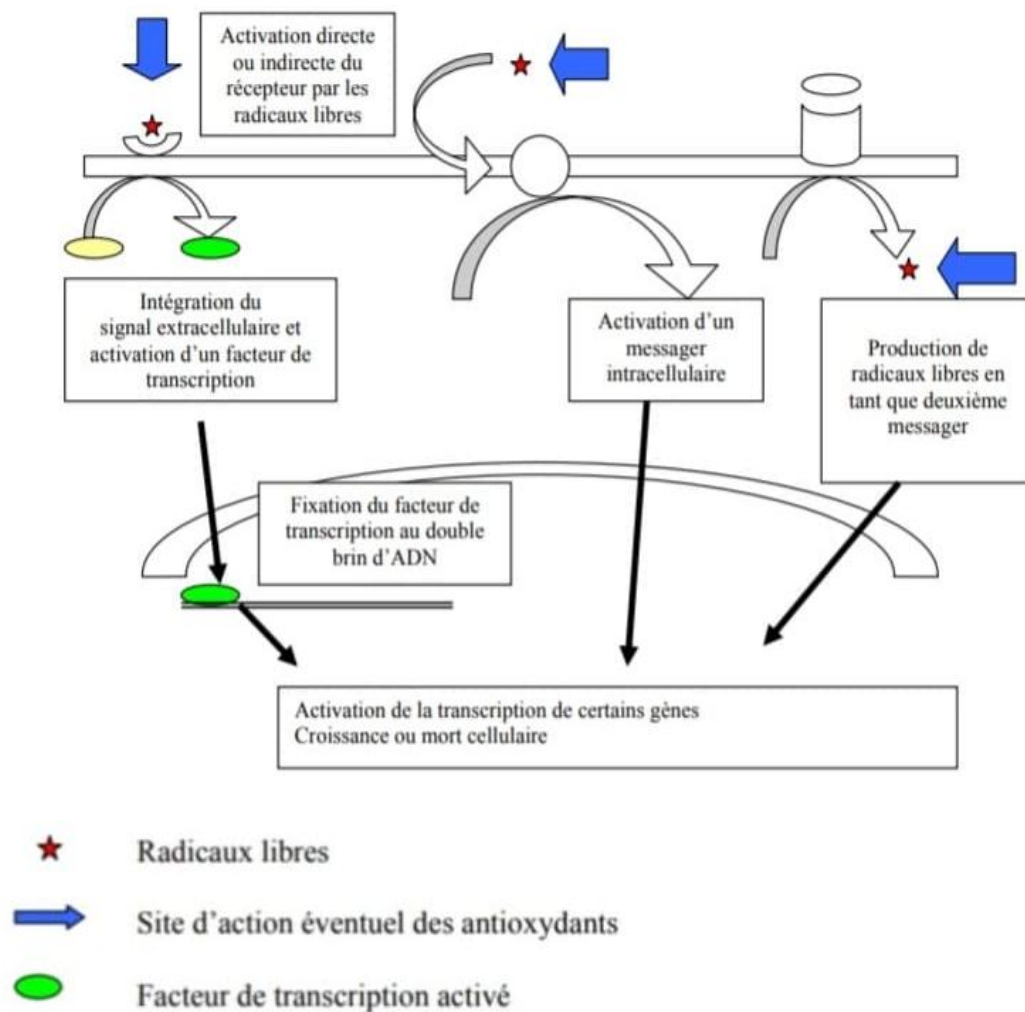


Figure 04 : Rôle des radicaux libres dans la communication cellulaire (Pastre, 2005).

I-6 - Activités antioxydantes

I-6-1- Définition

Un antioxydant est une substance qui, retarde ou bien inhibe significativement le phénomène d'oxydation et ceci à celle du substrat oxydable (Delattre, 2005).

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebertet al., 2005**).

I-6-2- Les antioxydants

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés. Les polyphénols, naturellement présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation sont considérés comme éliminateurs des radicaux libres (**Chewet al., 2009**).

I-6-2-1-Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydant qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (**Favier, 2006**). Ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres primaires (**Dacosta, 2003**).

I-6-2-2-Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Dacosta, 2003**).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. (**Kohen et Nyska, 2002**).

I-6-3-Utilisations des antioxydants

- ✓ En médecine en tant que médicament pour l'homme exemple : Les maladies du Stress, des activités antioxydants.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

- ✓ Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- ✓ Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- ✓ Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture (**Bouhadjra K., 2011**).

II-1-Matériel végétal

II-1-1- Préparation des échantillons

Le matériel végétal utilisé est la partie aérienne de la plante *Globularia alypum L*, qui a été récolté en mois de novembre 2016 dans la région d'oued Morra Wilaya de Laghouat dans un endroit loin de toute pollution. Les feuilles récoltées ont été séchées au laboratoire à température ambiante et à l'air libre. Les feuilles de la plante ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, cette dernière a été tamisée à travers un tamis de granulométrie de 200 µm. La poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre fermé et stockés à l'abri de la lumière.

II-2- Préparation des extraits polyphénolique

II-2-1- Extraction hydro-alcoolique

2g de la poudre végétale est soumis à une extraction par macération dans le mélange méthanol/eau (80/20 : v/v) pendant 72heures avec renouvellement de solvant chaque 24heures et agitation de temps en temps, ce qui nous donc permet d'obtenir un extrait hydro-alcoolique brut. Ce dernier est évaporé sous pression réduit à 45c°, puis la phase aqueuse restante est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume de l'hexane, jusqu'à l'épuisement des pigments et des lipides. La phase aqueuse obtenue est ensuite lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle .ce qui nous permet d'avoir des fractions à priorité contiennent les composés phénolique polaires.

L'extrait organique obtenu est séché avec du sulfate de sodium anhydre puis évaporé à sec à pression réduit, le résidu sec obtenu est repris dans 10 ml de méthanol pur donnant la fraction phénolique correctement purifiée et conservée jusqu'à leur analyse .La phase aqueuse ainsi obtenue est lavée une ou plusieurs fois avec le butanol .L'extrait organique obtenu est séché avec le sulfate de sodium anhydre puis évaporé à pression réduit. Le résidu sec est repris dans 10ml de méthanol pur et conservée jusqu'à leur analyse. (**Khacheba et al., 2014**)La figure05 résume les étapes de l'extraction hydro-alcoolique :

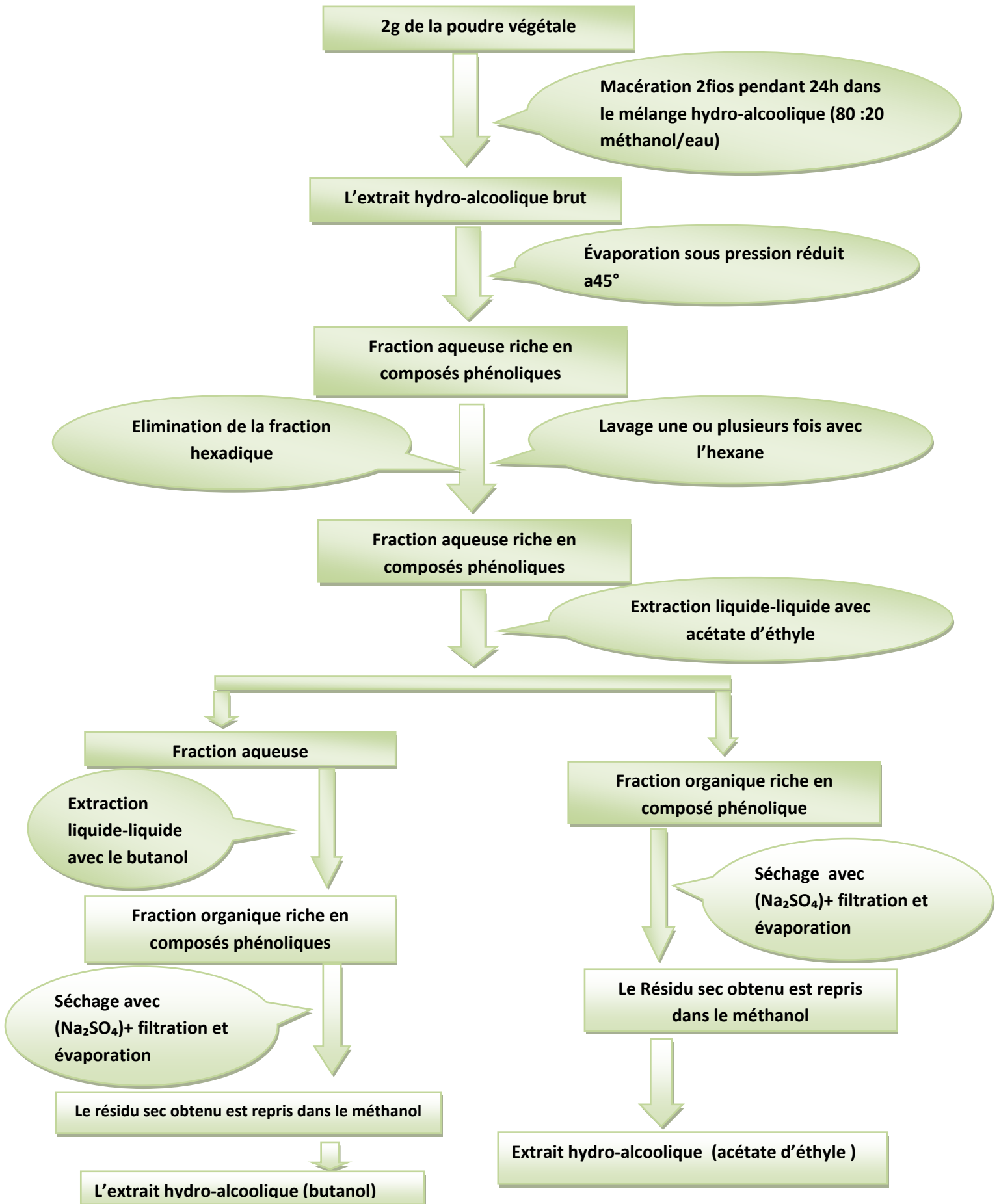


Figure05 : différentes étapes d'extraction hydro-alcoolique de la plante *Globularia alypum L*

II-2-2- Extraction Aqueuse

Environ de 2g de la poudre végétale est macéré dans 100ml d'eau distillée à 75c° pendant 20 minutes ; Après la filtration et l'évaporation de l'eau à pression réduite, le résidu est pesé et solubilises dans l'eau distillé et conservé jusqu'à leur analyse (**khecheba et al., 2014**). Les étapes de cette extraction sont résumées ci-dessous (figure 06) :

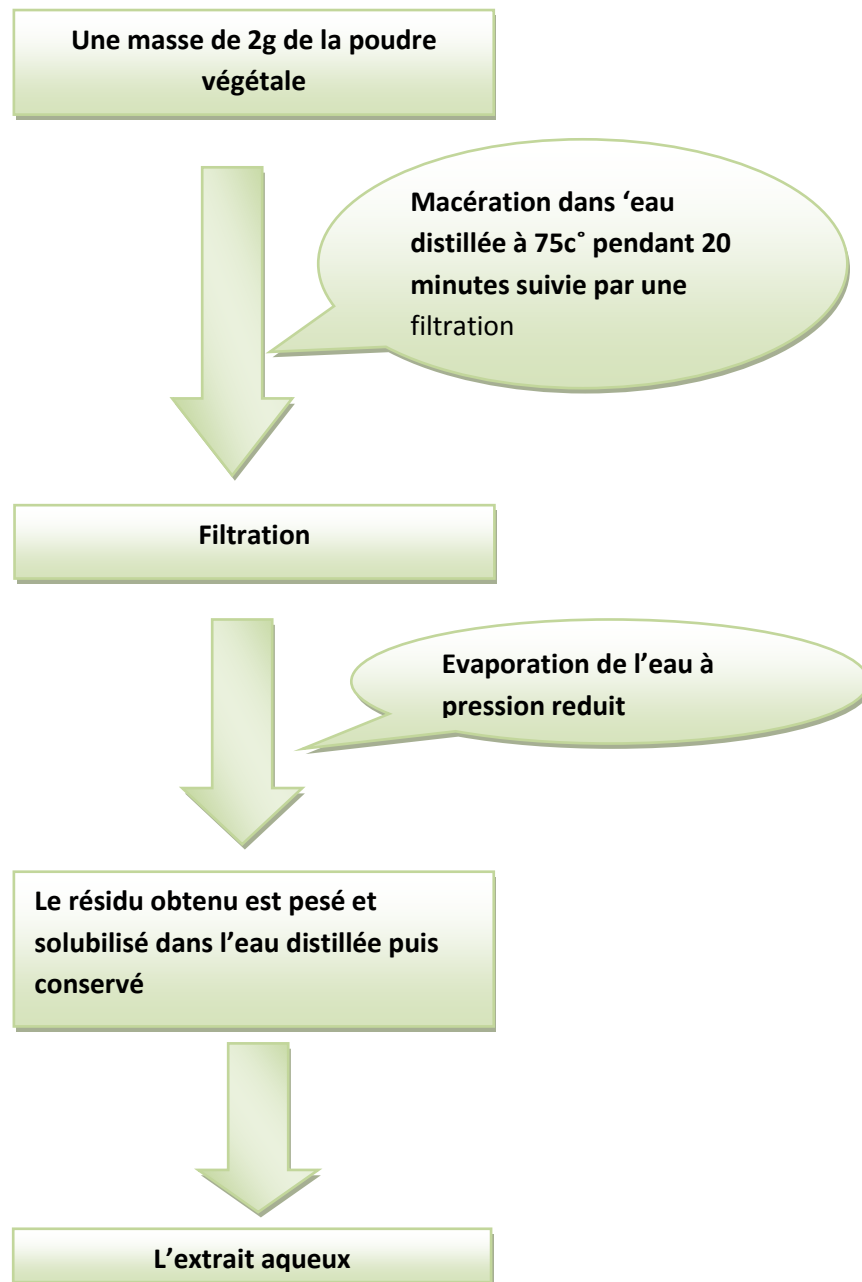


Figure 06 : les étapes d'extraction aqueuse de la plante *Globularia alypum L.*

II-2-3- Extraction par des solvants à polarité croissante

Une quantité de 2g de la poudre végétal est macérée dans l'hexane pendant 48h (2 macération successive en renouvelant le solvant chaque 24h) à température ambiante afin d'éliminer toutes traces de composés apolaire (pigments, lipides).Après filtration La phase résiduelle obtenue est macéré dans des solvants à polarité croissante : le dichlorométhane ; l'acétate d'éthyle ; l'éthanol et le méthanol, ensuite les extraits organiques obtenue sont évaporés à sec sous pression réduite à 45c°.Les résidus secs sont repris par le méthanol et conservés jusqu'au déroulement de l'analyse (Figure 7).

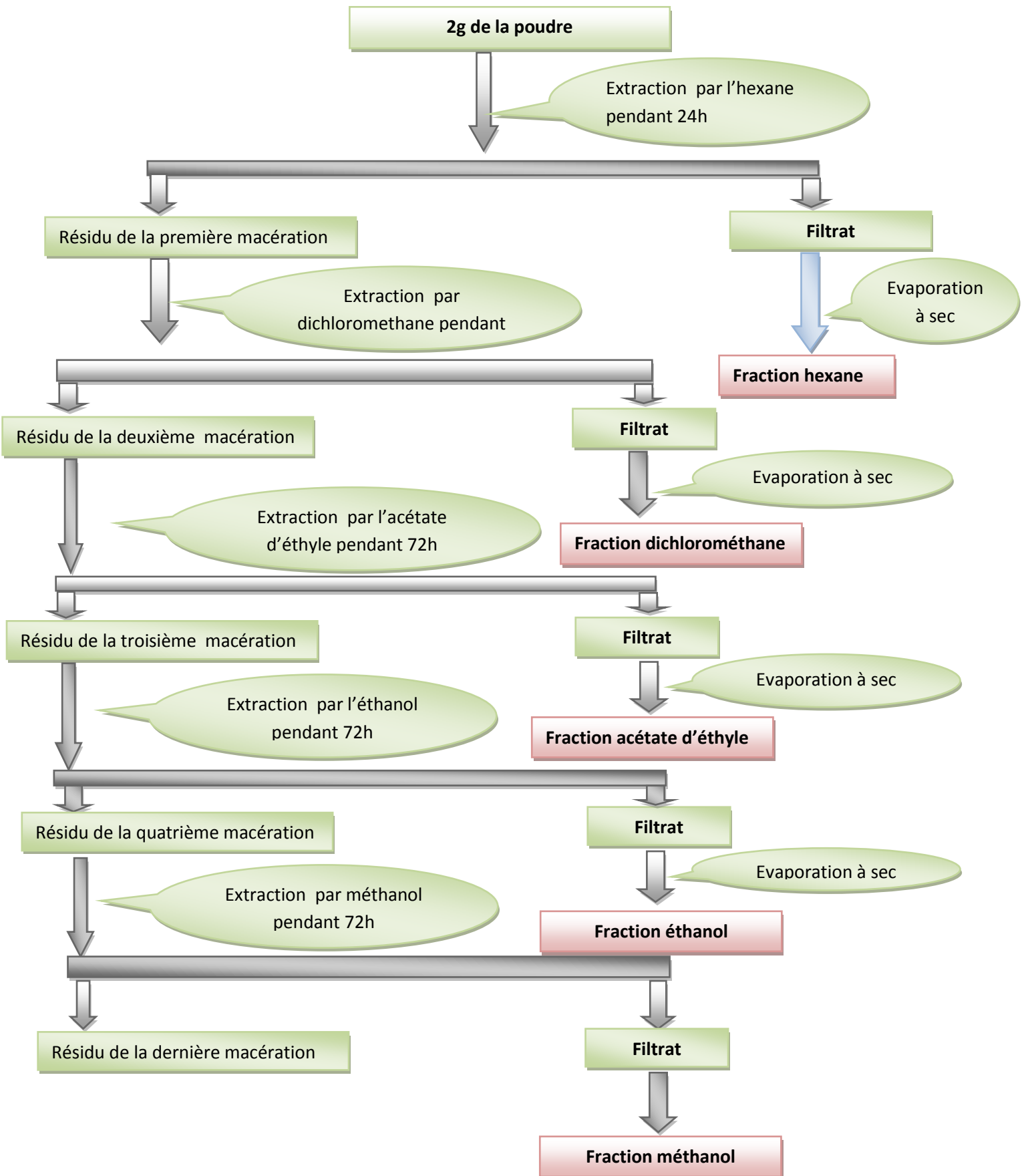


Figure07: Les différentes étapes de l'extraction par des solvants à polarité croissante.

II-3- Rendement de l'extraction exprimé en (%)

Le rendement des extraits sec obtenu après évaporation est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant après l'évaporation.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traité.

Les rendements sont calculés par rapport à 2g de matière végétale sèche.

II-4-Dosage des composés phénoliques

II-4-1-Dosage des polyphénols totaux

II-4-1-1- Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de folin-Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique H₃PW₁₂O₄₀ et d'acide phosphomolybdique H₃PMO₁₂O₄, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₃), il absorbe à l'UV du longueur d'onde de l'ordre 760 nm (**Nkhili. E, 2009 ; Maamri. S, 2008**).

II-4-1-2- Procédure expérimentale

Un volume de 100 µl de chaque extrait dilué à différentes concentrations sont ajoutés à 500 µl d'une solution (1/10) du Folin-Ciocalteu. Après 2 minutes d'incubation, puis on ajoute 2ml de carbonate de sodium Na₂CO₃ d'une concentration de 2% . Les tubes sont agités puis incubés pendant 30 min à 37 °C à l'abri de la lumière. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois. Enfin, les absorbances de tous les échantillons ont été mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, contre un blanc.

La courbe d'étalonnage a été obtenue, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant comme étalon l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/gde la matière sèche (mg EqC/g MS).

II-5-2-Dosage des flavonoïdes

II-5-2-1- Principe

La formation des complexes jaunâtres, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la complexation des ions $AlCl_3$ sur les atomes d'oxygène présents sur les atomes de carbone 4 et 5 des flavonoïdes (**Ribereau-Gayon., 1968**).

II-5-2-2- Procédure expérimentale

500µl de la solution de chlorure d'aluminium à 2 % est additionné d'un même volume de la solution d'extrait, puis incubé pendant 20 minutes à une température ambiante. L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 409 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La courbe d'étalonnage a été obtenue en utilisant comme étalon la quercétine. Les teneurs de flavonoïdes sont exprimées en mg Equivalent en quercétine par g de matière sèche (mg Eq Q/g M.S). Chaque expérience est répétée trois fois.

II-6- Evaluation de l'activité antioxydante

II-6-1- Test de DPPH

II-6-1-1- Principe de la méthode

L'activité antioxydante des différents extraits est déterminée en utilisant le DPPH comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par **Boumerfeg et al. , (2009)**. Dans ce test, les antioxydants réduisent le (2,2-Diphényl 1 picryl-hydrazyl) ayant une couleur violette en un composé jaune, le (2,2 diphényl 1 picryl-hydrazine), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans milieu à donner des protons (figure 08).

La méthode de DPPH· est basée sur la mesure spectrophotométrique de changement de la concentration du radical DPPH résultant de la réaction de DPPH· avec un antioxydant. Au cours de la réaction, les antioxydants (donneurs de H) réagissent avec le DPPH·, qui sera réduit au DPPH-H (2,2-diphényl-1- picrylhydrazyl) (Figure11) Le degré de décoloration indique le potentiel de l'activité antioxydante des extraits en termes de capacité de donneur d'hydrogène (**BrandWilliams et al., 1995**).

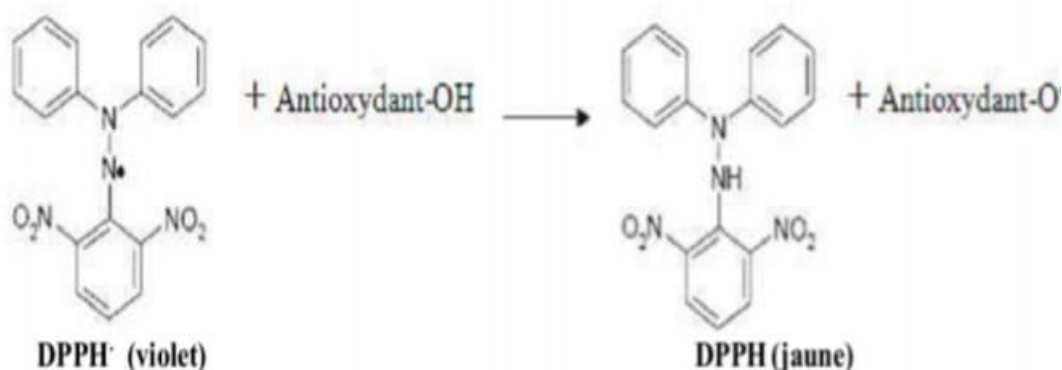


Figure 08: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH[•] (Bastida *et al.*, 2002).

II-6-1-2-Procédure expérimentale

500 μ l des solutions d'extraits phénolique à différente concentration avec acide ascorbique comme un témoin sont ajoutés à 500 μ l DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. La concentration inhibitrice de 50% de l'activité du DPPH (IC50) exprimée en mg/ml de chaque extrait est calculée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = \frac{[\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}]}{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle}} \times 100.$$

II-6-2- Test de phosphomolybdate

II-6-2-1- Principe

Au cours de ce test l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu de la structure du composé antioxydant.

Le test est basé sur la réduction de molybdène M_0 présent sous la forme d'ions molybdate $M_0O_4^{2-}$ à molybdène M_0 , M_0O^{+2} en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ M_0 à un pH acide (Prieto *et al.*, 1999). On mesure l'augmentation de coloration du complexe molybdène en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tels que les vitamines (C, E...).

II-6-2-2-Procédure expérimentale

La méthode consiste à introduire dans un tube 200 µl de chaque extrait à différentes concentrations mélangés à 2000µl d'un réactif composé de H₂SO₄ (0,6 M), de Na₂PO₄ (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube est ensuite bien fermé puis incubé à 95°C pendant 90 minutes. Après les avoir refroidis, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Le témoin est constitué de 200 µl de méthanol mélangé avec 2000 µl du réactif mentionné ci-dessus.

Les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en mg Equivalent Acide Ascorbique par gramme de matière sèche de l'extrait (mg EAA/g EXS).

III-1-Analyse des extraits

III-1-1- Rendement des extraits

Les rendements des extraits par les trois méthodes d'extraction hydro-alcoolique, aqueuse et l'extraction par des solvants à polarité croissante ont été déterminés par rapport à 2 g du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats de cette analyse sont consignés dans le tableau ci-dessous (Tableau 04).

Tableau 04 :Méthode d'extraction, Rendement, aspect et couleur des différents extraits étudiés.

Méthode d'extraction	Nom de l'extrait	Couleur	Aspect	La masse en (g)	Rendement%
Hydro-alcoolique	Acétate d'éthyle	Vert-jaune	Poudre	0,60	30,20
	Butanol	Vert foncé	Poudre	0,27	13,50
Aqueuse	Aqueux	Marron foncé	Visqueux	1,00	50,00
extraction par des solvants à polarité croissante	Dichlorométhane	Vert militaire	Visqueux	0,11	5,50
	Acétate d'éthyle	Vert clair	Visqueux	0,20	10,00
	Ethanol	Jaune foncé (d'orée)	Visqueux	0,60	30,00
	Méthanol	Jaune clair	Visqueux	0,35	17,50

Au regard du tableau précédant les résultats obtenus montre que l'extrait aqueux donne le rendement le plus élevé (50%). Tandis que le plus faible rendement a été enregistré dans l'extrait dichlorométhane (DCM) obtenu par la troisième méthode d'extraction (5.5%).

A partir de la figure (09) le pourcentage des rendements des extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction utilisées sont notées successivement de la manière suivante : extrait aqueux (50) > acétate d'éthyle (extraction hydro-alcoolique) (30.2) > éthanol (30) > méthanol (17.5) > butanol (13.5) > acétate d'éthyle (10) > DCM (5.5).

Selon **vermerris et nicholson (2006)**, la différence des valeurs peut être expliquée par la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans les solvants utilisés. Et peut être liée à leurs degrés de solubilité dans ces derniers et leur degré de glycosylation (**Markham, 1982**).

Si on compare les rendements entre les trois méthodes d'extraction, nous remarquons que les teneurs enregistrées pour l'extrait aqueux est supérieure à celle enregistrées pour les autres extraits. ceci peut être attribuée à la forte capacité de dissolution de l'eau. En fait, l'eau présente un indice de polarité important, une constante diélectrique et une énergie de cohésion très élevée par rapport aux autres solvants, ce qui fournit une liaison forte entre les molécules d'eau et les composés polaires du soluté, provoquant leur dissolution (Dhanani *et al.*, 2013)

Plusieurs travaux ont montré que l'addition de l'eau au système d'extraction améliore le rendement en composés phénoliques glycosylés et des phénols avec un degré de polymérisation plus élevé (Bonnaillie *et al.* 2012).

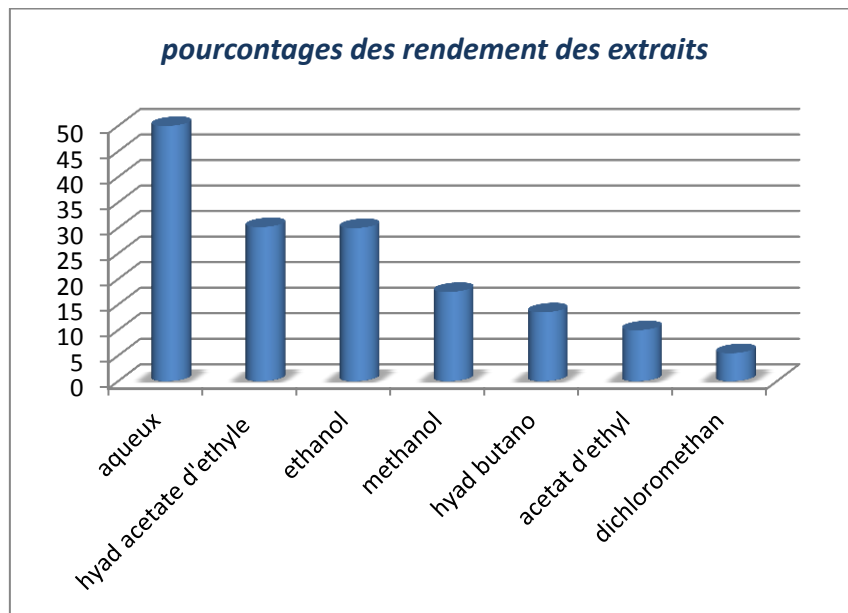


Figure 09 : Histogramme représentatif les pourcentages des rendements de différents extraits de l'espèce *Globularia alypum L.*

Une étude réalisée par Chelghom.M, 2017 sur la même plante avec les mêmes procédures d'extraction aqueuse et hydro-alcoolique, a montré une différence de teneurs : 45% pour l'extrait aqueux et 4.8% pour l'extrait acétate d'éthyle, elles sont inférieures à celle enregistrée dans notre étude 50% et 30.2% respectivement. Cette différence peut être liée aux différents facteurs, entre autres la saison de récolte ou les facteurs de stress biotiques ou abiotiques (sécheresse, chaleur, les rayons ultra-violet, la pollution de l'air et les attaques des agents pathogènes...) (Biesiada et Tomaczak ; 2012).

Selon **Su et al.(2006)**, Le rendement de la méthode d'extraction dépend de plusieurs facteurs à savoir le temps de macération, la température, le solvant d'extraction et la nature chimique de l'échantillon

III-1-2-Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux a été déduite après l'établissement d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique avec des concentrations croissantes (figure10).elle est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 05 :

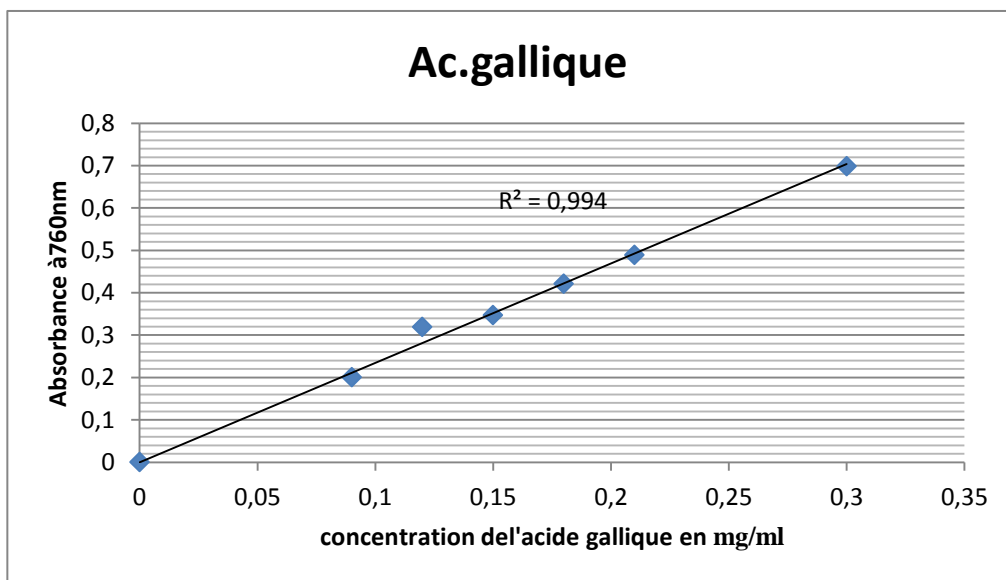


Figure 10: courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableaux 05 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de la plante *Globularia alypum L.*

Méthode d'extractions	EXTRAIT	TENEUR mg EAG/g
Hydro alcoolique	Acétate d'éthyle	11,00±0,64
	Butanol	1,07±0,43
Aqueuse	Aqueux	13,08±0,67
Extraction par des solvants à polarité croissante	DCM	0,37±0,03
	Acétate d'éthyle	1,16±0,07
	Ethanol	5,25±0,40
	Méthanol	6,09±0,19

D'après la synthèse des résultats obtenus lors de la quantification des phénolstotaux, nous pouvons constater que ; les teneurs en composésphénoliques varient entre 0.37 et 13.08mgEAG/g de MS respectivement.

Les teneurs en composés phénoliques les plus élevés sont détectés au niveau de l'extrait aqueux avec une concentration de 13.08 mgEAG/g de MS, suivi par l'extrait acétate d'éthyle obtenu de l'extraction hydro-alcoolique 11.001 mgEAG/g de MS. Tandis que, les teneurs les plus basses ont été observées dans les extraits dichlorométhane, butanol, DCM et Acétate d'éthyle pour l'extraction par des solvants à polarité croissante. (Tableau 05).

Cette différence pourrait être due principalement à la méthode d'extraction. D'après **Gomez caravaca et al. (2006)**, l'extraction aqueuse est très sensible à la réduction des groupements hydroxyles non seulement présent au niveau des composés phénoliques, mais aussi à d'autres composés polaire non phénoliques, tel que : les protéines, les sucres simple et les glycoprotéines.

Dans une étude réalisée par **Chelghoum. M ., 2017** sur l'espèce *Globularia alypum L* La montré des teneurs inférieures que celles qu'on a enregistré 8.17 mgEAG/g et 3.45 mgEAG/g. pour l'extrait aqueux et l'extrait d'acétate d'éthyle obtenu de l'extraction Hydro alcoolique respectivement, ceci peut être due au profil poly phénolique des extraits des plantes qui peut être affecté par différents facteurs parmi lesquels la période des récolte et les méthodes de

conservation (Miliauskaset *al.*,2004), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la température et les solvants d’extractions (Condeet *al.*, 2009).

III-1-3-Dosage des flavonoïdes

La quantification en flavonoïdes dans nos extraits a été réalisée à partir d’une courbe d’étalonnage établie avec des concentrations croissantes en quercétine (figure 11).elle est exprimée en mgéquivalents en quercétine par gramme de la matière sèche(mg EAQ/mg). Lesrésultats obtenus sont résumés dans le tableau 06 :

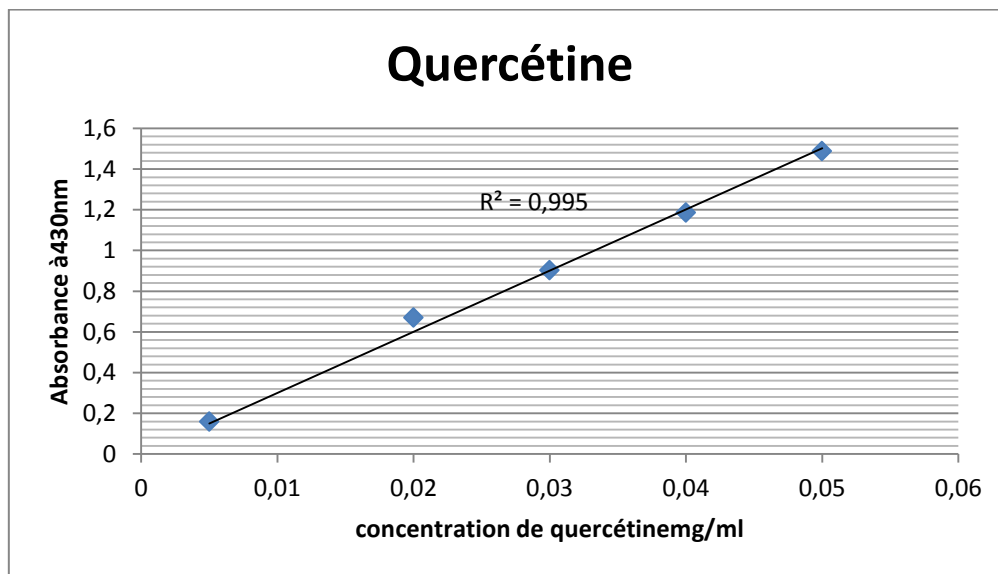


Figure 11: courbe d’étalonnage de quercétrine.

Tableaux 06 : teneur des flavonoïdes (mg/g)de la poudre sèche des extraits utilisés :

Méthode d’extraction	Nom de l’extrait	Teneur mg EQ/g
hydroalcoolique	Acétate d’éthyle	0,18±0,02
	Botanol	0,32±0,03
Aqueuse	Aqueux	2,36±0,05
Extraction par des solvants à polarité croissante	DCM	0,16±0,05
	Acétate d’éthyle	0,11±0,01
	Ethanol	1,05±0,02
	Méthanol	0,16±0,04

D'après l'ensemble des résultats obtenus lors de la quantification en flavonoïdes nous pouvons constater que les teneurs varient entre 2.36 et 0.11 mgEQ/g de la matière sèche.

Les taux de flavonoïde les plus élevés ont été détectés dans l'extrait aqueux avec une valeur de 2.36 mgEQ/g, suivi par l'extrait d'éthanol 1.05 mgEQ/g et l'extrait de butanol avec un taux de 0.32 mgEQ/g de MS. D'autre part les teneurs les plus basses ont été remarquées dans l'extrait d'acétate d'éthyle (extraction par des solvants à polarité croissante) avec une valeur de 0.11 mg EQ/g de MS.

Sur la base de ces résultats nous pouvons constater que nos extraits aqueux sont plus riches en flavonoïde par rapport aux autres extraits. Il est clair, que les teneurs en flavonoïde dans nos extraits sont inférieures aux teneurs en phénol totaux, ce qui nous indique la richesse de nos extraits par rapport à d'autres composés non flavonoïdiques (**Bousoussa .H, 2010-2011**).

Si on compare ces teneurs en flavonoïdes avec d'autres études. Nous constatons que nos résultats sont approximativement similaires à ceux mentionnés par Chelghoum.M, **2017**, qui montre que l'espèce *Globularia alypum L*, présente une teneur en flavonoïde de l'extrait aqueux égale à 2.94 mg EQ/g de la matière sèche.

III-2-Evaluation de l'activité antioxydante

III-2-1-résultat du pouvoir antioxydant du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement l'une des substances les plus utilisées pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (**Bozinet al., 2008, Kouamiet al., 2009**).

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée *in vitro*, en utilisant le test DPPH, le changement de la couleur du violet vers le jaune indique leur réduction par des processus soit l'hydrogène et donneur d'électrons. Les substances qui provoquent cette réaction sont considérées comme antioxydants et par conséquent piègeurs de radicaux libres, le test est réalisé à une longueur d'onde de 517 nm.

Le pouvoir antioxydant de nos extraits vis-à-vis le radical libre DPPH a été exprimé par la variation des pourcentages d'inhibition (PI%), en fonction de différentes concentrations des extraits. Les résultats présentés dans la figure 12 montrent les valeurs obtenues (PI%) de la vitamine C, acide gallique et quercétine, utilisés comme des standards, par rapport aux PI% de

chaque extrait , ces résultats nous permis de tracés les graphes des différentes proportions d'inhibitions en termes de concentration des composés phénoliques($PI\%=f(c)$).

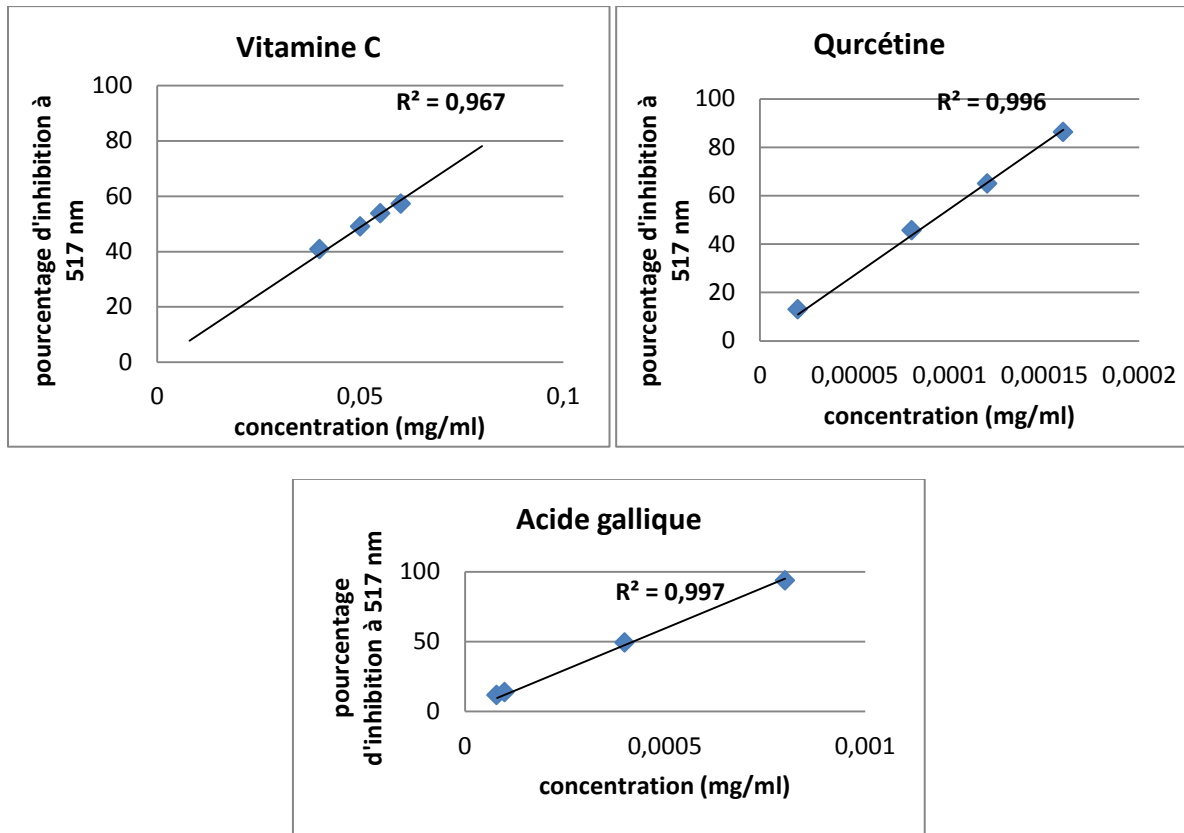
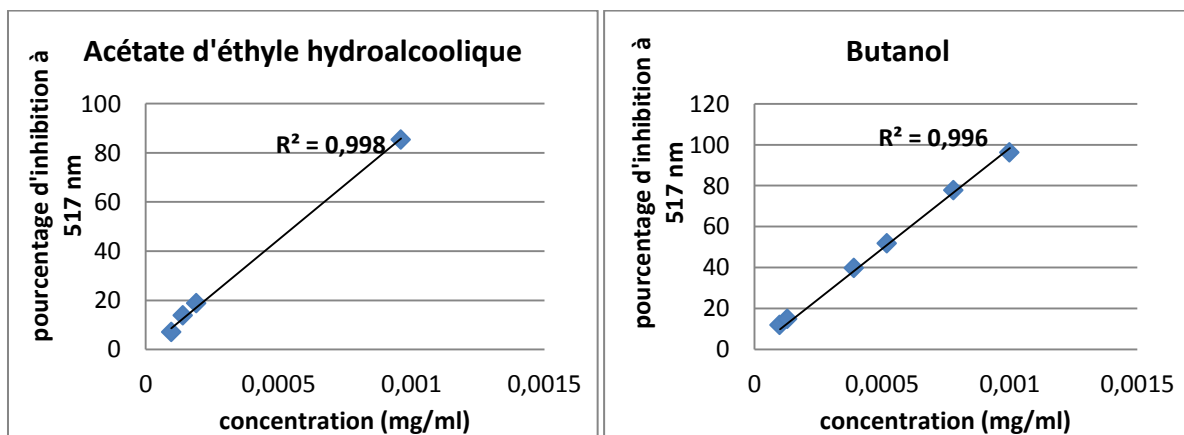


Figure 12 : Courbes représentes la variation de pourcentages d'inhibitions (PI%) en fonction des concentrations des antioxydants standards (vitamine C, Quercétine, Acide gallique).



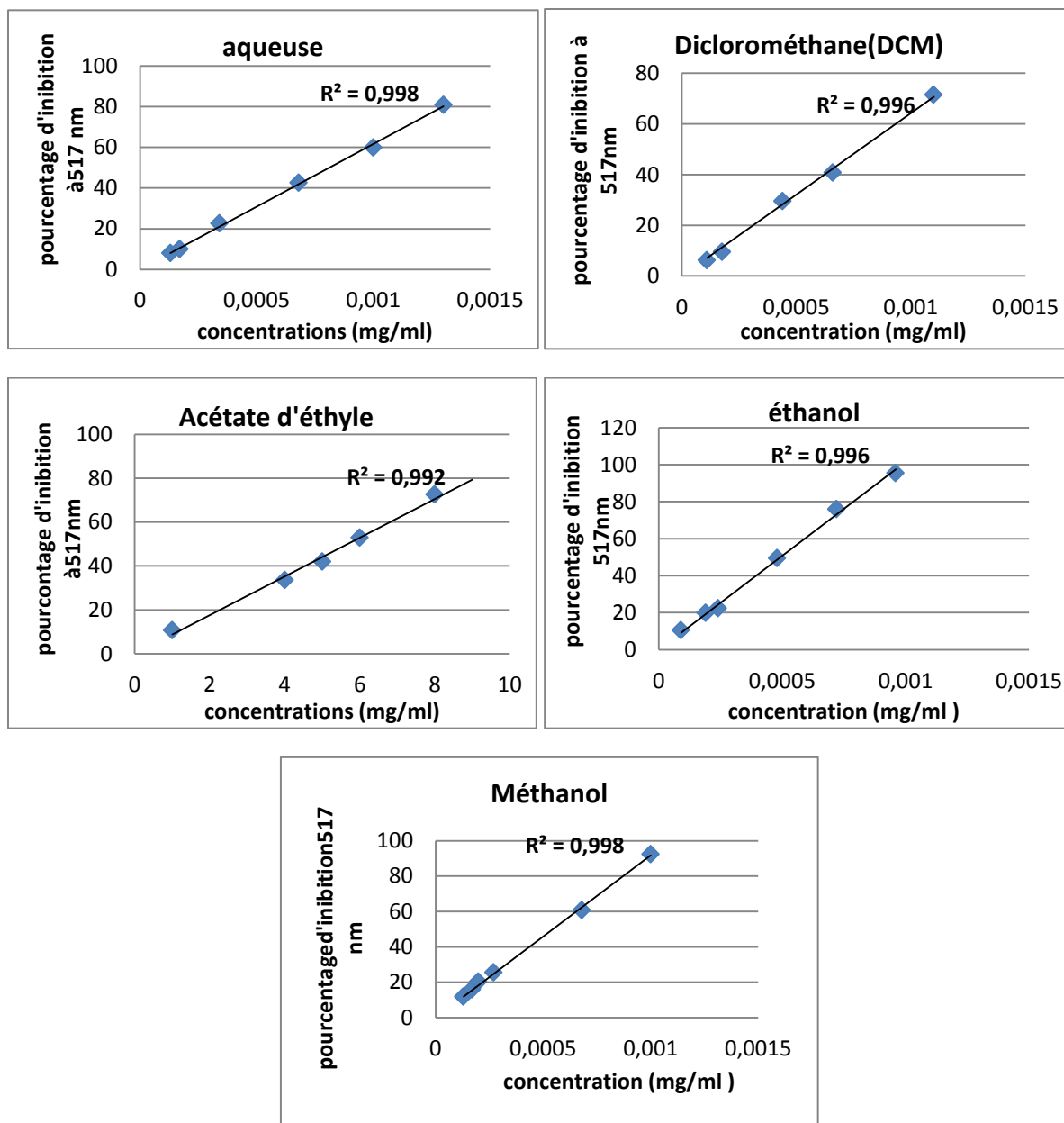


Figure 13: courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (PI%) en fonction de la concentration des extraits d'espèce *Globularia alypum L.*

La capacité antioxydant exprimé en EC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Qui ont été calculés à partir des courbes de la variation de pourcentage d'inhibition PI% en fonction des différentes concentrations des extraits. Plus la valeur de l'EC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est importante (**Hebi & Eddouks, 2016**). Les valeurs d'EC₅₀% des extraits sont mentionnées dans le tableau ci-dessous (Tableaux 07).

Tableaux 07 : Les valeurs d'EC₅₀ des différents extraits et les antioxydants standards :

Méthode d'extraction	Les extraits	EC ₅₀ (µg/ml)
Hydro-alcoolique	Acétate d'éthyle	0,55±0,06
	butanol	0,51±0,06
aqueux	aqueux	0,81±0,05
Extraction par des solvants à polarité croissante	Dichlorométhane (DCM)	0,77±0,03
	Acétate d'éthyle	5,60±0,05
	éthanol	4,91±0,00
	méthanol	0,54±0,06
les antioxydants standards	Vitamine C	51,20±0,25
	Quercétine	0,91±0,01
	Acide gallique	4,21±0,01

Selon les résultats exprimés dans le tableau précédent, les valeurs d'EC₅₀ varient entre 0,51 et 4,90 µg/ml, ce qui montre une activité antiradicalaire très importante de nos extraits par rapport aux standards utilisés, d'autre part nous avons remarqué une puissante activité antioxydante chez l'extrait de butanol avec une valeur d'EC₅₀ (0,51) suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait d'Acétate d'éthyle (extraction hydro-alcoolique) qui ont enregistré des valeurs d'EC₅₀ (0,54) et (0,55) respectivement.

Afin de comparer l'activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH de nos extraits phénoliques avec celle de quelques antioxydants de référence (vitamine C ; acide gallique ; quercétine). Nous avons regroupés les valeurs des EC₅₀ dans l'histogramme présenté dans la (figure 14).

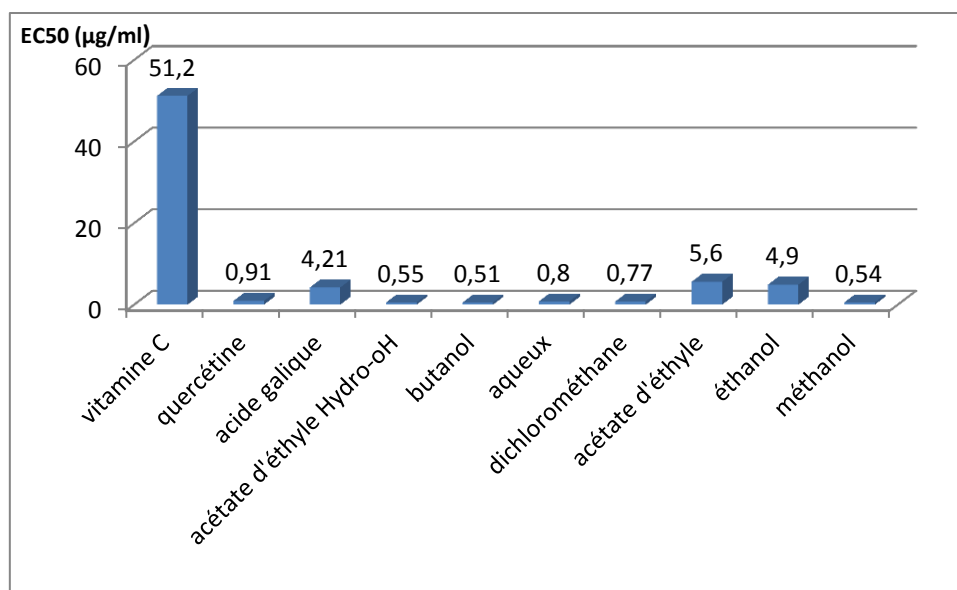


Figure 14: Histogramme classement croissant des valeurs EC₅₀(extraits et standards)

En comparant les valeurs des EC₅₀ des extraits testé par rapport à celle des antioxydants standards, nous remarquons que l'activité antiradicalaire de nos extraits est supérieure à la capacité du piégeage du radical DPPH des substances de référence, et l'extrait de butanol représente l'antioxydant le plus fort.

Une étude réalisée par **Boussoualim. N, 2014**, la plante *Globularia alypum L* a enregistré une valeur d'EC₅₀ de 37,48 et 336,58 µg/ml pour l'extrait aqueux et acétate d'éthyle (extraction hydro-alcoolique) respectivement par contre dans notre étude les valeurs ont été meilleures 0,81 et 0,55 µg/ml pour les deux extraits aqueux et acétate d'éthyle (extraction hydro-alcoolique) respectivement, ce qui explique l'influence de certains paramètres sur la teneur moyenne en composés phénoliques responsables de l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres (**Abdessemed., 2010**), ces facteurs sont les facteurs modulateurs de la composition phytochimique des plantes, à savoir la saison de la récolte, le temps d'extraction, la nature et la polarité du solvant et leur concentration, les conditions climatiques... (**Twiarriet al., 2011**).

II-2-2 Résultats du pouvoir antioxydant par le test du phosphomolybdate

Le test au phosphomolybdate est très utilisé et adéquat pour déterminer l'activité antioxydante totale (AAT) des extraits de plantes. Par conséquent, nous l'avons appliqué dans cette étude pour déterminer l'AAT de différents extraits phénoliques de l'espèce *Globularia alypum L* et deux standards (quercétine et l'acide galique).

Les courbes exprimant la variation de l'absorbances en fonction des concentrations en composés phénoliques des extraits issus de trois méthodes d'extraction sont présentées dans la (Figure15). Aussi nous avons tracé les courbes des antioxydants standard : vitamine C quercétine et l'acide gallique (Figure16), afin de référer le pouvoir antioxydant des différents extraits à celui de la vitamine C.

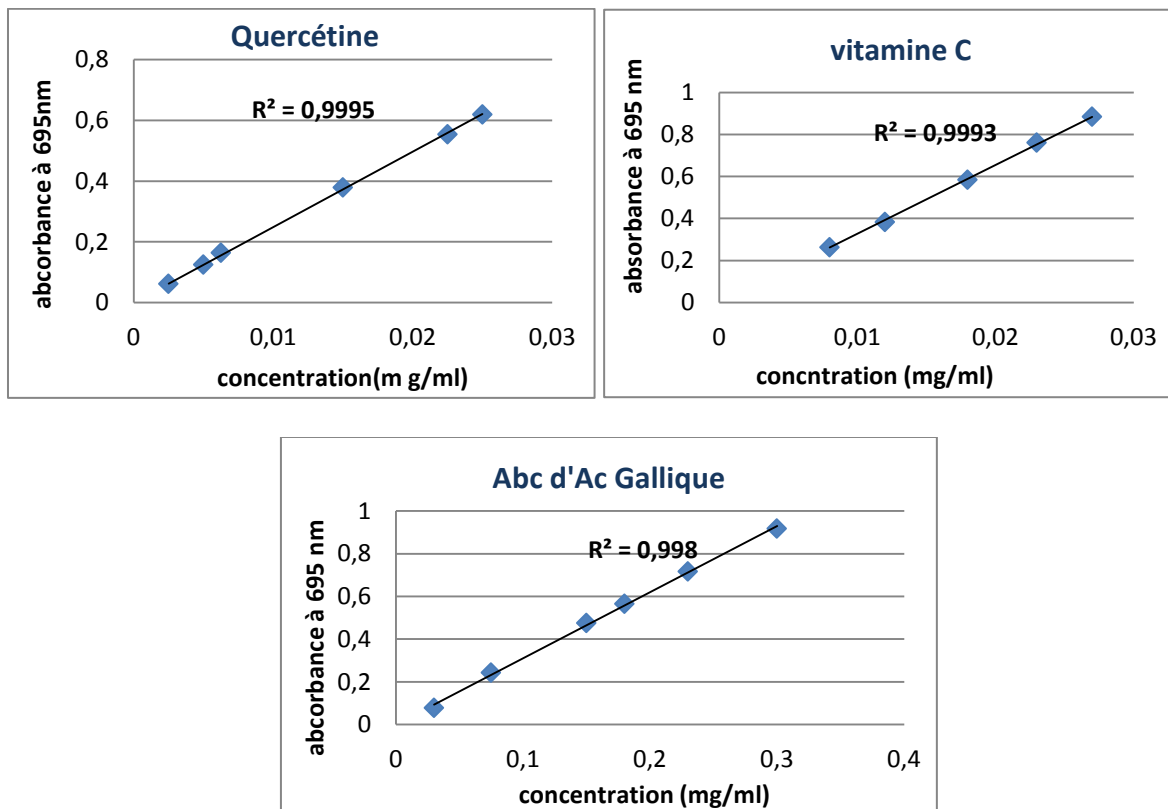


Figure15 :courbes représentant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration d'antioxydant standard

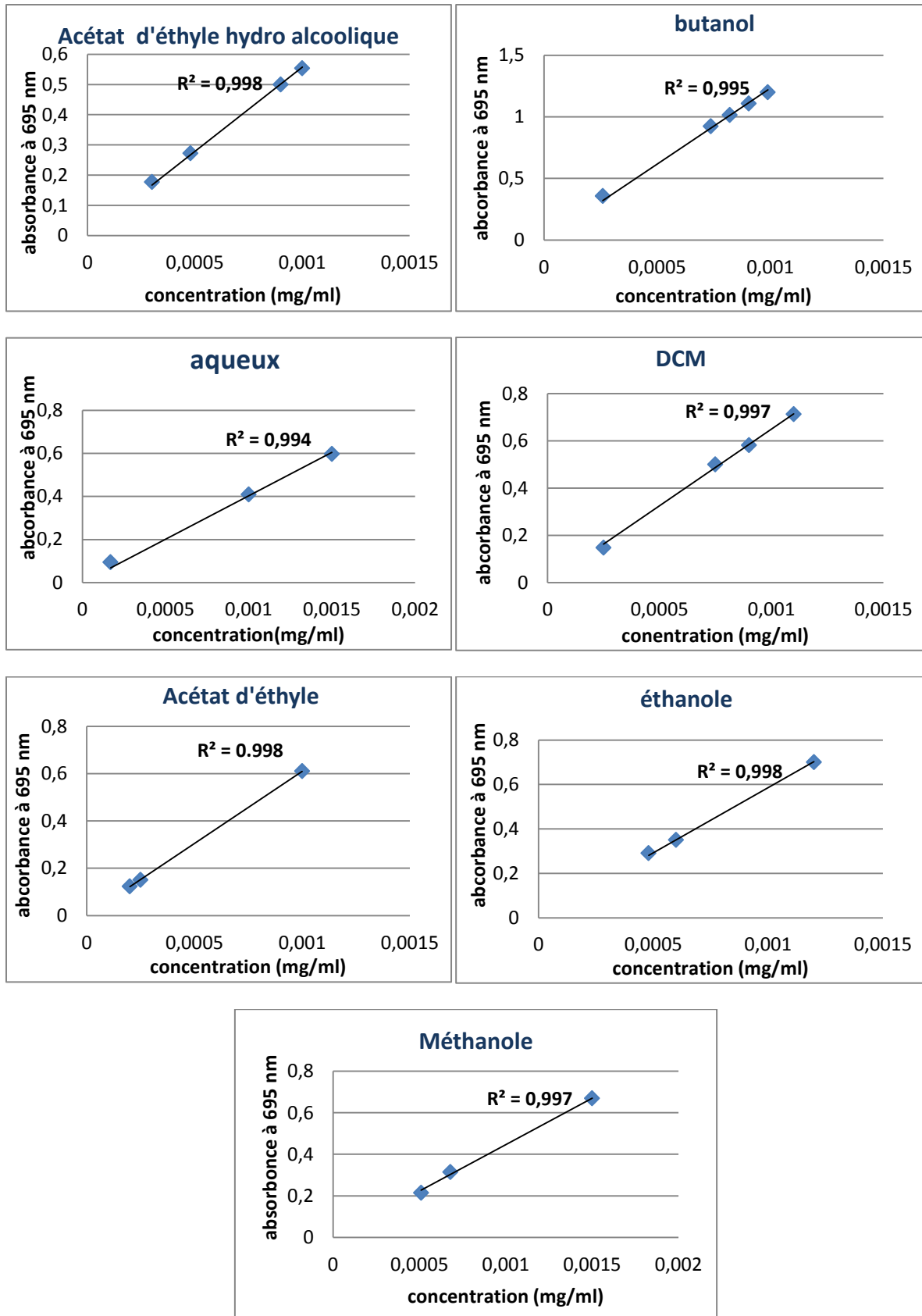


Figure 16: courbe représentant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration des différents extraits de l'espèce *Globularia alypum L.*

L'activité antioxydante de nos extraits a été référée à celle de la vitamine C en termes d'équivalence. Pour cela nous avons calculé le paramètre **VCEAC** (VitamineCEquivalent Antioxydant Capacity) à partir des pentes tirées des graphes ci-dessus (**Tableaux 08**).

Tableaux 08 :Les valeurs **VCEAC** des différents extraits et les antioxydants standards.

Méthode d'extraction	extraits	VECAC(mg /g)
Hydro-alcoolique	Acétate d'éthyle	17,01±0,00
	Butanol	37,61±0,04
Aqueux	Aqueux	12,29±0,49
Extraction par des solvants à polarité croissante	Dichlorométhane (DCM)	19,82±0,00
	Acétate d'éthyle	18,60±0,02
	Ethanol	17,88±0,02
	Méthanol	13,62±0,20
Les antioxydants standards	quercétine	0,75±0,00
	Acide gallique	0,09±0,00

D'après les résultats obtenus (Tableau 8), nous avons remarqué que l'efficacité de nos extraits à réduire Mo⁺⁶ à Mo⁺⁵ est très intéressante. Nos extraits phénoliques possèdent une meilleure activité comparativement aux standards utilisés.

On a constaté que les valeurs **VCEAC** varient globalement entre 12,29 mg/g **VCEAC** pour l'extrait aqueux et 37,60 mg/g **VCEAC** pour l'extrait de butanol par rapport à l'autre extraits qu'ils doté selon leur valeurs de **VCEAC** comme suit : Dichlorométhane > acétate d'éthyle (extraction par des solvants à polarité croissante) > éthanol > acétate d'éthyle (extraction hydro-alcoolique) > méthanol > aqueux.

Le paramètre **VCEAC** est défini comme étant la concentration de la solution standard de la vitamine C possédant la capacité antioxydante équivalente à une solution de 1 mg/g de la solution étudiée (extrait), plus la valeur de **VCEAC** est importante, plus le pouvoir antioxydant des extraits est important (**Benarous, 2014**).

D'une façon générale, nos extraits phénoliques montrent des propriétés antioxydantes intéressantes qui se manifestent par des valeurs supérieures à un (1). Ces activités antioxydantes proviennent de la richesse de nos extraits aux composés phénoliques (**Boussoussa .H., 2011**).

En comparant l'activité antioxydant de nos extraits entre les résultats des deux tests DPPH et phosphomolybdate, on observe que dans les deux tests l'activité la plus importante est celle de l'extrait butanolique.

L'investigation des banques de données scientifiques, n'a relevé aucune étude portant sur l'activité antioxydante totale par le test au phosphomolybdate des extraits phénoliques de l'espèce *Globularia alypum L.*

Conclusion

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé.

Les composés phénoliques identifiés dans cette plante appartiennent au métabolisme secondaire : flavonoïdes, saponines, tanins, terpénoïdes,.....ect. Ces substances seraient responsables de l'effet antioxydant observé.

Globularia alypum L est une plante caractéristique des régions méditerranéennes. Cette plante vivace pousse dans les lieux rocaillieux et broussailleux secs, de préférence sur du calcaire, en infusion pour leurs supposées propriétés antidiabétiques, astringentes, antirhumatismales, purgatives, stimulantes et anticancéreuses.

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des extraits phénoliques de l'espèce *Globularia alypum L* afin d'évaluer leurs propriétés antioxydantes. Ces dernières ont fait l'objet d'une étude détaillée, dans un premier temps nous avons commencé par une extraction avec des solvants à polarité croissante, une extraction hydro-alcoolique et aqueuse. Dans un second lieu, nous avons procédé à la quantification des phénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'évaluation de leurs effets anti radicalaire par deux tests : Piégeage du radical libre DPPH et le test de phosphomolybdate.

Les teneurs en phénol totaux varient entre 0.37 et 13.08 mg EAG/g de MS. Tandis que les teneurs en flavonoïdes varient entre 2.36 mg EQ/g pour l'extrait aqueux et 0.11 mg EQ/g pour l'extrait d'acétate d'éthyle (extraction par des solvants à polarité croissante).

La méthode de DPPH dont les résultats montrent que la plante *Globularia alypum L* porte un pouvoir antioxydant, avec des valeurs d'EC50 de 0.51 et 4.9 mg/ml pour les Acétate d'éthyle et éthanol respectivement.

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits de l'espèce *Globularia alypum L* par le test *in vitro* DPPH a montré des valeurs d'EC50 comprise entre 0.51 et 4.9 µg/ml pour les l'extrait acétate d'éthyle et l'éthanol respectivement.

Nous avons également mettre en évidence pour la première fois l'activité antioxydante de nos extraits par le test de phosphomolybdate, les résultats obtenus à travers ce test montrent que notre plante présente un pouvoir antioxydant très élevée avec des valeurs varient

Conclusion Générale

globalement entre 12.29 mg/g VCEAC pour l'extrait aqueux et 37.606 mg/g VCEAC pour l'extrait de butanol.

A la lumière des résultats obtenus, les extraits phénoliques de la plante étudiée *Globularia alypum L* sera de bonnes sources de molécules bioactive à caractères antiradicalaire. Et cet effet, cette étude mérite d'être approfondie en proposant comme perspectives de :

- Déterminer la structure des substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être une alternatif des médicaments synthétiques.
- D'autres études *in vivo* seraient intéressantes et plus prometteuse visant d'autres marqueurs biologiques tels que l'évaluation de l'activité antidiabétique.
- Une estimation des quantités ingérées de plantes biologiquement actives ou destinées à être récoltées est nécessaire, afin de mieux appréhender l'impact réel sur la santé des consommateurs.

1. **Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti B, Ghalem S., Benabadji N., 2008.** Phytotherapy of diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry* ; 20 (04) :2701-2710.
2. **Abdessemed H.,2010.** Etude de l'activité biologique des extraits du fruits de *Crataegus azarolus L.*
3. **Bastida J., Burillo J., Codina C., Flerlage N., Parejo I., Rosas-Romero A., Viladomat F. (2002).** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Agric Food Chem.* 50: 6882–6890.
4. **Bedi G., Tonzibo Z.F., Oussou K.R., Chopard C., Mahy J.P. & N'Guessan Y.T. 2010.-** Effect of essential oil of *Chromolaena odorata* (Asteracea) from Ivory coast, on cyclooxygenase function of prostaglandine-H synthase activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 4(8): 535-538.
5. **Benarous. K, 2010.** Evaluation de l'activité antioxydante et étude des effets inhibiteurs des extraits phénoliques, saponines et alcaloïdes sur la lipase de *Cnidida rugosa*, mémoire de Magister, université Amar Telidji, Laghouat, Algérie.
6. **Biesiada ,A., Tomaczak,A., 2012.**Biotic and Abiotic factors affecting the content of the chosen antioxydant compounds in vegetables. *Wroclaw university of environmental and life sciences grunwaldzka 24a,53-363wroclaw ,volum76 p 55-78.*
7. **Bonnaillie,B.,Salacs,M.,Vassiliova,E.,Saykova,I,2012.**Etude de l'extraction de composés phénolique à partir de pellicules d'arachide,*Arachis hypogaea L.*).*Revue de génie industriel* 7 :35-45.
8. **Bouhadjra, K., 2011 :** étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydatif de l'huile d'olive vierge. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister. Université Mouloud Mameri, Tizi-Ouzou.
9. **Bousoussa .H., 2010-2011. Activités** antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhanterium adpressum*
10. **Boussoualim. N., 2014.** Activités biologiques de plantes médicinales: *Anchusa azurea Mill.* et *Globularia alypum L.* thèse de doctorat , Université Ferhat Abesss Stif 1.
11. **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food. Sci. Technol,* 28 : 25–30.
12. **Bruneton J.,1993.**Pharmacognosie,phytochimie,plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier,Paris p 915.
13. **Chelghom.M.,2017 .**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et l'effet inhibiteur sur l' α -amylase de l'espèce *Globularia alypum L.* Mémoire du mastère ,Université Amar Telidji Laghouat.
14. **CHEN, W.-J., HSIAO, L.-C., CHEN, K. K. (2008).** Metal desorption from copper (II)/nickel(II)-spiked kaolin as a soil component using plant-derived saponin biosurfactant. *Process Biochemistry,* 43:488–98

15. **Chew, M. H., Xu, G. G., Ho, P. W., and lee, C. W. (2009).** A Propos d'un cas de syndrome compartimental glutéal après traitement chirurgical d'un anévrisme de l'aorte abdominale. *Annales de chirurgie vasculaire*, **23(4)**, 17-21.
16. **Chograni H, Riahi L, Zaouali Y, Boussaid M., 2001.** Polyphène, Flavonoïdes, activité antioxydante dans les feuilles et fleurs de *Tunisian Globularia alypum L.* (Globulariaceae). *African Journal of Ecology* 51 : 343-34.
17. **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4): 564- 582.
18. **Crosier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites : Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
19. **Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs : Ed Yves Dacosta, Paris, 2003, p. 317.
20. **Delattre J., théron P., Bonnefont-Rousselot D., 2005.** Espèces réactives de l'oxygène antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspect biologiques et pathologiques. Paris : La Voisier : 281-309.
21. **Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N.A., Kumar, S., 2013.** Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxydant activity of *Withania somnifera*. *Arabian journal of Chemistry*.
22. **Favier A.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006 ;64 :390-396.
23. **Franchomme, P., Jollois, R., Penoel, D., 2001.** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles.
24. **Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E., and Offen, D 2001.** Oxidative stress induced neurodegenerative diseases : the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology* **40** :959-975.
25. **Gomez-caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arràez-Romàn, D., Sgur-Carretero, A., & Fernandez-Gutiérrez, A., 2006.** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**, 1220-1234
26. **Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R.** Mesure de la résistance aux radicaux libres. sixièmes Journées de la Recherche Avicole 2005 ;554-558.
27. **Haslam, E. (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat Pro*, 59: 205-215.
28. **Iserin, P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres
29. **Jeun, J.M., Annie, F., Chrystian, J.L. (2005).** les composés phénoliques des végétaux, p203-204.
30. **Jouad H, Maghrani M, Eddouks M., 2002.** Hypoglycemic effect of *rubus fruticosus L.* and *Globularia alypum L.* In normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* (81) :351-6.
31. **Justine, Odile, Carole P., 2005 :** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat. Université Paul Sabatier, Toulouse.

32. **Khacheba, I., Djeridane, A., Yousfi, M., August 2014.** Twenty Traditional Algerian plants Used in Diabetes Therapy as Strong inhibitors of α -Amylase Activity. International Journal of carbohydrate chemistry. Article ID 287281 , p1-12.
33. **Khelifi D, Hamdi M, El Hayouni A, Cazaux S, Souchard J,P, Couderc F, Bouajila J., 2001.** Global Chemical Composition and Antioxidant and Anti-Tuberculosis Activities of Various Extract of *Globularia alypum* L. Leaves. *Molecules* 16 : 10592-10603.
34. **Kim D.O., Lee C.Y., Seung W.J. (2003).** Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food chemistry*. **81** :321-326.
35. **Kohen R, and Nyska A. Invited review.** Oxidation of biological Systems : oxidative stress Phenomena, Antioxidant, Redox Reactions, and Methods for their Quantification *Toxicol. Path.* 2002 ; 30 :620-650.
36. **Leporatti M, Ghedira k., 2009.** Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. *Journal of Ethnobiol ethnomed* 5-31.
37. **Maamri S., 2008.** Etude de pistacia atlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de Magister Université de Boumerdes. P 10 11 12 35 57.
38. **Markham, K.R., 1982** Technique of flavonoid identification. Academic Press. London .
39. **Merghem, R., 2009.** élément de biochimie végétales. Bahaeddine edition. P :95, 103, 120-121.
40. **Miliauskas G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A., 2004** .screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract .*Food chemistry*.85 :231-237.
41. **N. Stankovic., 2016.** Antibacterial and Antioxidant activity , Thèse de doctorat Université de Toulous, Paris.
42. **Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M, 2003.** Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J. Nat prod*, 66(7) :1022-1037.
43. **Nkhili E., 2009.** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant Thèse de doctorat Université de Marrakech. 187-193.
44. **Norman R. Farnsworth, Olayiwola Akerele, Audrey S. Bingel, Djaja D. Soejarto, and Zhengang Guo., 1986.** Place des plantes Médecinales dans la thérapeutiques. 159-175.
45. **Pastre O.J. (2005).** Intérêt de la supplémentaires en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de Docteur vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 120 p.
46. **Quezel P., Santa., 1963.** Nouvelle flore de l'algérie et des régions désertique méridionales. Edition du centre national de la recherche scientifique. P :35-40.
47. **Rahman, I., Biswas, S.K., Kirkham, P.A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72: 1439-1452.
48. **Ribereau-Gayon p., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris, 254p.

49. **Samira, N, 2009.** Les phénomènes de repliement et de dépliement des protéines :Protéine d'ubiquitine, Etude de simulation et conséquences médicales, mémoire de Mgister, université ES-Senia, Oran, Algérie.
50. **Singleton, V. L., Rossi, J. R. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic*, 16 : 144–158.
51. **Small, E., Catling, P.M. (2000).** Les cultures médicinales canadiennes. Presses scientifiques du CNRC, Ottawa (Ontario), Canada. 281.
52. **Su X, Duan J, Jian Y, Shi J and Kakuda Y., 2006.** Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *J Food Composition Anal* 19: 348-353.
53. **Teixeira et Silva J.A.** Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol.* 2004 ;3 :706-720.
54. **Twiar., P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, H., 2011.** Screening and Extraction. *International, Pharmaceutica Scincia*, volume 1 p 98-106.
55. **Vermerris W., 2006.** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).
56. **VINCKEN, J.-P., HENG, L. DE GROOT, A., GRUPPEN, H. (2007).** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68:275–297.

Résumé

Ce travail s'intéresse à l'étude de l'activité antioxydante de l'espèce de *Globularia alypum* L, elle est une plante médicinale caractéristique des régions méditerranéennes. Cette plante vivace pousse dans les lieux rocaillieux et broussailleux secs.

La quantification des phénols totaux et flavonoïdes des extraits on montrée des teneurs varient entre 0.37 et 13.08 mgEAG/g de MS ,et entre 2.36 et 0.11 mgEQ/g de la matière sèche respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante testée par les tests DPPH et phosphomolybdate ,montre que tous les extraits présentent un pouvoir antioxydant important comparativement aux antioxydants pris comme référence ; avec des valeurs d'EC₅₀ varient entre 0.51 et 4.9 µg/ml pour le test DPPH .et des valeurs varient globalement entre 12.29 et 37.606 mg/g VCEAC pour le test phosphomolybdate.

Mots clés : *Globularia alypum* L, composés phénoliques, Activité antioxydante, phosphomolybdate, DPPH.

Abstract

This work focuses on the study of the antioxidant activity of the species *Globularia alypum* L, it is a characteristic plant of the Mediterranean regions. This perennial grows in dry rocky and scrubby places.

The quantification of the total phenol and flavonoid content of the extracts showed levels ranging between 0.37 and 13.08 mg EAG / g DM, and between 2.36 and 0.11 mg EQ / g dry matter respectively.

The evaluation of the antioxidant activity tested by the DPPH and phosphomolybdate tests, shows that all the extracts have an important antioxidant power compared to the antioxidant taken as reference; with EC₅₀ values vary between 0.51 and 4.9 µg / ml for the DPPH test and values vary globally between 12.29 and 37.606 mg / g VCEAC for the phosphomolybdate test.

Key words: *Globularia alypum* L, phenolic compounds, antioxidant activity, phosphomolybdate, DPPH.

ملخص

يتناول هذا العمل دراسة نشاط مضادات الأكسدة لنبات *Globularia alypum* L وهو نوع من النباتات الطبية التي تنمو في المناطق المتوسطة والمناطق الجافة. أظهر التقدير الكمي للمحتوى الكلي للفينول والفلافونويد في المستخلصات مستويات تتراوح بين 0.37 و 13 mgEAG/g و بين 2.36 و 0.11 mgEQ/g MS على التوالي. يوضح تقييم نشاط مضادات الأكسدة الذي تم اختباره بواسطة اختبارات DPPH و Phosphomolybdate ، أن جميع المستخلصات لها قوة مضادة للأكسدة مهمة مقارنة بمضادات أكسدة التي يتم أخذها كمرجع مع قيم EC₅₀ تختلف بين 0.51 و 4.9 µg/ml لإختبار DPPH و القيم تختلف عالمياً بين 12.29 و 37.606 mg / g VCEAC لإختبار phosphomolybdate .

الكلمات المفتاحية : *Globularia alypum* L ، المركبات الفينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، Phosphomolybdate ، DPPH.

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

Chapitre II : Matériels et méthodes

Chapitre III : Résultats et discussion

Conclusion

Référence
bibliographies