

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي 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 : Science Biologique

Option : Biochimie appliquée

THEME :

**Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des
extraits polaires des racines des espèces *Aristolochia
longa* et *Berberis vulgaris***

Présenté par : Melle BENZINEB Souad

Devant le jury :

Melle MENADI Zohra

Mme KRAZA Lamia

Présidente

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

M. BOUKROUIS Djoudi

Examineur

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Melle ZAKHROUF Zohra

Promotrice

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Mme NEBGH Halima

Co-Promotrice

MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Année universitaire : 2018/2019

Soutenu publiquement le : 02/07/2019

Résumé

Aristolochia longa et *Berberis vulgaris* sont deux plantes médicinales connues sous le nom de « Berrostom » et « Oud ghris » respectivement, elles sont très répandues et très utilisées dans la médecine traditionnelle. Dans ce travail nous nous sommes intéressés aux différents extraits phénoliques (DCM, acétone et méthanol) de ces plantes dont l'objectif principal est d'évaluer l'activité anti radicalaires. D'après les résultats obtenus nous avons enregistré des teneurs moyennes en polyphénols, des valeurs qui varient de 14.551 ± 0.644 à 590.357 ± 72.062 μg EAG/100g de MS, des teneurs moyennes aussi en flavonoïdes : de 1.722 ± 0.0057 à 178.074 ± 4.224 μg EQr/100g MS pour l'*Aristolochia longa* et le *Berberis vulgaris*. L'activité antioxydante des différents extraits polaires a été évaluée par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) et la réduction du fer (FRAP). Les résultats obtenus nous montrent une activité élevée de l'extrait méthanolique avec une $EC_{50} = 0.073 \pm 0.004$ mg/ml et 0.079 ± 0.005 mg/ml de racines d'*Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* respectivement ; L'extrait acétonique et méthanolique présentent une bonne capacité de réduction au fer. Les méthodes de l'activité antioxydante montrent que tous les extraits des plantes étudiées présentent des propriétés antioxydants avec les deux tests utilisés, sauf l'extrait de dichlorométhane des racines d'*Aristolochia longa*. Les racines de *Berberis vulgaris* présentent aussi une bonne source des molécules bioactives qui ont des propriétés biologiques meilleures par apport aux racines d'*Aristolochia longa*.

Mots clés : *Aristolochia longa*, *Berberis vulgaris*, Polyphénols, flavonoïdes, DPPH, FRAP, Activité antioxydante.

Abstract

Aristolochia longa and *Berberis vulgaris* are two medicinal plants known under the name of "Berrostom" and "Oud ghris" respectively, they are very widespread in the world and used in traditional medicine. In this work we were interested in different phenolic extracts (DCM, acetone and methanol) of these plants in which our principal objective is to evaluate the antioxydant activity. The obtained results showed average contents of polyphenols in which their values ranges from 14.551 ± 0.644 to 590.357 ± 72.062 μg AGE/100g of DM, contents average also of flavonoïdes : from 1.722 ± 0.0057 to 178.074 ± 4.224 μg QrE/100g DM for *Aristolochia longa* and *Berberis vulgaris*. The antioxydant activity of the various polar extracts was evaluated by two methods: DPPH and the FRAP test. Obtained results showed a high activity of the extract methanolic with $EC_{50} = 0.073 \pm 0.004$ mg/ml and 0.079 ± 0.005 mg/ml of roots of *Aristolochia longa* and *Berberis vulgaris* respectively. The acetonic and methanolic extract have a good reduction capacity by FRAP test. Methods of the antioxydant activity show that all the extracts of the studied plants present antioxydant properties, except the extract of dichlorométhane of the roots of *Aristolochia longa*. The roots of *Berberis vulgaris* presents also a good source of the bioactive molecules which have better biological activity.

Key words: *Aristolochia longa*, *Berberis vulgaris*, Polyphenols, flavonoïdes, DPPH, FRAP, antioxydant Activity.

ملخص

تعتبر النباتان *Aristolochia longa* و *Berberis vulgaris* من النباتات الدوائية المعروفة تحت اسم "برستم" و "عود غريس" على التوالي، وهما منتشران للغاية ويستخدمان كثيرًا في الطب التقليدي. في هذا العمل كنا مهتمين باستخدام محاليل مختلفة من الفينول (ثنائي كلور الميثان؛ الأسيتون والميثانول) من هذه النباتات التي يتمثل هدفها الرئيسي في تقييم نشاط مضادات الجذور الحرة. وفقًا للنتائج التي تم الحصول عليها، سجلنا متوسطًا لمحتويات البوليفينول، حيث تتراوح القيم بين 14.551 ± 0.644 و 590.357 ± 72.062 ميكروغرام مكافئ لحمض الغاليك/100غ من المسحوق الجاف، ومتوسط محتويات أيضًا للفلافونويدات: 1.722 ± 0.0075 و 178.074 ± 4.224 ميكروغرام مكافئ لكيرستين / 100 غ من المسحوق الجاف لـ *Aristolochia longa* و *Berberis vulgaris*. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة للعديد من المستخلصات القطبية بطريقتين: القدرة على تثبيط الجذر الحر (2،2-ديفينيل-1-بيكريل هيدرازيل) DPPH و إرجاع الحديد FRAP. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها نشاطًا عاليًا في مستخلص الميثانول التي تحتوي على $EC_{50} = 0.073 \pm 0.004$ ملغ/مل و 0.079 ± 0.005 ملغ/مل من جذور *Aristolochia longa* و *Berberis vulgaris* على التوالي؛ يحتوي مستخلص الأسيتون والميثانول على قدرة جيدة على إرجاع الحديد. توضح طرق نشاط مضادات الأكسدة أن جميع المستخلصات من النباتات المدروسة تقدم خصائص مضادة للأكسدة مع اثنتين من الاختبارات المستخدمة، باستثناء خلاصة ثنائي كلور الميثان من جذور *Aristolochia longa*. تقدم جذور *Berberis vulgaris* أيضًا مصدرًا جيدًا لجزيئات التأثيرات الحيوية التي لها خواص بيولوجية أفضل عن طريق المساهمة مع *Aristolochia longa*.

الكلمات المفتاحية: برستم، *Aristolochia longa*، عود غريس، *Berberis vulgaris*، بوليفينول، فلافونويد، DPPH، FRAP، نشاط مضاد للأكسدة.

Dédicace

A ALLAH

Tout puissant qui m'a inspiré, qui m'a guidé dans le bon chemin. Je vous dois ce que me suis devenu louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde

A MES PARENTS

Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué. Votre bonté et votre générosité sont sans limite.

Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.

J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous êtes fières de moi, et que me réalise l'un de vos rêves.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand amour que je n'ai su exprimer avec les mots.

A MES SŒURS, MES FRERE

« Amina, Hadjer, Mouloud, Mohamed et Fethi »

MES NIECE

« Salssabile et Meriem elbatoul »

J'espère avoir été à la hauteur de vos estimes et que ce travail soit un témoignage de mes sentiments les plus chers que j'ai pour vous. Je vous souhaite une bonne santé et un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite dans votre vie professionnelle. Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A TOUS LES MEMBRES DE LA FAMILLE

Ce travail est le vôtre. Il est le fruit des liens sacrés, qui nous unissent. Retrouvez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères.

A MES CHERES AMIES

Au souvenir des moments qu'on a passé ensemble. Vous m'avez offert ce qu'il y'a de plus cher: l'amitié. Que notre amitié durera pour toujours.



Souad

Dédicace

Tout D'abord spécialement A ma chère mère pour leur tendresse et leur encouragement durant tout ma vie et qui sans elles rein n'aurait été possible ;

A mon cher père, son aide et son compréhension ;

A ma chère sœur : *Fatima alzohra*.

A mes chers frères : *Mohamed lahbib ; Lakhdar ; Sedik ; Naceur ; Boualam*.

A tous mes chères amies avec qui j'ai passé du bon temps à l'Université.

A mes collègues de promotion Master biochimie Appliquée 2018/2019.



Zohra Dalila

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'Allah qui nous donne la force afin de l'accomplir.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre promotrice *Mlle ZAKHROUF ZOHRRA* d'avoir proposé et dirigé ce travail, de nous donner ses conseils judicieux et son attention qu'elle a apporté pour la réalisation de ce mémoire.

Nous vifs remerciements vont également à notre Co- encadreur *Mme NEBGH HALIMA* pour son aide.

Nos remerciements aux honorables membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci aux responsables de laboratoires du Département de Biologie et aux ingénieurs des laboratoires surtout *M. Hadj Aissa* et *Mlle Gaoui Halima ; Mme Aouira Fatima*

Enfin à tout ce qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Table de matière

RESUME

ABSTRACT

ملخص

LISTE DE TABLEAU

LISTE DES FIGURE

ABREVIATION

INTRODUCTION2

CHAPITRE I: Etude Bibliographique.....4

1. Généralités sur les plantes étudiées5

1.1. Aristolochia longa5

1.1.1. Présentation de la famille5

1.1.2. Distribution et habitat.....5

1.1.3. Description botanique5

1.1.4. La systématique de la plante6

1.1.5. Utilisation de l'Aristolochia longa dans la médecine traditionnelle7

1.1.6. La composition chimique7

1.1.7. Toxicité8

1.2. *Berberis vulgaris L.*.....9

1.2.1. Présentation de la famille9

1.2.2. Distribution et habitat.....9

1.2.3. Description botanique9

1.2.4 . La systématique de la plante10

1.2.5. Utilisation de *Berberis vulgaris* dans la médecine traditionnelle11

1.2.6. Composition chimique11

1.2.7. Toxicité12

2. Métabolites secondaire12

2.1. Les composés phénoliques	13
2.2 . Propriétés biologiques des polyphénols	14
3. L' activité antioxydante.....	15
3.1 . Les antioxydants.....	15
3.1.1. Mécanismes d'action des antioxydants	185
3.1.2. Toxicité des antioxydants	186
3.2. Les radicaux libres	177
3.2.1. Définition d'un Radical libre.....	17
3.2.2. Rôle biologique des radicaux libres	17
3.3.Stress oxydatif.....	18
3.3.1.Définition du stress oxydatif	158
3.3.2.Les conséquence biologiques du stress oxydant	168
CHAPITRE II:Matériels et Méthodes	19
Objectif.....	20
1. Matériels.....	20
1.1. Le matériel biologique	20
1.2. Les produits chimiques.....	21
2. Méthodes.....	21
2.1. Les Méthode d'extraction.....	23
2.2. Dosage des composés phénoliques	24
2.2.1. Dosage des phénols totaux	24
2.2.2. Dosage des flavonoïdes	25
2.3. Evaluation de pouvoir antioxydant.....	26
2.3.1. Effet scavenger du radical libre DPPH.....	26
2.3.2. Test FRAP	28
CHAPITREIII: Résultats et discussions	30
1. Détermination du rendement d'extraction.....	31
2.Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes	33

3.Étude du pouvoir antioxydant des extraits polaires des deux plantes étudiées	36
3.1. Évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH	36
3.2. Évaluation de l'activité antioxydants par le test FRAP	39

Conclusion et perspective.....	43
---------------------------------------	-----------

Références bibliographique

Annexes

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les principaux produits chimiques et les réactifs utilisés.	21
Tableau 2 : les rendements, couleur et aspect des extraits des racines de <i>Aristolochia longa</i> et <i>Berberis vulgaris</i>	31
Tableau 3 : Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de deux plantes étudiées	34
Tableau 4 : les valeurs d'EC ₅₀ du test DPPH de chaque extrait.	38

Liste des figures

Figure 1 : <i>Aristolochia longa</i> , Belrostom(Laouedj., 2017).....	6
Figure 2 : Structure chimique de l'acide aristolochique (Benarba.,2013).....	8
Figure 3 : <i>Berberis vulgaris</i> , Epine vinette (Hans., 2011)	10
Figure 4 : Structure chimique de la berbérine (Djoudi., 2012).....	12
Figure 5 : Classification générale des composés phénoliques (Benarous., 2010).	13
Figure 6 : Rôle des antioxydants d'origine nutritionnelle dans l'équilibre pro/antioxydants (Manon.,2014).....	16
Figure 7 : Carte géographique montre la région de récolte les deux plantes étudiées	20
Figure 8 : Schéma descriptif des étapes suivies pour l'étude de <i>Aristolochia longa</i> et <i>Berberis vulgaris</i>	22
Figure 9 : Procédure de l'extraction des composés phénoliques.....	23
Figure 10 : Structure d'acide gallique Bouchouka., (2016)	24
Figure 11 : structure de la quercitrine. Marfek., (2003).	25
Figure 12 : Structure chimique du radical DPPH' et de sa forme réduite. Bouchouka.,(2016)	27
Figure 13 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe.....	28
Figure 14 : Histogramme montre les rendements de l'extraction	32
Figure 15 : Courbes d'étalonnage d'acide gallique et de quercitrine pour le dosage des phénols totaux et flavonoïdes.....	33
Figure 16 : Teneurs en polyphénols et flavonoïdes pour les différents extraits de A : <i>Aristolochia longa</i> et B : <i>Berberis vulgaris</i>	35
Figure 17 : Représentation graphique du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction concentration) du standard.....	36
Figure 18 : représentations graphique du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) des extraits	37
Figure 19 : Le pouvoir réducteur de Vit C	39
Figure 20 : Le pouvoir réducteur des extraits des plantes étudiées testé par la méthode de FRAP. A : <i>Aristolochia longa</i> et B : <i>Berberis vulgaris</i>	40

Abréviations

A

A : *Aristolochia longa*

AH : Antioxydant oxydée

AG : Acide Gallique

AlCl₃ : trichlorure d'Aluminium

B

B : *Berberis vulgaris*

BHT 321 : 3,5-Ditertiobutyl-4-Hydroxytoluène

BHA 320 : 3-Tertiobutyl-4-Hydroxyanisole

C

C° : degré Celsius

D

DCM : Dichlorométhane

DPPH : 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyle

E

EC₅₀ : concentration inhibitrice à 50%

EGA : Equivalant Acide Gallique

ERO : Espèce réactive oxygénée

F

Fe : Fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power

H

HCl : chlorure d'Hydrogène

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide Phosphotungstique

H₃PMO₁₂O₄ : Acide Phosphomolybdique

I-L-M

I% : pourcentage d'inhibition

LH : Molécule Lipidique

LOOH : Lipide Hydroperoxyde

MS : Matière sèche

N-O

NO° : Monoxyde Azote

OH° : Hydroxyle

ONOOH : Nitroperoxyde

1O₂ : Oxygène Singulet

O₂⁻ : Anion Superoxyde

Q-R

Qr : Quercétine

Rd% : Rendement

RL : Radical Libre

RO° : Radical Alkoxyde

ROO° : Radical Peroxyle

S-T-V

SOD : Super Oxyde Dismutase

TBHQ : Tertiobutyl-Hydroxyquinone

TPTZ : Tri pyridyltriazine

αTO : α-Tocophérol

Vit C : Acide Ascorbique

Introduction

Les plantes médicinales restent toujours les bio-ressources les plus riches de médicaments, dans la médecine traditionnelle, et dans la médecine moderne (**Tiwari et al. 2011**). Les plantes sont utilisées pour le traitement de divers problèmes de santé depuis des milliers d'années.

Le premier écrit documentant les utilisations médicinales des plantes remonte à la civilisation sumérienne, 2600 ans avant JC les musulmans de leur part ont contribué de façon remarquable à ces connaissances ; citons, entre autre, le médecin algérien Abderrezak Ibn Hamedouche El Jazairi (18 ème siècle) qui fut l'auteur d'une encyclopédie riche et méthodique des plantes médicinales maghrébines et algériennes, avec leur noms arabes et locaux :« Kechf erroumouz fi bayane el aachab ». Plus de 80% des populations des pays en développement est totalement dépendante des plantes médicinales relativement aux soins sanitaires de base (**Benarba., 2013**).

Au cours de ces dernières années, un nombre croissant de rapports confirment que beaucoup de fruits et légumes peuvent offrir une protection contre certaines maladies chroniques causées par le stress oxydatif, et une attention considérable a été portée aux propriétés antioxydantes des plantes qui peuvent être utilisés pour la consommation humaine (**Bouchouka., 2016**).

Les composés phénoliques suscitent un intérêt considérable dans le domaine de l'alimentaire, de la chimie et de la médecine en raison de leur potentiel antioxydant prometteur. Les composés phénoliques ou polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes. Ces métabolites comprennent de nombreuses classes de composés allant des acides phénoliques simples aux flavonoïdes complexes (**Nawaz et al., 2006**).

Les éventuels avantages de la consommation des polyphénols pour la santé ont été suggérés de dériver de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Ils ont également des activités anti-ulcéreuse, anti-cancérogène et anti-mutagène (**Bouchouka.,2016**). La raison de ces activités est le fort caractère antioxydant des polyphénols, qui est basée sur leur capacité à éliminer les radicaux libres (**Nawaz et al., 2006**).

Par ailleurs, Les antioxydants artificieux, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène hydroxyle toluène (BHT), et butylhydroquinone tertiaire (TBHQ), ont été largement utilisés dans les denrées alimentaires pour prévenir les radicaux libres, mais leur utilisation est progressivement restreinte dans l'industrie alimentaire car ils sont soupçonnés d'être toxiques et cancérigènes. Pour cette raison, il y a eu une demande croissante pour les antioxydants d'origines végétales dans les aliments, les boissons et les industries cosmétiques.

La valorisation des plantes médicinales en vue d'exploiter leurs extraits ou leurs principes actifs représente donc un potentiel économique énorme. **(Bouchouka., 2016).**

Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude est de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des extraits polaires de deux plantes médicinales *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* . Le choix des plantes est justifié d'une part par une vaste utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle, et d'autre part, par une recherche bibliographique qui a révélé qu'il y a un nombre restreint de rapports scientifiques pour les deux espèces en Algérie.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en trois parties :

- La première partie concerne l'étude bibliographique, commençant par une description botanique de *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris*, suivi par quelques généralités sur les polyphénols, le stress oxydatif et les antioxydants ;
- La deuxième partie concerne le détail du matériels utilisés et les méthodes suivies pour évaluer l'activité antioxydante ;
- La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

Le manuscrit se termine par une conclusion et des perspectives.

Étude
Bibliographique

1. Généralités sur les plantes étudiées

1.1. *Aristolochia longa*

Aristolochia longa appartient à la famille des *Aristolochiaceae* elle est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne sous le nom de Berroztom.

1.1.1. Présentation de la famille

La famille des *Aristolochiaceae* est une famille de plantes herbacées. Durant les vingt dernières années, les membres de cette famille, surtout ce genre *Aristolochia*, ont suscité beaucoup d'attention de la part des recherches, et étaient sujets de plusieurs études pharmacologiques. La famille des *Aristolochiaceae* comprend six genres et environs 625 espèces. Le genre *Aristolochia* est le plus large avec plus de 300 espèces suivi par le genre *Asarum* (Benarba., 2013).

1.1.2. Distribution et habitat

Cette plante se trouve en Europe méridional, assez rarement en Espagne et très rarement dans les autres pays. On la trouve également en Afrique du nord. (Skinner, 1999). Elle est utilisée depuis l'antiquité dans le bassin méditerranéen, les médecins grecs la recommandaient contre les insuffisances ovariennes et en Egypte, elle était appliquée contre les morsures de serpent (Mezouar., 2013)

En Algérie la plante est surtout rencontrée dans la région centre. Rapporte sa présence entre autre à l'ouest au niveau des monts de Tlemcen. Au centre dans la région du Réghaia (Benarba., 2013), Médea (Cherif *et al.* 2009) et aux monts de Cheréa de la wilaya de Blida (Saidi *et al.* 2009) en Kabylie, au niveau de la forêt de Mizrana dans la wilaya de Tizi-ouzou (Bekdouche *et al.* 2008) et dans la région de Laghouat (Djeridane *et al.* 2006).

1.1.3. Description botanique

Aristolochia longa est une plante vivace à tige anguleuse, plus ou moins flexueuse, pouvant atteindre 80cm ; feuilles ovales, cordées à la base, à nervures apparentes, longuement pétiolées, disposées alternativement, sur presque toute la longueur de la tige ; fleurs verdâtres ou jaunâtres tubuleuse, en forme de cornet au sommet recourbé

en tête de cobra, renflées à la base ; fruits capsulaires ; souche longue, cassante
(Benarba., 2013) (Figure 01)



Figure 1: *Aristolochia longa*, Belrostom (Laouedj., 2017)

1.1.4. La systématique de la plante

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta (Angiospermes)

Classe : Magnoliopsida

Famille : Aristolochiaceae

Genre : *Aristolochia*

Espèce : *Aristolochia longa*

Nom vernaculaire : Aristoloche longue

Nom commun : Sarrasine, Aristoloche de vigne En Algérie, elle est appelée aussi Belrostom ou el zerwand et taouil (الزراوند الطويل) (Benarba., 2013).

1.1.5. Utilisation de l'*Aristolochia longa* dans la médecine traditionnelle

Les racines du *Aristolochia longa* pulvérisées, associées au henné sont utilisées pour les maladies de la peau. Elles sont utilisées également, seules en décoction contre l'asthme. L'Aristolochie est une plante abortive employée autrefois lors d'accouchements. Les racines sont utilisées pour traitement de palpitations de l'aorte, de la constipation et des infections intestinales. Les racines sont aussi utilisées dans les intoxications et comme alexitére (antidote des morsures de serpents). **(Bammi et Douira., 2002).**

Aristolochia longa est largement utilisée dans la médecine populaire algérienne surtout dans le traitement du cancer **(Cherif et al., 2009 ; Saidi et al., 2009)** son utilisation croissante en phytothérapie des cancers au Maroc est également rapportée. Le rhizome en poudre mélangé avec du miel ou du "Smen" est utilisé en cas de cancers (une cuillère par jour pendant 2 à 3 mois). Elle est aussi indiquée en cas de diabète et d'asthme. Les rhizomes, en décoction, sont utilisées contre les affections intestinales, les intoxications aiguës et peut provoquer l'avortement chez les femmes. Une décoction est utilisée comme stimulante de l'appétit. *Aristolochia longa* également utilisé dans le traitement des maladies cutanées. **(Benarba., 2013)**

Cette plante aussi peut être utilisée Pour traiter la leishmaniose cutanée, les racines broyées appliquées sur l'endroit infecté chaque jour jusqu'à guérison **(El Rhaffari et al., 2002).**

1.1.6. La composition chimique

Plusieurs acides aristolochiques et aristolactams ont été isolés et caractérisés dans *Aristolochia longa*.

Les composés phénanthréniques sont caractéristiques des plantes du genre *Aristolochia*, Ces composés comprennent les acides aristolochiques est les aristolactams.

- Les acides aristolochiques sont une mixture d'acides carboxyliques nitrphénanthréniques, qui sont structurellement reliés, dont les molécules représentatives sont l'acide carboxylique 8-methoxy-6-nitrophenanthro-(3,4-D)-1,3-dioxolo-5-(acide aristolochique I) et sa forme 8-déméthoxylée(acide aristolochique II) (Figure 2)

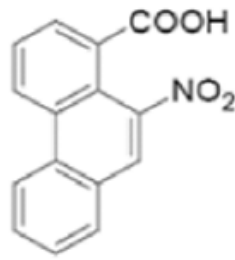


Figure 2: Structure chimique de l'acide aristolochique (Benarba.,2013)

- Les aristolactames constituent une classe d'alcaloïdes tétracycliques articulés autour d'un noyau phénanthrénique fusionné avec un système lactamique. Ils sont structurellement et biogénétiquement apparentés aux aporphines, et sont considérés comme les principaux métabolites de détoxication des acides aristolochiques .

Les acides aristolochiques sont néphrotoxiques pour plusieurs espèces, mutagéniques chez les bactéries et carcinogènes chez les rongeurs (Benarba., 2013).

1.1.7. Toxicité

Elle est surtout due à l'acide aristolochique qui est un agent néphrotoxique et provoque une insuffisance rénale aigue et des lésions tubulaires chez les animaux de laboratoire, et chez les humains, engendrant ainsi un cancer des voies urinaires.

Cependant, les études de toxicité subaiguë et chronique doivent être approfondies pour valider l'innocuité de l'extrait aqueux d'*Aristolochia longa* sur une utilisation à long terme. (Tachema et Bendimerad., 2018).

1.2. *Berberis vulgaris* L

Berberis vulgaris appartient à la famille des *Berberidaceae* elle est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne sous le nom de Oud ghris.

1.2.1. Présentation de la famille

La famille *Berberidaceae* comprend 15 genres et 650 espèces Il est largement réparti, en particulier dans les régions tempérées de l'hémisphère nord. Dans les Andes. En Europe 5 genres (*Mahonia* Cultivée) et 10 espèces. (Hans *et al.*, 2011).

Le premier de ces mots évoquerait les personnes étrangères au monde gréco-romain et s'apparenterait au mot barbare. Quand à *berberis*, il serait issu du grec ancien *berberi* qui veut dire « coquillage » ou « coquille ». (Materia., 2017).

1.2.2. Distribution et habitat

La plante est ré pondue sur les terrains calcaires, et pentes rocailleuses, elle préfère des sols acides mais peut également croitre dans les sols neutres et basiques (alcalins). Elle peut pousser dans des zones mi- ombres ou sans ombre, et nécessite un sol sec ou humide. (Mezouar., 2013).

Elle est commune à la plupart des régions d'Europe Centrale et d'Europe du sud et dans les régions du Nord-est des Etats-Unis. Elle est généralement répartie sur la plus grande partie de l'Europe, l'Afrique du Nord et l'Asie tempérée.

En Algérie, *Berberis* se trouve sue les hautes montagnes, au-dessus de 1500 m, à Djurdjura-Babors, Atlas de Blida, Aurès, montagnes du Hodna et Atlas saharien. (Mezouar., 2013).

1.2.3. Description botanique

L'épine-vinette est un arbrisseau que ne dépasse pas trois mètres de hauteur. Des rameaux fragiles et cassants (jaunes à la cassure), couverts d'une écorce tout d'abord rougeâtre avant de virer au gris, constituent l'architecture de l'arbrisseau. Les feuilles ovales, vert mat, raides, à bord « épineux » (ou en dent de scie, c'est plus approprié) sont rassemblées sur de courts pétioles par groupes de sept à dix, avec une triple épine à la base de chaque groupe foliaire. Dès le mois d'avril, L'épine vinette se pare

de grappes pendant de petit fleurs jaunes (Figure 3), dont l'une des particularités nous est rapporté Fabrice Bardeau : « Les étamines des fleurs se contractent au moindre contact et se portent vers le pistil ou elles se serrent comme pour le garantir de toute attaque » (Materia., 2017)



Figure 3: *Berberis vulgaris* , Epine vinette (Hans., 2011)

1.2.4. La systématique de la plante

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Ranunculales

Famille : *Berberidacées*

Genre : *Beberis*

Espèce : *Berberis Vulgaris*

Noms communs : Epine-vinette, Barberry, European, Berberis, berbérís, berberide, vinettier, pisse-vinaigre, oseille du bois. (Mezouar., 2013 ; Materia., 2017).

Nom arabe : Ghriss (غريس)

1.2.5. Utilisation de *Berberis vulgaris* dans la médecine traditionnelle

Les plantes médicinales du genre *Berberis*. Jouent un rôle particulièrement important dans la médecine traditionnelle et dans le panier de provisions des Iraniens. Compte tenu de la diversité des plantes appartenant au genre *Berberis* et de leur statut économique, notionnelle et médicinal en Iran. (**Rahimi-Madiseh et al., 2017**).

Berberis vulgaris L. ou épine vinette (Berberidacées) est une plante médicinale utilisées traditionnellement dans la région de Telmcen, en Algérie pour ces propriétés antidiabétiques (**Mezouar et al., 2014**) Sa richesse en métabolites secondaires et plus spécifiquement en alcaloïdes isoquinoléiniques lui confère poussière effets biologiques dont les activités antidiabétiques, anti inflammatoires et microbiennes.

Les racines sont utilisées pour traiter les troubles rhumatismaux et les inflammations. La décoction et l'infusion des racines et des feuilles sont utilisées pour traiter le diabète sucré. C'est une excellente herbe utilisées contre les nausées, la fièvre, les ulcères gastriques et duodénaux. Elle est prescrite pour les calculs rénaux, la congestion abdominale et pelvienne ; et agit comme un stimulant gastro-intestinal. Elle a aussi tendance à dilater les vaisseaux sanguins, ce qui démunie la pression sanguine. (**Mezouar et al., 2014 ; Tachima et Bendimerad., 2018**).

1.2.6. Composition chimique

La berbérine : (7, 8, 13, 13a-tétrahydro-9, 10-diméthoxy-2, 3-méthylendioxy – berberinium). (Figure 04)

Berbérine est un alcaloïde isoquinoléique de couleur jaune avec une longue histoire dans la médecine chinoise et nord-américaine, il est présent chez *Berberis vulgaris*. Elle peut se rencontrer au niveau des racines, rhizomes, et dans l'écorce des tiges (**Djouidi., 2012**).

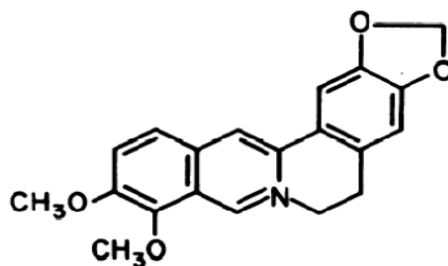


Figure 4 : Structure chimique de la berbérine (Djouidi., 2012).

1.2.7. Toxicité

L'épine-vinette peut engendrer à des doses élevées, des troubles gastro-intestinales, des vertiges, de l'hypotension, des convulsions et des néphrites hémorragiques (Tachima et Bendmerad., 2018).

2. Métabolites secondaires

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées

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. (Kone., 2009). Les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante des molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc. sont des produits en très faible quantité, et présentent en plus de 200000 métabolites secondaires (Bellebcir., 2008).

2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement **(Belyagoubi et Benhammoun., 2011)**.

Ils constituent un groupe de substances variées (Figure 05) et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes, les tanins les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignanes, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques et les xanthones **(Bellebcir., 2008)**.

Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés. **(Belyagoubi et Benhammoun., 2011)**.

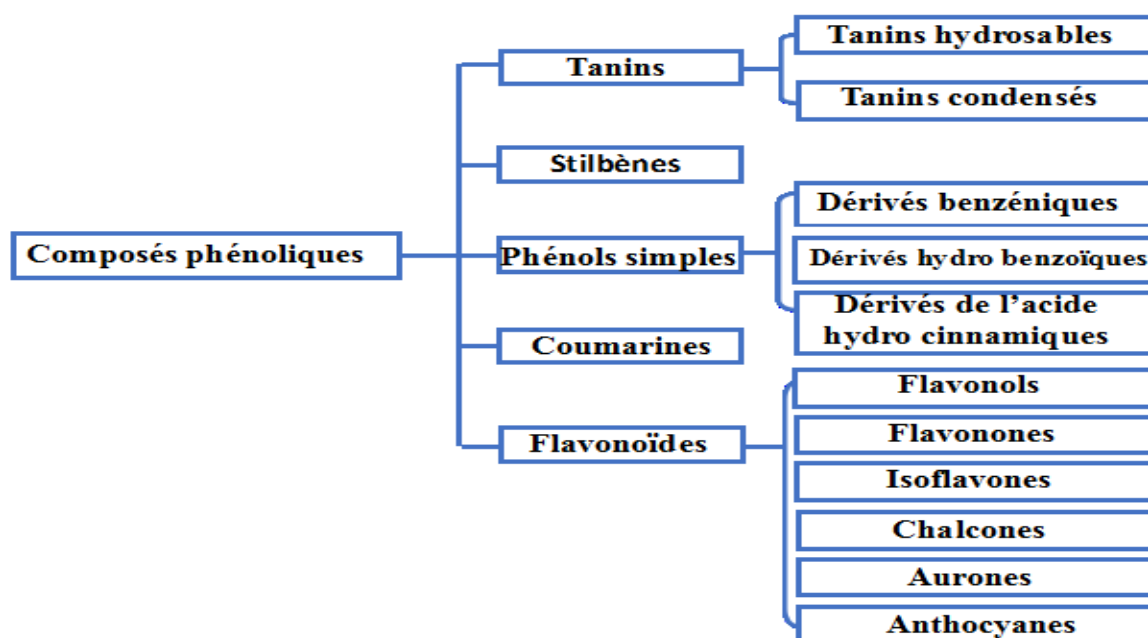


Figure 5 : Classification générale des composés phénoliques **(Benarous., 2010)**.

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste. **(Belyagoubi et Benhammoun., 2011).**

2.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire.

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes. **(Belyagoubi et Benhammoun., 2011).**

Les effets bénéfiques **des polyphénols** intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques. **(Belyagoubi et Benhammoun., 2011).**

3. L'activité antioxydante

3.1. Les antioxydants

Le mot « antioxydant » est utilisé, en général, pour n'importe quel agent chimique qui inhibe l'attaque par l'oxygène ou l'ozone a donné une définition large du terme antioxydant : « toute substance qui, présente à faible quantité comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient d'une manière significative l'oxydation de ce substrat »

Selon Marc et *al.*, (2004), l'antioxydant alimentaire idéal, est facilement incorporé et efficace à faible dose, est non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur et ni saveur indésirable. Résistant aux processus technologiques, il est stable dans le produit fini. (Almi.,2010)

3.1.1. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier., 2006).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. (Figure 6)

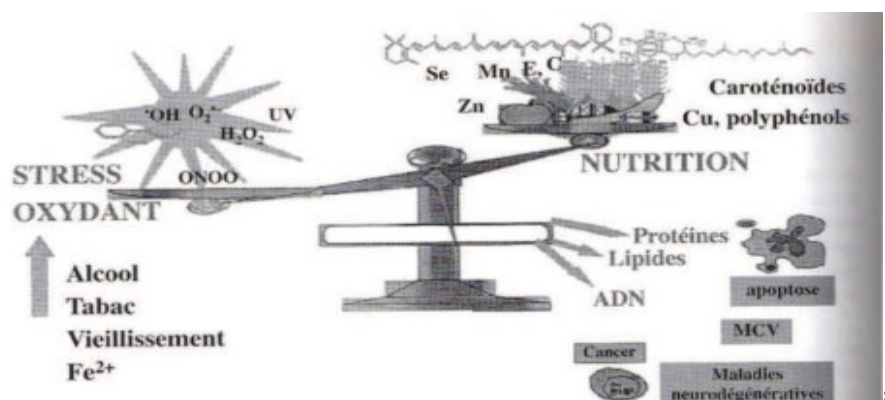


Figure 6 : Rôle des antioxydants d'origine alimentaire dans l'équilibre pro/antioxydants (Manon.,2014)

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaine de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (Yaacoub., 2009 ; Hellel., 2011).

3.3.2. Toxicité des antioxydants

Les antioxydants sont des molécules en général faiblement toxiques. Pourtant, pour certains d'entre eux, leur utilisation à forte dose n'est pas dénuée de danger. Par exemple, le radical α -tocophérol (α -TO.) stabilisé par mésomérie, peut initier des réactions d'oxydation avec les acides gras mono et poly insaturés des phospholipides membranaires (LH, LOOH) à l'origine de radicaux libres, et peut ainsi contribuer à la phase de propagation des réactions radicalaires survenant dans la peroxydation lipidique. Ce rôle pro-oxydant de l' α -tocophérol en tant qu'initiateur des réactions radicalaires n'est néanmoins possible que si le radical α -tocophéryl est présent en

forte concentration dans les membranes et que la vitamine C n'assure pas sa régénération (**Pastre et Priymenko., 2007**).

3.2. Les radicaux libres

3.2.1. Définition d'un Radical libre

Un radical libre est une atome ou molécule qui possède un électron non apparié qui le rend particulièrement réactif vis-à-vis d'autres atomes dont il prend un électron. La plupart des radicaux libres ont une courte durée de vie et sont détruits par la cellule. (**Breuil., 2007**).

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les **radicaux primaires** à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}).

Les autres radicaux libres, dits **radicaux secondaires** telles que l'oxygène singulier $1O_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier., 2003**).

3.2.2. Rôle biologique des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (**Favier., 2003**) .

3.3. Stress oxydatif

3.3.1. Définition du Stress oxydatif

La production des radicaux libres est maîtrisée par des systèmes de défenses où la balance antioxydante / pro-oxydante reste équilibrée, mais dans le cas où on a un déficit en antioxydants ou par suite de déficit on a une surproduction énorme de radicaux c'est ce qu'on appelle le stress oxydant **(Favier., 2003)**.

Notre corps se défend de deux manières contre un excès de radicaux libres. Il a d'une part à sa disposition les enzymes produites par le corps qui neutralisent les radicaux libres en les liants. On cite comme titre d'exemple : la catalase, le glutathion et le SOD (le super oxyde dismutase). D'autre part le corps peut disposer d'antioxydants qui sont des substances que l'on trouve généralement dans notre alimentation pouvant prévenir l'oxydation non souhaitée ainsi que la formation des radicaux libres non souhaitée comme la vitamine A, le bêta-carotène, la vitamine C, la vitamine E, la vitamine B6, le zinc, le sélénium, la taurine, la méthionine et d'autres substances comme l'ail, le pycnogénol et certaines plantes.

Les antioxydants sont alors un moyen de protéger les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres qui se sont produits par les mécanismes physiologiques et qui sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable **(Benayad., 2013)**.

3.3.2. Les conséquences biologiques du stress oxydant

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des foetus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions **(Favier., 2003)**.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires **(Favier., 2003)**.

Matériels et Méthodes

Objectif

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de biochimie, département de biologie université Ammar Telidji-LAGHOUAT. Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des deux plantes largement utilisées dans la médecine traditionnelle : les racines de *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* en utilisant les méthodes de piégeage des radicaux libre DPPH et le test de FRAP.

1. Matériels

1.1. Le matériel biologique

Les plantes *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* ont été récoltée en 2017 dans la région de Mascara (Algérie). Les racines de la plante sont ensuite séchées, broyées et conservées dans des sacs en papier à l'abri de la lumière et l'humidité pour des analyses ultérieures.

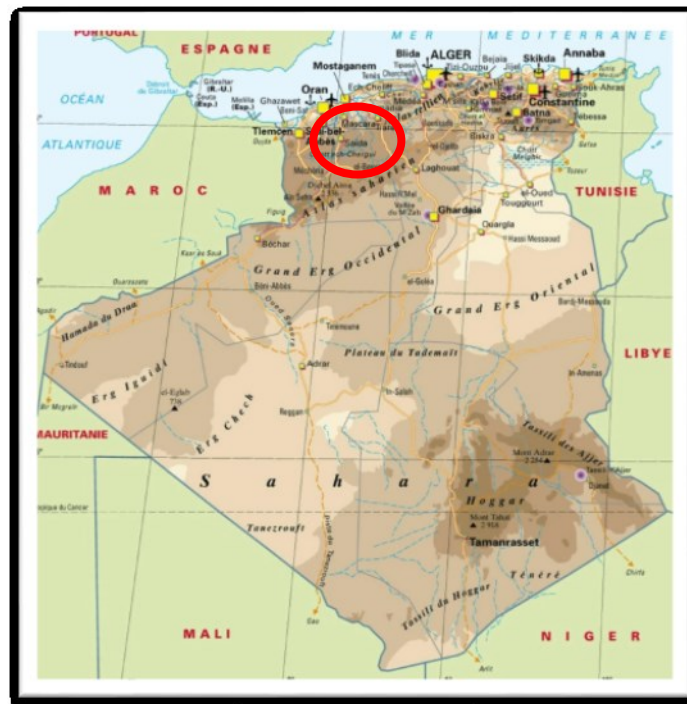


Figure 7 : Carte géographique montre la région de récolte les deux plantes étudiées

1.2. Les produits chimiques

Les principaux produits utilisés sont résumés dans le tableau 1

Tableau 1 : Les principaux produits chimiques et les réactifs utilisés.

Produits Chimiques	Caractéristiques
Solvants Organiques	
Hexane (C ₆ H ₁₄)	M=86.18 g/mol
Acétone (C ₃ H ₆ O)	M=58.05 g/mol
DCM(CH ₂ Cl ₂)	M=98.96 g/mol
Méthanol(CH ₃ OH)	M=32.04 g/mol, 99.8%
Solvants Inorganiques	
Eau distillé (H ₂ O)	M=18g/mol
Réactifs	
DPPH (C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆)	M=394.3 g/mol
Solution de folin Ciocalto	/
TPTZ	M=312.4 g/mol
Acides /Bases	
Acide chlorhydrique HCL	M=12.506g/mol
Acides acétique	M=17.485 g/mol
Acétate de sodium	M=82.03 g/mol
Sels	
Carbonate de Sodium(Na ₂ CO ₃)	M=105.99 g/mol
Trichlorure d'Aluminium (AlCl ₃)	M=133.34 g/mol
Chlorure de fer (FeCl ₃)	M=162.2 g/mol
Références (Composés Phénoliques)	
Acide gallique (C ₇ H ₆ O ₅)	M=170.12 g/mol
Acides ascorbique(C ₆ H ₈ O ₆)	M=176.12 g/mol
Quercitine (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)	M=302.24 g/mol

2. Méthodes

La procédure de l'étude des plantes *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* est schématisée dans la figure 8, il consiste à effectuer une extraction solide-liquide. Les extraits phénoliques subissent par la suite un ensemble d'analyses qualitatives et quantitatives.

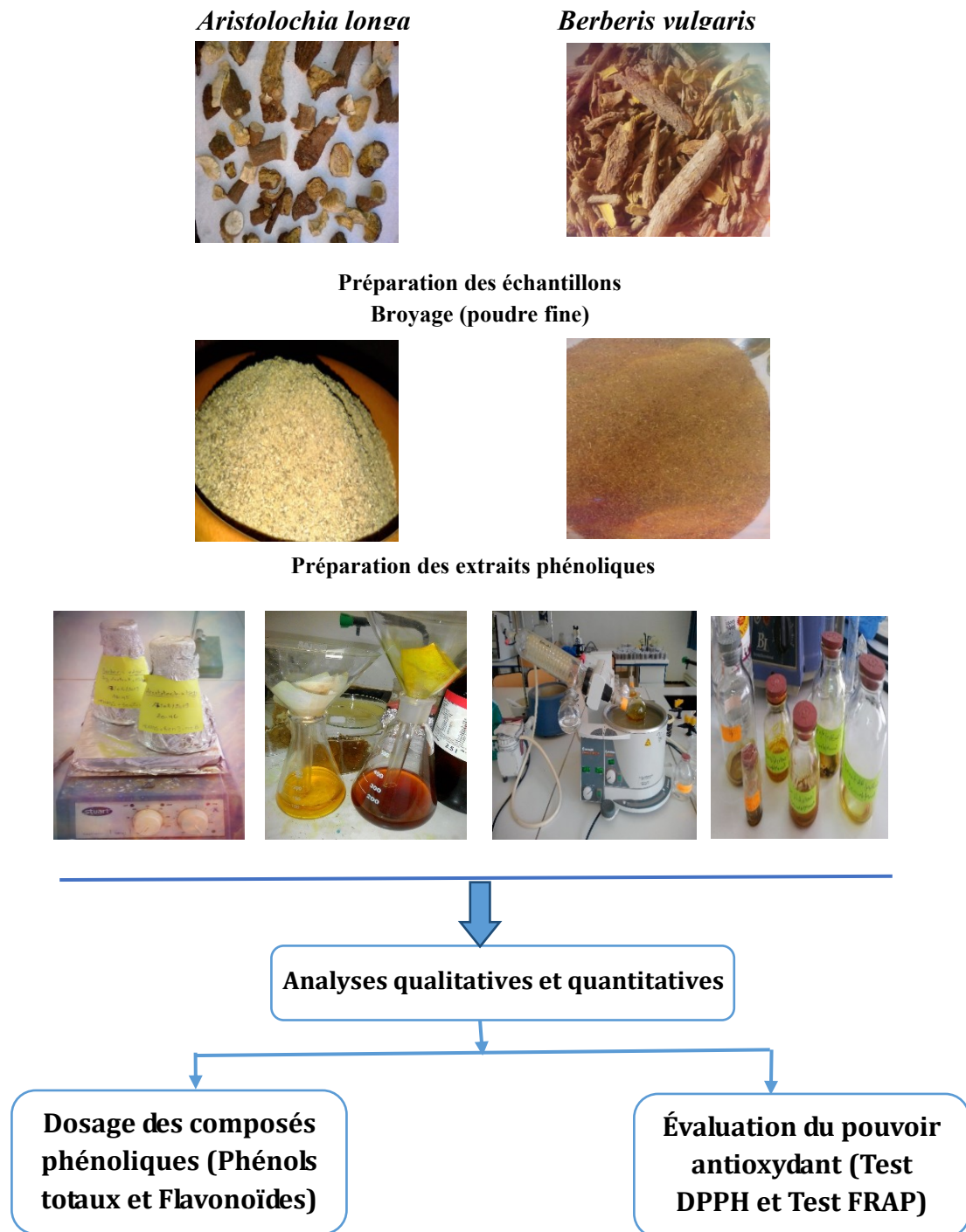


Figure 8 : Schéma descriptif des étapes suivies pour l'étude de *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris*

2.1. Les Méthode d'extraction

L'extraction est réalisée par une simple macération, Il s'agit du contact à froid entre le produit et son solvant pendant un temps déterminé. Cette méthode est utilisée pour extraire des principes altérables à la chaleur (Siabana.,2009).

Dans notre travail, nous avons réalisé l'extraction des composés phénolique en utilisant la macération dans différents solvants avec une polarité décroissante. Commenant par une étape de délipidation en utilisant l'Hexane, dont 20 g de poudre de chaque plante a été macéré dans l'Hexane pendant 48h, après une étape de filtration, les tourteaux obtenus sont, à leurs tours, macères dans le dichlorométhane pendant 48h suivie par une étape de filtration. Ces étapes sont répétées en utilisant l'acétone et le méthanol (figure 09)

Après chaque étape de filtration, le solvant est évaporé à sec sous pression réduite à 40° C. Le résidus sec est conservé à 4° C. en ce qui concerne les extraits lipidiques ils sont conservés pour des études ultérieurs.

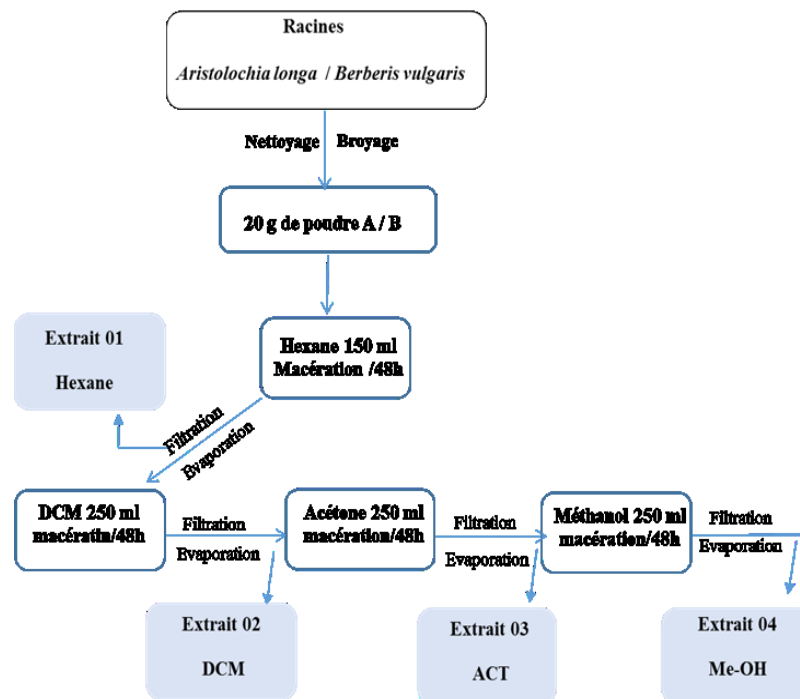


Figure 9 : Procédure de l'extraction des composés phénoliques

Le rendement de l'extraction est déterminé à l'aide de l'équation suivante

$$Rd\% = \frac{Mex}{Mmv} \cdot 100$$

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de résidu sec par 100 grammes de la matière sèche.

Rd% : Rendement exprimé en %.

Mex : La masse en gramme de l'extrait sec

Mmv : La masse en gramme de matériel végétal.

2.2. Dosage des composés phénoliques

2.2.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé avec la méthode de Folin-Ciocalteu. Nous avons utilisé l'acide gallique comme standard. En se basant sur la valeur d'absorbance de la solution de l'extrait, ayant réagi avec le réactif de Folin-Ciocalteu et comparée à la solution étalon en équivalence d'acide gallique (**Bentabt et al., 2014**).

• Principe

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximal est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les différents extraits. (**Boizot ; Charpentier.,2006**).

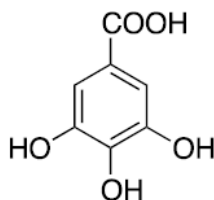


Figure 10 : Structure d'acide gallique (**Bouchouka.,2016**)

- **Mode opératoire**

Un volume de 50 µl de l'AG est introduit dans des tubes à essai à différentes concentrations de 0.035 à 0.35 mg/ml, avec 250µl du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois, 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 microgramme (µg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de la matière végétale sèche. (µg EAG/100g MS).

2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par (Zhishen *et al*,1999) en utilisant le trichlorure d'aluminium. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, il absorbe dans le visible à 430 nm.

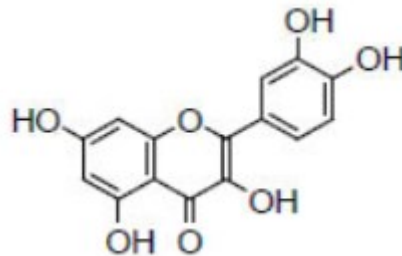


Figure 11 : structure de la quercitrine. (Marfek., 2003).

- **Mode opératoire**

500 µl de la quercitrine convenablement dilué dans le méthanol, avec différentes concentrations de 0.006 à 0.06 mg/ml, est ajouté à 500 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) 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 microgramme (μg) équivalent de quercitine par cent gramme de la matière végétale sèche. ($\mu\text{g EQr}/100\text{g MS}$).

La concentration des composés phénoliques a été déterminée par la formule suivante :

$$C = D \left(\frac{A}{K} \right) \left(\frac{V}{P} \right) \quad (\text{ManAllah, 2012})$$

D'où :

C : Concentration de phénols totaux /flavonoïdes en mg/g.

A : L'absorbance à $\lambda = 760 \text{ nm}$ (Phénols totaux) / $\lambda = 430 \text{ nm}$ (Flavonoïdes).

K : Tangente de la courbe.

D : Nombre de dilution.

V : Volume de récupération de l'extrait (ml).

P : Le poids d'initial de la plante (20 g).

2.3. Evaluation de pouvoir antioxydant

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits polaires. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude, nous avons utilisé deux tests chimiques différents : l'effet scavenger d'un antioxydant sur le radical 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), et le test Ferric Reducing Antioxydant Power assay (FRAP) qui mesure le pouvoir de réduction des ions de fer.

2.3.1. Effet scavenger du radical libre DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres stable utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. L'efficacité d'un antioxydant est proportionnelle à la réduction de la coloration bleu- violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite), due à

une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (Zeragui F., 2015).

Il est important de noter que dans le cas des polyphénols, la capacité à piéger les radicaux libres est tributaire des conditions expérimentales. De nombreux facteurs vont influencer le potentiel antioxydant comme le rapport antioxydant/DPPH• ou le PH. Pour évaluer l'activité antioxydante, deux approches sont utilisées : d'une part, la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH• et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction.

La réaction de la réduction de DPPH avec les composés phénoliques est montrée dans la figure12.

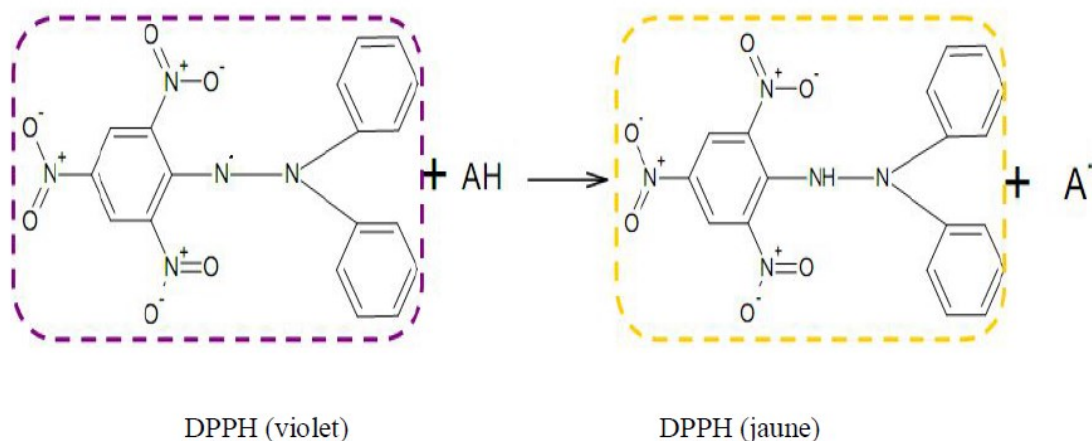


Figure 12 : Structure chimique du radical DPPH• et de sa forme réduite. (Bouchouka., 2016)

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Benhammou *et al.*,2007). Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH. Qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'extrait.

• Mode opératoire

Un volume de 100 µl de Vitamine C (utilise comme référence) de différentes concentrations (0.008-0.08 mg/ml) est ajouté à 1 ml du DPPH (100µM) fraîchement

préparée. Parallèlement, un contrôle est préparé en mélangeant 100µl de méthanol avec 1 ml de la solution méthanoïque de DPPH., Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$I\% = \frac{[(Abs\ controle - Abs\ extrait)].100}{Abs\ controle}$$

L'EC50 (inhibitory concentration 50%) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés (les pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées) en utilisant le Excel 2007/2016 (Bentabt *et al.*, 2014)

2.3.2. Test FRAP

Le test FRAP (Ferric reducing-antioxidant power) est une méthode de mesure de la puissance des substances de nos extraits à réduire le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺. C'est une technique rapide, facile et reproductible. La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydant potentielle. (Bentabte., 2014)

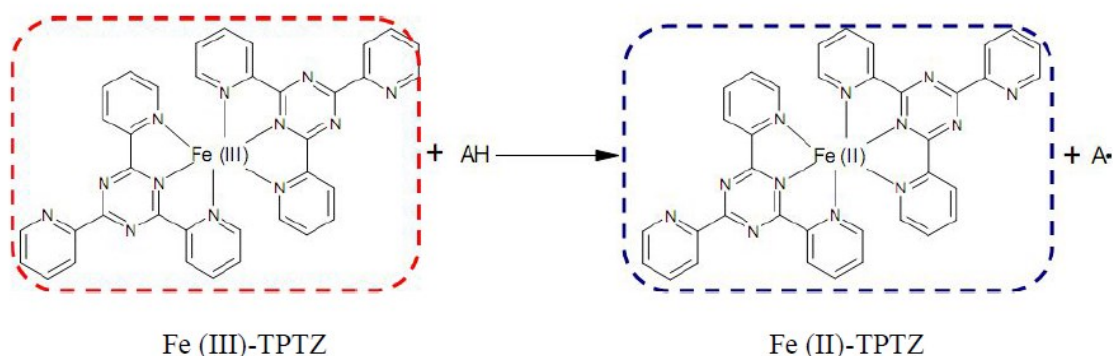


Figure 13 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH). (Bouchouka.,2016)

• **Mode opératoire**

Pour préparer Le réactif de FRAP, on ajoute 2.5 ml d'une solution 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) de 10mM en 40 mM HCl avec 2.5mL de 20mM FeCl₃.6H₂O et 25mL de tampon d'acétate de 0.3 M à PH=3.6. Ensuite on prend 2.1 ml de réactif FRAP fraîchement préparé avec 70µl de chaque extrait, le mélange a été incubée à 37°C pendant 30min, un complexe d'une couleur violette foncée a été formé lorsque le fer ferrique Fe³⁺ -TPTZ est réduit en fer ferreux Fe²⁺. L'absorbance est mesurée à 593 nm contre un blanc, L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif dans les mêmes conditions expérimentales. (**Gouzi *et al.*,2013**)

Résultats et discussions

1. Détermination du rendement d'extraction

L'extraction par macération des différents composés les plus abondants dans notre plante nous ont permis de calculer le rendement de chaque extrait, notamment les extraits bruts de DCM/Acétone /Méthanol. Le rendement, qui a été déterminé en masse d'extrait par rapport à matière végétale sèche, est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 02.

Tableau 2: les rendements, couleur et aspect des extraits des racines de *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris*

La plante	Le solvant	Couleur	Aspect	Masse (g)	Rendement %
<i>Aristolochia longa</i>	Hexane	Jaune foncée	Pate	0.102	0.255
	DCM	Marron claire	Visqueuse	0.033	0.167
	ACT	Marron foncée	Pate	0.29	1.45
	Me-OH	Marron claire	Pate	0.1	0.1
<i>Berberis vulgaris</i>	Hexane	Jaune	Visqueuse	0.19	0.475
	DCM	Jaune	Pate	1.037	5.183
	ACT	Marron clair	Poudre	2.03	10.15
	Me-OH	Marron foncée	pate	1.13	7.15

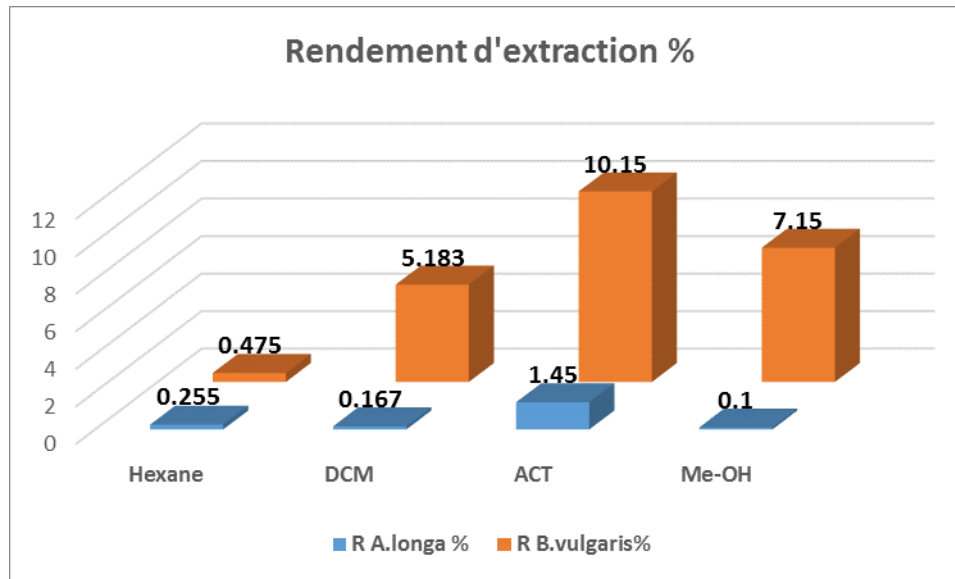


Figure 14 : Histogramme montre les rendements de l'extraction

En comparant les résultats de rendement de l'extraction pour la plante *Berberis vulgaris*, nous constatons que l'extrait acétonique enregistre un fort rendement de l'ordre de 10.15 % suivi par l'extrait méthanolique à raison de 7.16% celui est proche avec le résultat obtenu par (**Mezouar et al.,2014**) avec un rendement de 8,54% de l'extrait hydrométhanolique. Tandis que l'extrait de DCM représente le rendement le plus faible 5,18 %.

Concernant les extraits de la plante *Aristolochia longa*, le rendement le plus élevé est celui de l'acétone 1,45 %, suivi par les extraits de DCM et le méthanol avec des pourcentages de 0,48 % et 0,1% respectivement.

Le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que l'espèce végétale et l'organe utilisé, la taille des particules, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation. L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (**Bouchouka., 2016**)

2. Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes

Les analyses quantitatives des phénols totaux et des flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en μg équivalent de l'acide gallique ou de quercitrine par cent gramme de la matière sèche.

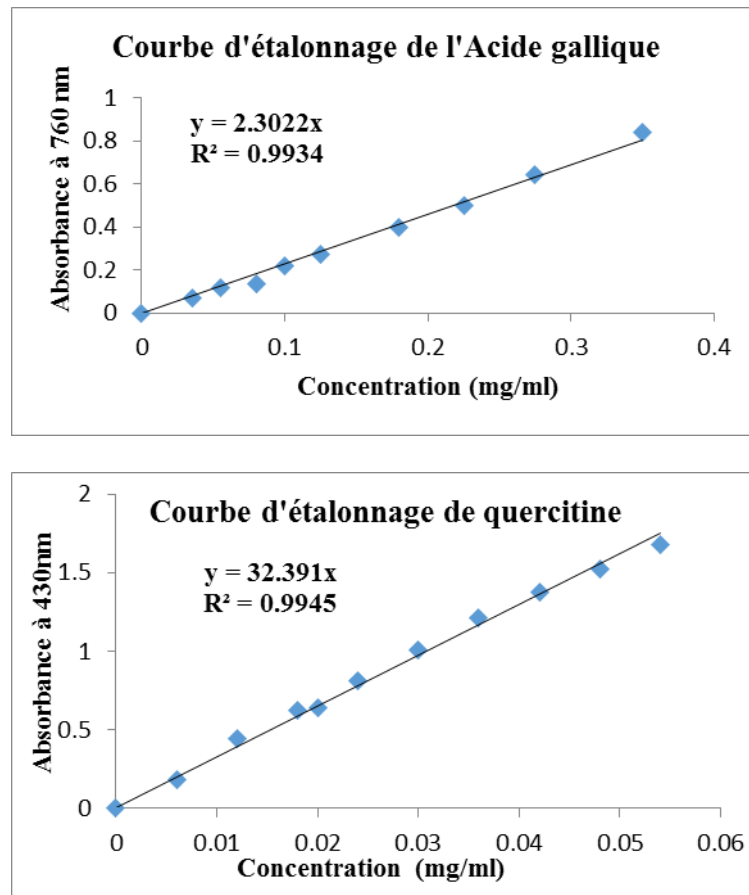


Figure 15 : Courbes d'étalonnage d'acide gallique et de quercitrine pour le dosage des phénols totaux et flavonoïdes

Tableau 3: Teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de deux plantes étudiées

Les extraits		Phénols totaux ($\mu\text{g EAG}/100\text{g MS}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EQr}/100\text{g MS}$)
<i>Aristolochia longa</i>	DCM	14.551 \pm 0.644	1.722 \pm 0.0075
	Acétone	59.084 \pm 4.199	8.175 \pm 0.752
	Méthanol	16.099 \pm 0.698	1.965 \pm 0.066
<i>Berberis vulgaris</i>	DCM	267 \pm 12.941	20.729 \pm 0.364
	Acétone	590.357 \pm 72.062	79.236 \pm 5.557
	Méthanol	535.737 \pm 26.678	178.074 \pm 4.224

Les valeurs sont présentées par la moyenne de trois mesures \pm Ecart type.

Les teneurs en phénols totaux dans les extraits polaires des plantes étudiées ont été déterminées par la méthode de réactif de Folin-Ciocalteu.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 03, les teneurs en phénols totaux varient largement dans les extraits bruts (de 14.551 à 590.357 $\mu\text{g EAG}/100\text{g MS}$). Parmi les deux espèces étudiées, l'extrait acétonique des racines de *Berberis vulgaris* possèdent la meilleur teneur (590.357 \pm 72.062 $\mu\text{g EAG}/100\text{g MS}$). Les extraits méthnolique et dichlorométhane aussi présentent des teneurs en composés phénoliques très élevées par rapport aux teneurs de *Aristolochia longa* (535.737 \pm 26.678 et 267 \pm 12.941 $\mu\text{g EAG}/100\text{g MS}$) respectivement. Les plus faibles teneurs ont été enregistrée dans les extraits méthnoliques et DCM d'*Aristolochia longa* (16.099 \pm 0.698 et 14.551 \pm 0.644 $\mu\text{g EAG}/100\text{g MS}$) respectivement.

Les teneurs en flavonoïdes de tous les extraits varient dans l'intervalle de 1.722 dans l'extrait DCM d'*Aristolochia longa* à 178.074 $\mu\text{g EQr}/100\text{g MS}$ dans l'extrait méthnolique de *Berberis vulgaris*. Ces teneurs sont très importants dans les racines de *Berberis vulgaris* par rapport aux extraits de *Aristolochia longa*. (Voir figure 16)

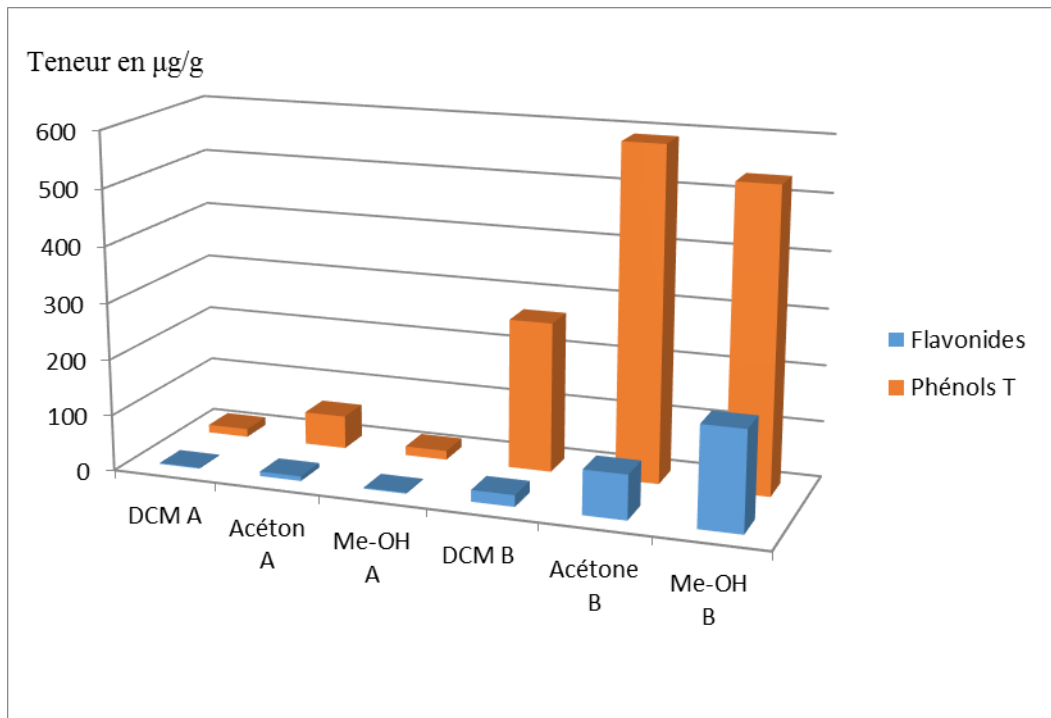


Figure 16: Teneurs en polyphénols et flavonoïdes pour les différents extraits de A : *Aristolochia longa* et B : *Berberis vulgaris*

En comparant ces résultats avec ceux obtenus par (Djeridane *et al.*,2006), qui ont trouvé que les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extrait méthanolique des racines de *Aristolochia longa* sont : 1470µg EAG/100g, et 410 µg EQR/100g respectivement, des résultats qui sont nettement supérieur à nos résultats. De même, nos valeurs sont inférieures aussi avec les résultats trouvés par (Elomari *et al.*,2019) pour les extraits méthanoliques : 24.48±1.63 mg EAG/100g, et 7.00±0.6 mg EQR/100g (les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes respectivement).

Des teneurs très élevés aussi ont été rapportés par (Mezouar *et al.*,2014) dans l'étude quantitative de l'extrait hydro méthanolique de l'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. Pour les phénols totaux 10480µg EAG/100g et pour les flavonoïdes 2050 µg EQR/100g.

Cela pourrait être relié aux conditions climatiques et période de collecte. D'autres paramètres liés à l'expérimentation peuvent influencer comme les méthodes d'extraction,

les solvants choisis, le temps d'extraction et le degré d'agitation. L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique comme solvant donne des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (Bouchouka., 2016), la méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Bentabet *et al.*, 2014)

3.Étude du pouvoir antioxydant des extraits polaires des deux plantes étudiées

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits des plantes a été réalisée par deux techniques chimiques Le piégeage du radical libre DPPH et la réduction de fer FRAP.

3.1. Évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH

Le profil de l'activité anti-radicalaire de standard Vit C et de chaque extrait testé vis-à-vis du radical DPPH• est présenté dans la figure16. Ces graphes présentent des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait. La concentration EC50 a été déterminée pour chaque extrait, Ces résultats obtenus sont conciliés dans le tableau 04. On rappelle que l'EC50 représente la quantité de l'extrait nécessaire à l'inhibition de la moitié de la quantité initiale de radicaux libres présents.

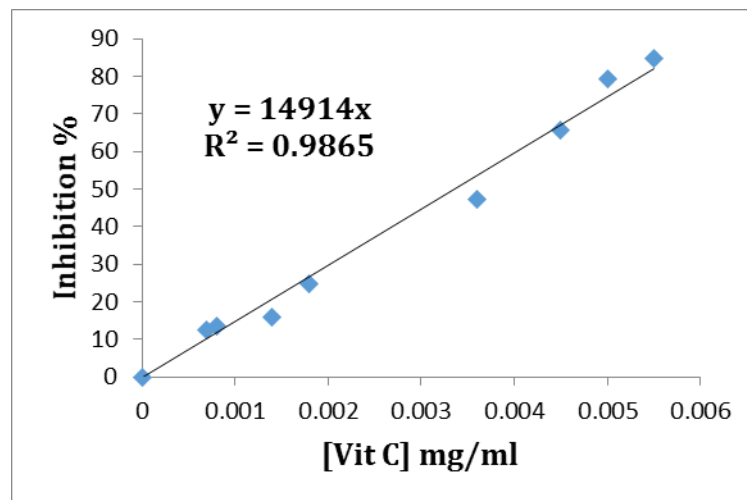


Figure 17 : Représentation graphique du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) de Vit C

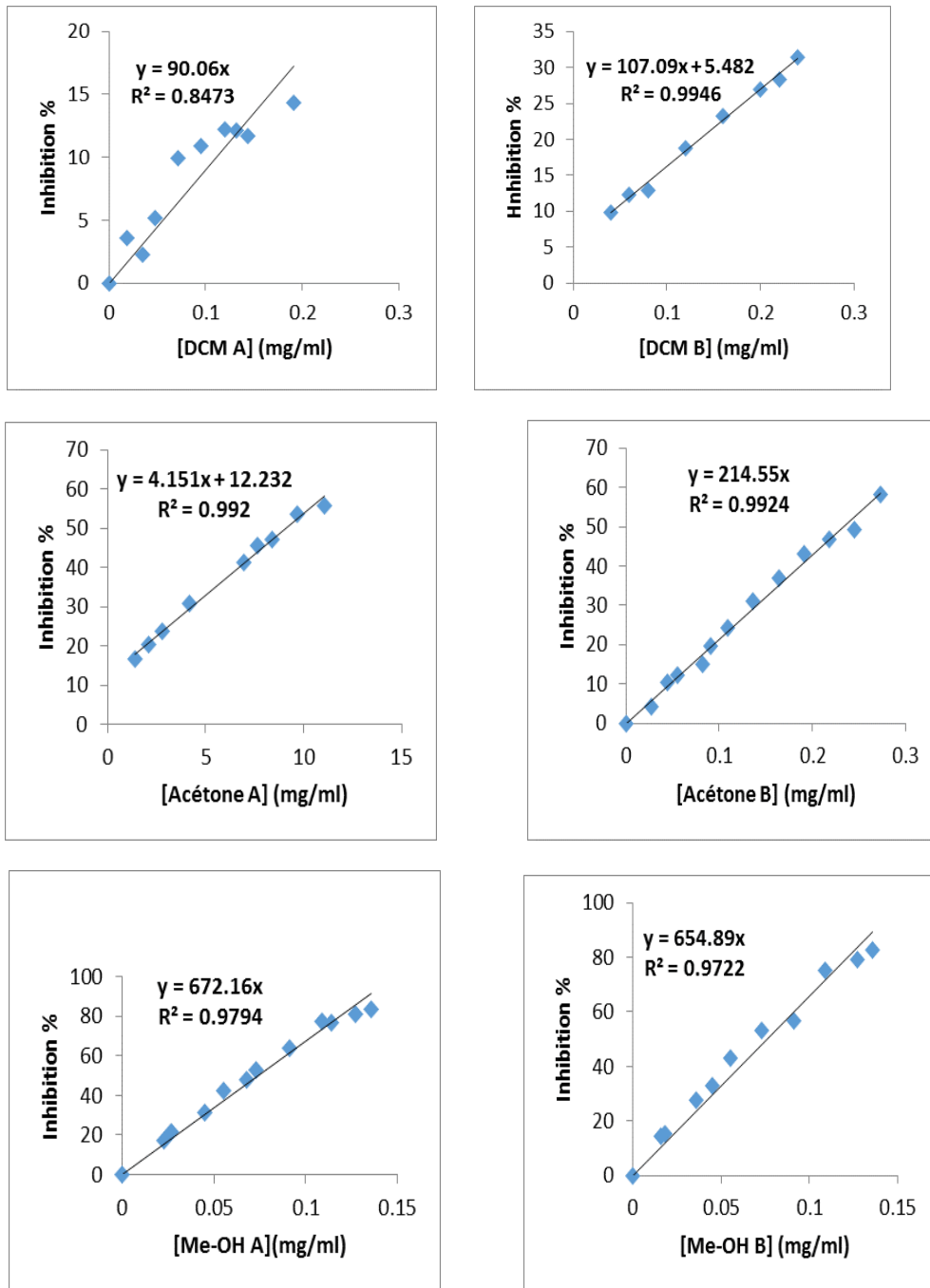


Figure 18 : représentations graphique du test DPPH (taux d'inhibition de DPPH en fonction de concentration) des extraits

A : *Aristolochia longa* et B : *Berberis vulgaris*

Tableau 4: les valeurs d'EC₅₀ du test DPPH de chaque extrait.

Les extraits		EC ₅₀ (mg /ml)
Les racines de <i>Aristolochia longa</i>	DCM	/
	ACT	8.708±0.211
	Me-OH	0.073±0.004
Les racines de <i>Berberis vulgaris</i>	DCM	0.416±0.008
	ACT	0.227±0.002
	Me-OH	0.079±0.005
Vitamine C		0.0035±0.00025

D'après ces résultats, on constate que l'activité antioxydante varie considérablement entre les différents extraits, les valeurs de EC₅₀ des extraits polaires (DCM, Acétone, Méthanol) et l'antioxydant de référence (Vitamine C) se présentent dans l'ordre suivant :

Aristolochia longa: Vit C <Me-OH<ACT

Berberis vulgaris: Vit C <Me-OH<ACT<DCM

Vit C <Me-OH(A)<Me-OH (B) <ACT(B)<DCM(B) <ACT(A)

On peut conclure que la capacité antioxydante des extraits des deux plantes est proportionnelle à la polarité des solvants utilisés. Les extraits des solvants polaires, le méthanol a donné les meilleurs résultats (0.073±0.004 et 0.079±0.005 mg/ml) de *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* successivement suivis par les extraits du solvant moyennement polaire, qui est l'Acétone (0.227±0.002 et 8.708±0.211 mg/ml) d'*Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* successivement. Le solvant faiblement polaire, le Dichlorométhane donne un pouvoir antiradicalaire le plus faible. (0.416±0.008 mg/ml) de *Berberis vulgaris*. Mais on ne constate aucune inhibition pour l'extrait de DCM d'*Aristolochia longa*.

Djeridane *et al.*, (2006) ont obtenu une valeur de EC₅₀ plus élevée 0.51 mg/ml pour l'extrait hydrométhanolique des racines d'*Aristolochia longa*. Ce qui explique que

l'activité antiradicalaire de notre extrait méthanolique des racines de *Aristolochia longa* est largement supérieure à celle trouvée par Djeridane *et al.*

En analysant les résultats de EC₅₀ des extraits méthanoliques de la plante de *Berberis vulgaris*, notre valeur est moins élevée que celle trouvée par (Mezouar.,2014) une valeur de 1.4mg/ml pour les extraits hydrométhanolique ; par contre nos résultats de EC₅₀ des extraits acétoniques de *Berberis vulgaris* est proche de résultat trouvé par (Elkhalil *et al* 2018) avec un EC₅₀ égale à 0.078mg/ml

Des facteurs environnementaux, tels que les conditions climatiques de croissance, la croissance, le stade de maturation, la température, la durée de stockage et le traitement thermique peuvent avoir influé sur l'activité antioxydante. (Motalleb *et al.*, 2005)

L'utilisation des solvants de différentes polarités permettant l'extraction d'un groupe sélectionné d'antioxydants, affectant l'estimation de la capacité antioxydante.

Ces études montrent que *Aristolochia longa et Berberis vulgaris* sont des espèces riches en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques notamment l'activité antioxydante, anticancéreuse, antimicrobienne et antifongique (Benarba et Meddah.,2014).

3.2. Évaluation de l'activité antioxydants par le test FRAP

Dans notre travail, nous avons testé le pouvoir réducteur, par la méthode de FRAP, des différents extraits des racines des plantes étudiées, et les résultats obtenus nous ont permis de tracer des courbes de l'absorbance en fonction de la concentration pour chaque extrait. Figures 17 et 18.

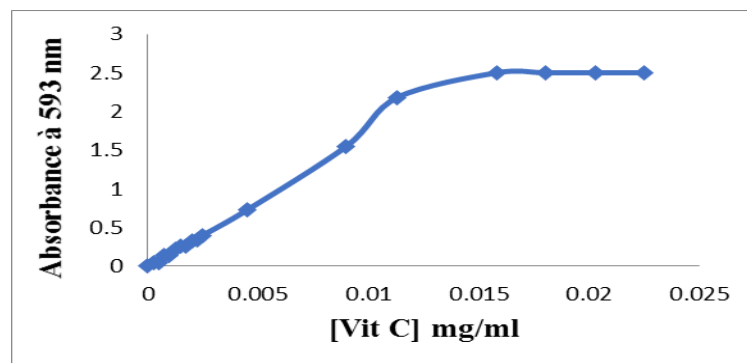


Figure 19 : Le pouvoir réducteur de Vit C

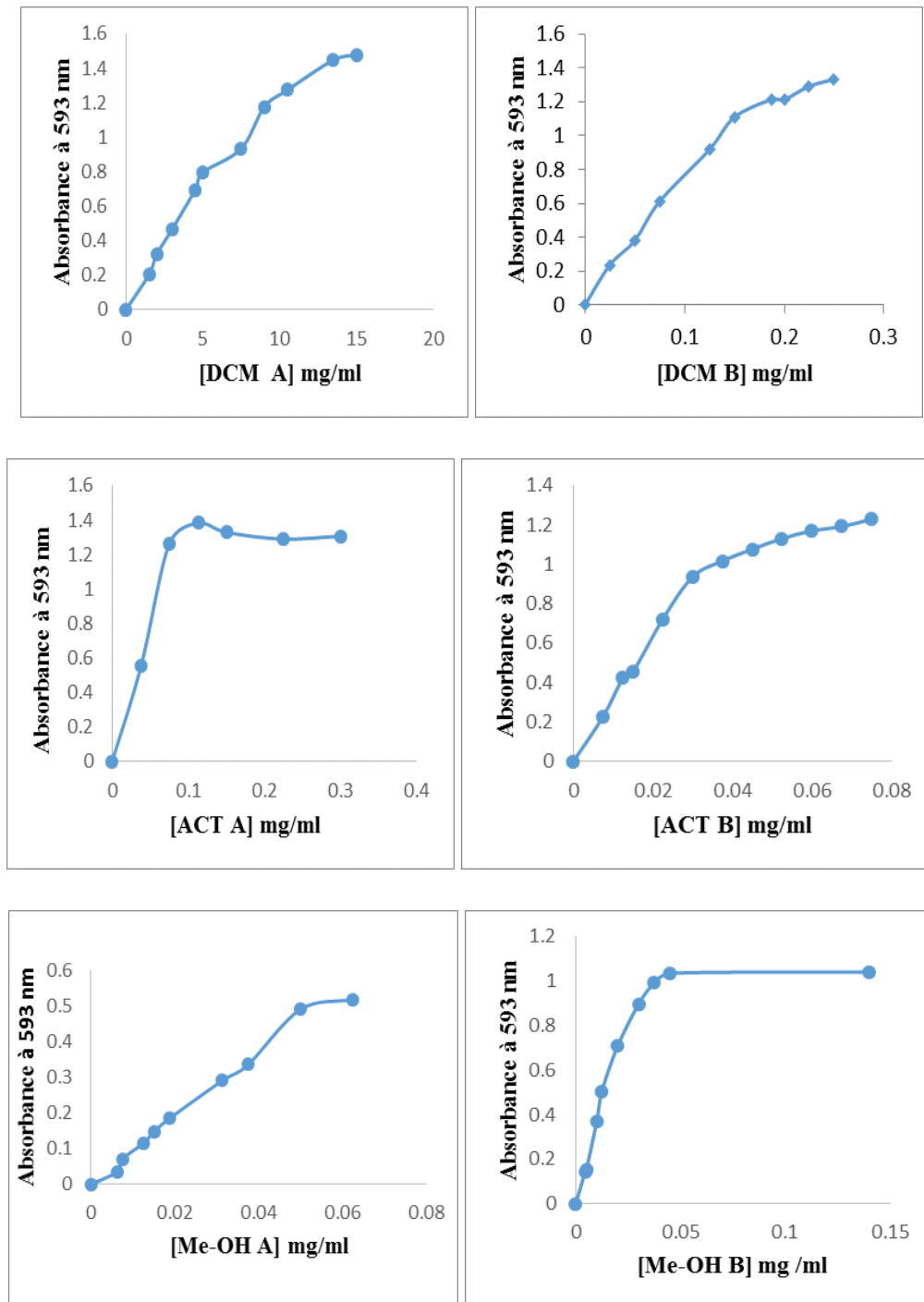


Figure 20 : Le pouvoir réducteur des extraits des plantes étudiées testé par la méthode de FRAP. A : *Aristolochia longa* et B : *Berberis vulgaris*

Les résultats obtenus représentent les variations de l'absorbance des différents extraits en fonction de leurs concentrations dans le milieu réactionnel. Ces courbes mettent ainsi en évidence une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration avec l'absorbance dans les extraits étudiés. Ce qui explique une augmentation du pouvoir réducteur en fonction de la concentration de l'extrait.

En analysant les résultats de FRAP, nous remarquons que les extraits méthanoliques des plantes *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* présentent des valeurs d'absorbance de 0.518 et 0.896 à des concentrations de 0.0625 mg/ml et 0.03 mg/ml successivement. D'autres parts les extraits acétoniques représentent à leurs tours, les absorbances enregistrées à une concentration de 0.075mg/ml pour *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* sont de 1.268 et 1.192 successivement. Ces résultats restent loins et plus élevés à l'absorbance de l'extrait de DCM *Aristolochia longa* qui donne une valeur de 0.795 à une concentration de 5mg/ml.

Nos résultats montrent que la capacité réductrice des extraits de méthanol et acétone des deux plantes est plus élevée que les extraits de DCM. Ce pouvoir réducteur reste inférieur à la vitamine C.

En comparant ces résultats avec celui obtenu par (Mezouar *et al.*,2014) dans l'évaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris* de l'extrait hydrométhanolique, ils ont trouvé une absorbance de 0.955 à une concentration de 0.8 mg/ml ce qui explique un pouvoir réducteur inférieur à notre extrait méthanolique de *Berberis vulgaris*.

Conclusion

Les substances naturelles issues des végétaux présentent des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie, dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Dans ce contexte, notre travail a pour objectif, l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de deux plantes algériennes *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* on s'intéresse à étudier les racines de chaque plante vue l'utilisation en médecine traditionnelle.

Dans un premier temps Nous avons déterminé quantitativement les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits polaires des racines des plantes étudiées. Les résultats obtenus nous ont révélé que les deux plantes *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* constituent une bonne source en polyphénols, la valeur la plus élevée a été remarqué pour les extraits acétoniques (59.084 ± 4.199 et 590.357 ± 72.062 $\mu\text{g EAG}/100$ g MS) successivement. Elles présentent aussi des teneurs en flavonoïdes de (8.175 ± 0.752 et 79.236 ± 5.557 $\mu\text{g EQr}/100$ g MS) successivement, aussi avec les extraits acétoniques.

L'activité antioxydante des différents extraits polaires des plantes étudiées a été évaluée par deux méthodes : La méthode de piégeage de radical libre DPPH, et la méthode de réduction de fer FRAP,

Pour le premier test, les résultats ont montré que l'activité antiradicalaire est élevée dans l'extrait le plus polaire (extrait méthanolique) dont IC_{50} est égale à 0.073 ± 0.004 mg/ml et 0.079 ± 0.005 mg/ml pour *Aristolochia longa* et *Berberis vulgaris* successivement, par contre, elle est moyennement faible pour les deux autres extraits (Acétone et dichlorométhane). Pour le test de réduction de fer le pouvoir réducteur est élevé dans les extraits acétoniques par rapport aux autres extraits polaires.

L'ensemble de ces résultats a permis d'évaluer l'activité antioxydante des plantes choisies et de sélectionner les familles des composés phénoliques d'intérêts biologiques afin de mieux connaître, de valoriser et d'utiliser ces ressources dans le domaine thérapeutique. Pour plus d'efficacité, quelques perspectives peuvent être envisagées :

- Elargir le panel des activités antioxydants *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : anticancéreuse et anti-inflammatoire.
- Caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques.

Références

Bibliographiques

A

Almi D.,2010. Etude du pouvoir antioxydant des composés et extraits polyphénoliques issus des olives et sous-produits de l'olivier (feuilles et margines) variété chamlal sur l'oxydation thermique simulant la friture de deux huiles à large consommation : l'huile d'olive et l'huile de tournesol , Mémoire de Magister ,UMMTO.

B

Bammi D et Douira.,2002, Les plantes medicinales dans la foret de l'Achach (lateau central ,Maroc)., - Acta Botanica Malacitana 27 : 131-145 Málaga, Article, Université de Setif.

Bekdouche F., derrid J A., Krouchi F.,2008. Evaluation après feu de la composition floristique de la subéraie de Mizrana (Tizi-Ouzou, Algérie). Science and technologie C. (28) : 19-29. Article.

Bellebcir L.,2008. Etude des composés phénoliques en tantque marqueurs de biodiversité chez les céréales, Mémoire de Magister.Université de Constantine.

Belyagoubi, Benhammoun., 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien., Thèse de doctorat,Université de Tlemcen.

Benarous K.,2010, Evaluation de l'activité Antioxydante et étude des effets inhibiteurs des extraits phénoliques, saponines et alcaloïdes sur la lipase de *Candida rugosa*. Mémoire de Magister en Biologie, Université de Laghouat.

Benarba et Meddah.,2014, Ethnobotanical study, Antifungal activity, Phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*, Journal of Intercultural Ethnopharmacologie.,2014, Article.

Benarba B.,2013, Isolement et développement de principes actifs à partir de plantes en vue de leur utilisation en thérapie Anticancéreuse Thèse de doctorat, Université d'Oran.

Benayad N., 2013.Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines.Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse.Article.

Bentabet N., Boucherit-Otmani Z., Boucherit.,2014. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie.Pharmacognosie Phétothérapie © Springer-Verlag France.pp 1-8. Article.

Boizot N ; Charpentier J.P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques, *INRA*, 79-82. Article.

Bouchouka Elmoulod .,2016,Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes, Thèse de Doctorat, Université de Annaba.

Breuil Michel,2007 Dictionnaire des Sciences de la Vie et de la Terre. Nathan, Paris.

C

Cherif H S., Saidi F., Boutoumi H., Rouibi A., Chaouia C. 2009, Identification et caractérisation de quelque composé chimique chez *Aristolochia* L.Agricultura-Sttinta Si practica.3(4) : 71-82. Article.Université de Blida.

D

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem.97 : 654-660.Article. Université de l'aghouat.

Djoudi, H.,2012, L'activité antibactérienne des alcaloïdes et mécanisme d'action de berbérine .Mémoire de Magister, Université de Bedjaia.

E

El Khalki L,Tilaoui M, Jaafari A, Ait mouse H et Ziad A.,2018,Studies on the Dual Cytotoxicity and Antioxidant Propertirs of Berberis vulgaris Extracts and Its Main Constituent Berberine, Hindawi, Advances in pharmacological sciences, Article ID3018498,11pages.

El Omari N,Sayah K , Fettach S, El Blidi O, Bouyahya A, Faouzi ME , Rabie K et Barkiyou M ., 2019, Evaluation *in vitro* Antioxidant *Aristolochia longa* Extracts, Hindawi, Evidence –Based Complementary and Alternative Medicine , Article ID 7384735,9 pages.

El Rhaffari L., Hammani k., Benlyas M., Zaid A. 2002. Traitement de la leishmaniose cutanée par la phytothérapie au Tafilalet. Biologie et santé. 1 :45-54. Article.Université de Maroc.

F

Favier A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* Mémoire de Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64 : 390-396.Article.

Favier, A., 2003. The oxydative stress : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. P 108-115.Article.

Favier A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique.* P108-11. Article.

G

Gouzi H, Leboukh M, Bouchouka E., 2013, Antioxidant and Antiradical Properties of Methanolic Extracts from Algerian Wild Edible Desert truffles (Terfezia and Tirmania, Ascomycetes), International Journal of Medicinal Mushrooms, 15(5):473-488.

H

Hans F., gruber, S., Borner, A., Schulze, E D. 2011 .Atlas of stem Anatomy in Herbs, Shrubs and Trees Germany pp 67. Article.

Hellal Z., 2011, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

K

Kone Doniatien., 2009, Enquête Ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes – extraction, identification d'Alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité Antioxydante. Thèse de Doctorat, Université PAUL VERLAINE de METZ-UPV-M (France)

L

Laouedj Mustapha, 2017., Conseiller en phytothérapie et herboriste. Livre.

M

ManAllah A., 2012, Activité antioxydante et anticoagulation des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea*, Mémoire de magister, Université de sétif

Manon L., 2014. Place de la baie de Goji (*Lycium barbarum* L. *Solanaceae*) parmi les superfruits actuels : ses bienfaits antioxydants Thèse de doctorat, Université de Rouen.

Marfek A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issues des alcools: formation de psides, Thèse de doctorat. Université de Limoges.

Materia., Dioscoride, 2017. Epine vinette chapitre CIIII. Livre.

Mezouar D., Lahfa F. B., Djaziri R., Boucherit-Otmani Z, 2014. Évaluation de l'activité antioxydante de *Berberis vulgaris* L. V 12, pp 279- 301 Article.

Mezouar D.,2013, Recherche d'activités biologiques de *Berberis vulgaris.*, Mémoire de Magister, Université de Tlemcen.

Motalleb G., Hanachi P.,Kua S.H.,Fauziah O.,Asmah R.,2005.Evaluation of Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in *Berberis vulgaris* Fruit Extract ,journal of Biological Sciences 5(5) :648-653. University of Putra Malaysia, Malaysia.

N

Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G.S. et Kakuda, Y. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration, Separation and Purification Technology 48: 176-181.Article.

P

Pastre J,Priyenko N., 2007. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Revue Méd. Vét. (4) :187p.Article .

R

Rahimi-Madiseh, M.,Lorigoni ,Z.,Zamani gharaghochi,H.,Rafieian-Kopaei,M.,2017. *Berberis vulgaris*: spécifications et utilisations traditionnelles. Iran J Basic Med Sci. V20 pp 569-587.Article.

S

Saidi F., Cherif H S., Lazouri H., Aid K., Rouibi A., Bele C., Matea C.,2009. Determination of the lipid compounds of *Aristolochia* L. from Algeria. Bulletin UASMV agriculture. 66:17-23. Article,Université de Blida.

Siabana A .,2009, Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Aristolochia albida* DC (Aristolochiaceae)utilise dans le traitements des douleurs abdominales, Thèse de doctorat, Université de BAMAKO.

T

Tachema, Bendimerad,2018., Enquête sur l'usage des plantes médicinales par les patientes atteintes de cancer du sein au niveau du service d'oncologie., Thèse de Doctorat., Université de Tlemcen.

Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K,2011, Phytochemical screening and Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*/Jan –March 2011/Vol.1/Issue 1 Pp98-104. Article.

Y

Yaacoub R., 2009. Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech). Thèse de doctorat. N° 2009AGPT 004.

Z

Zeragui F.,2015. Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives ; Thèse de Doctorat, Université de Sétif.

Zhishen, J; Mengcheng, T; Jianming ,W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*, 64 (4) : 555- 559. Article.

Annexes

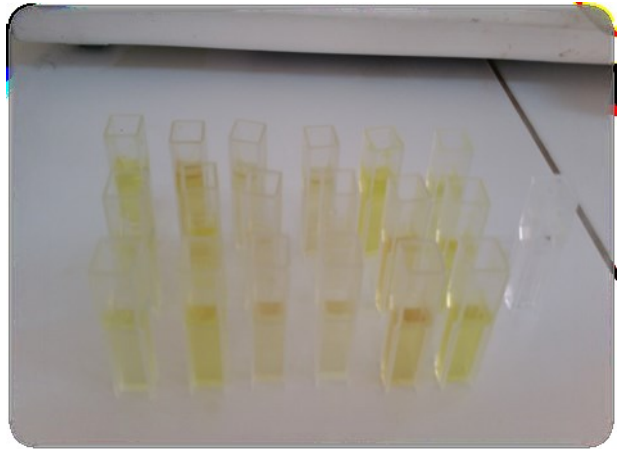
Tableau : Appareille et instruments

Appareils et matériels	caractéristique
Agitateur magnétique	Stuart max 300°C
Rota vapeur	R220 BUCHI
Ballons pour le Rota vapeur	250 ml
Hot	/
Réfrigérateur	/
Balance électronique	KERN ALS220-4
Etuve	Memmert T max :37°/60°C
Micropipette	10-100 µl/100-1000 µl
Agitateur Vortex	IKA°VORTEX 3
Spectrophotométrie	JENWAY 76405 UV/Vis Spectrophotmètre
Bain marie	Müve bath nb 20
PH mètre	EUTECH (INSTRUMENTS) PH510 PH/m V/C mètre

Dosage des polyphénols



Dosage des flavonoïdes



Test DPPH



Test FRAP

