

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 : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME :

**Synthèse des études phytochimiques sur les extraits lipidiques
de quelques plantes du genre *Smilax***

Présenté par : Melle : BELHAOUAS Aicha

Melle : CHAIBI Imane

Melle : KHEDIM Ibtissam

Devant le jury :

M. OUINTEN Mohamed	Président	Professeur Université Amar thelidji – Laghouat
M. BOUKEROUIS Djoudi	Examineur	MAA Université Amar thelidji – Laghouat
Melle ZAKHROUF Zohra	Promotrice	MAA Université Amar thelidji – Laghouat
Mme NEBEG Halima	Co-Promotrice	MAA Université Amar thelidji – Laghouat

Année universitaire 2019-2020

Soutenu le 20/10/2020

Résumé

La présente étude nous a permis de faire une analyse des études phytochimiques des extraits lipidiques du genre *Smilax* ; Les résultats de le HPLC et GC / MS montrent que l'espèce de *Smilax aspera* est riche en β carotène, *Smilax zeylanica* et *Smilax kraussiana* riches en stéroïdes et l'espèce *smilax macrophylla* contient Alpha-Tocophérol-beta-D-mannoside. L'étude de l'évaluation de L'activité antioxydante, en utilisant le test DPPH, Montre que le bêta-sitostérol-D-glucoside extrait de *Smilax lanceaefolia* Roxb présente une activité de 2.33%.les extraits de éther de pétrole ,acétate d'éthyle et le méthanol de *Smilax zeylanica* présentent une forte activité antioxydante par le test DPPH et une activité antidiabétique.

L'ensemble de ces résultats a permis de montrer la richesse de cette plante avec ses différentes espèces en molécules bioactives, ce qui explique l'utilisation de cette plante pour des raisons thérapeutiques.

Mots clés : extraits lipidique, *Smilax*, β -carotène, Alpha-Tocophérol-beta-D-mannoside, L'activité antioxydant, DPPH, stéroïdes, bêta-sitostérol-D-glucoside.

Abstract

The present study has enabled us to make an analysis of phytochemical studies of lipid extracts of the genus *Smilax*. HPLC and GC / MS results show that *Smilax aspera* species are rich in β carotene, *Smilax zeylanica* and *Smilax kraussiana* are rich in steroids and the *Smilax macrophylla* species contains Alpha-Tocopherol-beta-D-mannoside. The evaluation of the antioxidant activity, using the DPPH test, shows that the beta-sitosterol-D-glucoside extracted from *Smilax lanceaefolia* Roxb has an activity of 2.33%. Extracts of ether petroleum, ethyl acetate and methanol from *Smilax zeylanica* show strong antioxidant activity by the DPPH test and antidiabetic activity. All of these results showed the richness of this plant with its different species in bioactive molecules, which explains the use of this plant for therapeutic reasons.

Key words: lipids extracts, *Smilax*, β -carotene, Alpha-Tocopherol-beta- D-mannoside, antioxidant activity, DPPH, bêta-sitosterol-D-glucoside, Gamma-Sitosterol.

ملخص

مكنتنا الدراسة الحالية من إجراء تحليل للدراسات الكيمائية النباتية لمستخلصات الدهون من جنس *Smilax*. تظهر نتائج HPLC و GC / MS أن النوع *Smilax aspera* غني بـ β carotene و *Smilax zeylanica* و *Smilax kraussiana* الغنية بالستيرويدات و نوع *Smilax macrophyll* تحتوي على-Alpha Tocopherol-beta-D-mannoside. يُظهر تقييم نشاط مضادات الأكسدة ، باستخدام اختبار DPPH ، أن بيتا سيتوستيرول-د-جلوكوزيد المستخرج من *Smilax lanceaefolia Roxb* له نشاط 2.33%. تُظهر مقتطفات من نפט الأثير و خلات الإيثيل والميثانول من *Smilax zeylanica* نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة عن طريق اختبار DPPH ونشاط مضاد لمرض السكري. كل هذه النتائج أظهرت ثراء هذا النبات بأنواعه المختلفة في الجزيئات النشطة بيولوجيا، مما يفسر استخدام هذا النبات لأسباب علاجية.

الكلمات المفتاحية: المستخلصات الدهنية، *Smilax*، β -carotene، نشاط المضاد للأكسدة، DPPH، Tocopherol- bêta -D-mannoside ،le bêta-sitosterol-D-glucoside ،Gamma-Sitostérol.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Ma source de la force et de courage, mes chers parents.

Mes frères : Youcef, Ibrahim et Mohammed.

Mes sœurs : Hiba, Hadjer, aya et Soria.

Mes grandes mères : Zohra et Mebarka que dieu les protège.

Mes chères tantes, mes chers oncles et mes cousines.

Ma famille source d'espoir et de motivation.

Mes chères amies avant d'être trinômes : Ibtissam et Iman.

Notre promoteur madame Zakhrouf qui aide nous au tous les moments.

*Ma promotion master 2 biochimie appliquée en université AMAR
TELIDJI L'AGHOUAT.*

BELHAOUAS Aicha

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma famille en gratitude spécialement :

Mes chers parents pour leur amour, soutien et encouragements durant toutes mes années d'études, que Dieu les protège.

Mes frères : Mohamed, Omar ; Moetaz et Yacine .

Mes sœurs : Zineb et Anfal.

Mes chers oncles, mes chères tantes et mes chère cousines.

Mes grands-parents qui Dieu les protège.

Mes copines qui m'ont assisté dans ce travail Aicha et Imane pour leurs patiences.

Et bien sûr à notre promoteur madame Zakhrouf en gratitudes pour leurs conseils, leurs patiences.

Mes amis : Khadidja, Dalila ; Asma ; Yousra.

A ma promotion mastère 2 biochimie appliqué 2019-2020 et surtout Aicha, Zoulikha, les deux Fadhila, Khaouela et Mabrouka.

Ibtissam khedim

Dédicace

A mes chers parents : pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, que dieu les garde et Les protège.

A mes chères sœurs : Soad, Samia, Naziha pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes frères : Mohamed, Bilal, Ayoub pour leur appui et leur encouragement.

A mes chères amies:

Tourkia, Zahra, fatna, Aicha, Chaima, Yousra, Sabah et Hakima Au souvenir des moments agréable que nous passés ensemble à l'Université.

A mes chères trinômes : Ibtissam et Aicha

En souvenir de notre sincère et profonde amitié sans oublier leurs patiences et leur compréhension tout au long de ce travail.

Imane

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer toute nos reconnaissances à notre directrice de mémoire, Melle ZAKHROUF Zohra. Nous la remercions de notre avoir encadré, orienté et aidé.

Nos remerciement est également à Mme NEBEG Halima notre Co-promotrice.

Nos remerciements aux honorables membres du jury M. OUINTEN Mohamed et M. BOUKEROUIS Djoudi, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à toutes personnes qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Contexte bibliographique

1. Les lipides	3
1.1. Généralité sur les lipides	3
1.2. Classification des lipides	3
1.2.1. Les lipides saponifiables :	3
1.2.2. Les lipides insaponifiables :	6
1.3. Rôle de lipides	7
1.3.1. Rôle énergétique	7
1.3.2. Rôle structural	7
1.3.3. Rôle fonctionnel	7
2. Espèces réactives d'oxygènes, stress oxydatif et antioxydants	8
2.1. Les espèces réactives d'oxygènes (ERO)	8
2.1.1. Définition	8
2.1.2. L'origine d'ERO	9
2.2. Le stress oxydatif	10
2.2.1. Définition de stress oxydatif	10
2.2.2. Les conséquences de stress oxydatif	10
2.3. Les antioxydants	12
2.3.1. Systèmes de défenses antioxydants enzymatiques	13
2.3.2. Système de défenses antioxydants non enzymatiques	14
3. Les plantes du genre <i>Smilax</i>	16
3.1. Généralités	16
3.2. La diversité	17
3.3. La composition chimique	18

3.4.	Utilisation traditionnel et médicinal :	18
3.5.	Les activités biologiques des plantes de genre smilax :	18
3.5.1.	Action anti-inflammatoire	18
3.5.2.	Effet hépato protective :	18
3.5.3.	Action hémolytique-.....	19
3.5.4.	Activité antioxydant :	19

Chapitre II : Analyse et étude de quelques travaux

1.	Objectif de travail	20
2.	Méthodes d'extraction des lipides.....	20
2.1	Extraction par soxhlet (extraction à chaud).....	20
2.2	Extraction à froid: (macération).....	21
3.	Etude phytochimique.....	21
4.	Méthodes de dosage des lipides	21
4.1	Dosage des stérols totaux.....	22
4.2	Dosage de tocophérols totaux.....	22
5.	Chromatographie en phase liquide à haute performance(HPLC)	22
6.	l'activité antioxydante.....	23
7.	Résultats de dosage phytochimique et HPLC.....	23
8.	les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante	26
	Conclusion.....	29
	Références bibliographiques.....	30

Liste des Tableaux

Tableau N°	Titre	page
Tableau 01	Quelques espèces réactives de l'oxygène.	08
Tableau 02	Principaux systèmes de production des ERO.	09
Tableaux 03	la teneur des lipides chez <i>Smilax aspera</i> et <i>Smilx macrophylla</i> .	23
Tableau 04	les résultats des tests phytochimiques et HPLC sur les extraits de quelques espèces de Smilax (<i>Smilax lanceaefolia</i> Roxb, <i>Smilax zeylanica</i> , <i>Smilax macrophylla</i> , <i>Smilax aspera</i> <i>Smilax kraussiana</i> .).	25
Tableau 05	évaluation de l'activité antioxydant par le teste DPPH des extraits de <i>Smilax lanceaefolia</i>	27

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
Figure 01	classification des lipides.	03
Figure 02	structure d'acide gras.	04
Figure 03	structure d'acide gras saturé.	04
Figure 04	structure d'acide gras insaturé.	04
Figure 05	structure de cériide.	05
Figure 06	structure de triglycérides.	06
Figure 07	Noyau de base de stérol.	07
Figure 08	balance d'équilibre entre les systèmes oxydant antioxydant.	10
Figure 09	les différentes cibles des espèces Réactives de l'Oxygène.	12
Figure 10	structures chimiques des antioxydants naturels- acide ascorbique- .	14
Figure 11	structures chimiques des antioxydants naturels- α tocophérol.	15
Figure 12	structures chimiques des antioxydants naturels- β -carotène-	15
Figure 13	L'inflorescence de <i>Smilax gigantea</i> et <i>Smilax zeylanica</i> (par ordre).	16
Figure 14	<i>Smilax zeylanica</i> L.	17
Figure 15	Image de la plante <i>Smilax aspera</i> .	17
Figure 16	Montage d'extraction par l'appareil de Soxhlet.	20
Figure17	Réaction entre le DPPH• et le composé antioxydant pour former le DPPH.	23
Figure 18	le résultat de HPLC des extraits totale (A) et extrait de caroténoïdes saponifiés (B) de <i>Smilax aspera</i>	26

Figure 19	Activité de piégeage radicalaire des extraits méthanique de racine de <i>S. lanceaefolia</i> , en utilisant la méthode DPPH.S	27
------------------	---	----

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

ERO: espèces réactives d'oxygènes.

SOD: superoxydesdismutases.

TG: triglycérides.

TNF- α : facteurs de nécrose - α (anglais : *tumor necrosis factors*).

NaOH: hydroxyde de sodium.

KOH: hydroxyde de potassium.

CG/SM: chromatographie en phase gazeuse /spectromètre de masse.

HPLC/SM: Chromatographie en phase liquide à haute performance/spectromètre de masse.

Introduction

Introduction

Les recherches scientifiques prouvent que les plantes médicinales contiennent des composés bioactives contre nombreuse maladies, ces composés sont des métabolites secondaires tels que polyphénols ; les alcaloïdes et les tocophérols

Le genre *Smilax*, de la famille Smilacaceae, comprend 350 espèces distribuées en tout le monde surtout dans les régions tropicales et subtropicales. Les espèces de Smilacaceae ont une popularité très variée et ont des utilisations traditionnelles dans la médecine, dans la cuisine et même dans la cosmétique.

Les radicaux libre sont présents naturellement dans l'organisme, ces radicaux sont neutralisés aussi naturellement par les défenses de l'organisme. Le déséquilibre entre ces deux systèmes, en faveur des premier, dite stress oxydatif (**Droque, 2002 ; Favier, 2003 ; Haleng et al, 2007**). Ce dernier est impliqué dans plusieurs maladies telles que le cancer, les maladies inflammatoires et les maladies cardio-vasculaires (**Haleng et al, 2007**).

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**).

Dans ce contexte, notre objectif était de réaliser une étude phytochimique des extraits lipidiques de plante *Smilax aspera*. Malheureusement, En raison de confinement global suite à l'évolution de la pandémie COVID-19, ce qui rend difficile la poursuite de la recherche appliquée au laboratoire et nous a amène à réaliser une synthèse des études antérieurs menées sur le même plan. Notre travail est donc une synthèse et analyse des études phytochimiques sur des extraits lipidiques de quelques plantes du genre *Smilax*.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en deux parties :

- La première partie concerne l'étude bibliographique, commençant par quelques généralités sur les lipides, le stress oxydatif et les antioxydants ; suivie par une description botanique des plantes de genre *Smilax*.
- La deuxième partie concerne une analyse des études phytochimiques sur quelques plantes du genre *smilax*.

Chapitre I : Contexte
Bibliographique

1. Les lipides

1.1. Généralité sur les lipides

Les lipides présentent une classe nutritionnelle très importante biologiquement pour le point de vue calorique, et de l'importance indispensable des acides gras essentiels et de vitamines liposolubles (Charef, 2010).

Les lipides sont généralement extraits par un solvant organique non miscible à l'eau tel que le n-hexane, le chloroforme, l'éther de pétrole, etc. ou d'un mélange de solvants sur la base de la méthode développée par Bligh et Dyer 1953 (Maryline *et al*, 2013).

1.2. Classification des lipides

Les lipides sont classés dans deux grands groupes : **les lipides saponifiables et les lipides insaponifiables (Figure 01)**.

1.2.1. **Les lipides saponifiables** : sont appelé aussi les lipides à base d'acides gras, ce groupe de lipides donne du savon lorsqu'il a traité avec pyroxyde de sodium (NaOH) ou pyroxyde de potassium (KOH).

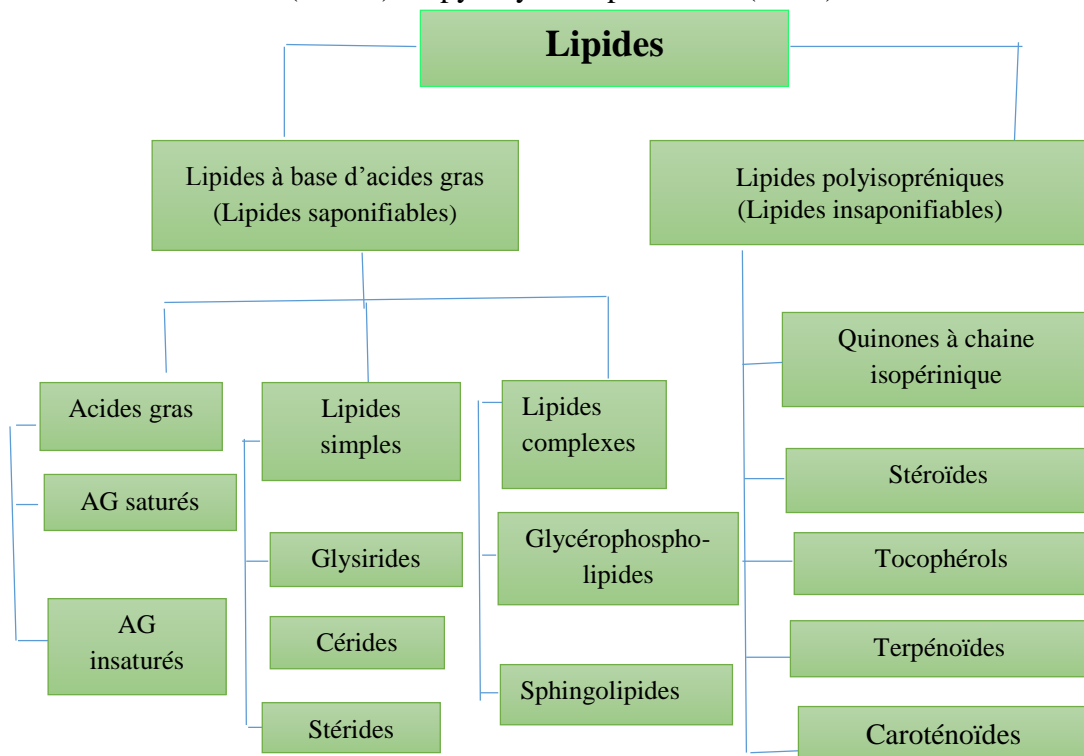
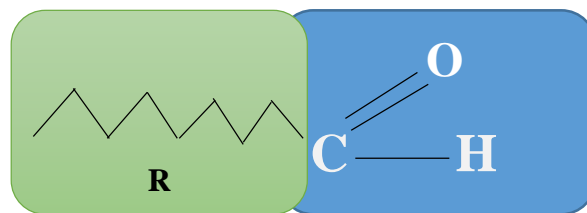


Figure 01 : Classification des lipides (El Atyqy, 2007 in Maamri, 2008).

1.2.1.1. **Les acides gras** : ce sont des acides carboxyliques constitué d'une chaîne carbonée de 4 à 24 carbones, avec un nombre paire de carbone et une fonction carboxylique **COOH (Fahy et al, 2005)**.

Les AG sont trouvées à l'état combiné sous forme d'ester dans les tissus et les cellules et ils n'ont pas trouvé en l'état libre et porte les propriétés de lipides (insolubilité dans l'eau....) (**Manuel et al, 2004**).



F fonction carboxyliques

R chaîne carbonée aliphatique

Figure 02 : structure d'acide gras.

En distingue deux classes des acides gras :

- **Les acides gras saturés** : sont des acides carboxyliques aliphatiques à chaîne carboné contient que des liaisons simples (ex : l'acide stéarique (C18 :0), L'acide palmitique (C16 :0)...).

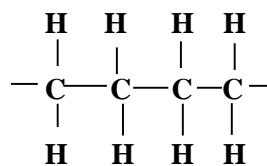


Figure 03: structure d'acide gras saturé.

- **Les acides gras insaturés** : dans sa chaîne carbonique un ou plusieurs doubles liaisons (ex : l'acide oléique (C18 :1)).

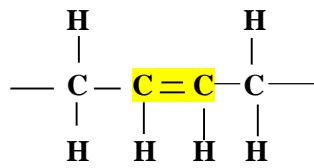


Figure 04: structure d'acide gras insaturé.

1.2.1.2. **Les lipides simples** : Sont des homolipides et qui ne contient que l'hydrogène, le carbone et l'oxygène. Les lipides simples sont classés dans trois groupes : les stérides, les glycérides et les cérides.

- **Les stérides** : Il s'agit d'une estérification des acides gras et des stérols. En distingue trois groupes des stérides classés suivant leurs origines : fungistérols (l'origine est les champignons), les phytostérols qui existe chez les plantes et les Zoostérols qui ont présent chez les animaux (le cholestérol le stéride le plus connu chez les animaux) (El Atyqy, 2007 in Maamri, 2008).
- **Les cérides** : Sont nommés aussi les cire, ce sont des esters des alcools primaire à longue chaîne (alcool gras) et un acide gras contient plus de 16 carbones. (El Atyqy, 2007 in Maamri, 2008).

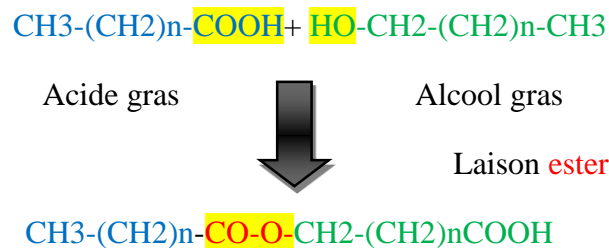


Figure 05: structure de céride.

- **Les glycérides** : Ce sont des esters des glycérols et un ou deux ou trois acide gras, les glycérides sont nommées monoglycérides, diglycérides ou triglycérides (figure06) selon le nombre des acides gras un ou deux ou trois acide respectivement.

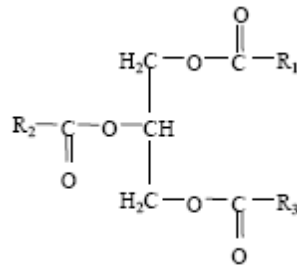


Figure 06 : structure de triglycérides.

1.2.1.3. Les lipides complexes

Ce sont des lipides qui contiennent plus que le carbone, l'hydrogène et l'oxygène un ou plusieurs atomes hétérogènes soufre S, azote N ou phosphore P.

Et suivant les hétéroatomes en classe : phospholipides, lipides soufrés et lipides azotés (Fahy *et al*, 2005)

1.2.2. Les lipides insaponifiables : sont très faibles 0.3 à 2% des lipides totaux.

1.2.2.1. **Tocophérol** : sa structure de base sont des dérivés méthyliques du tocol, un noyau hydroxychromane qui est fixé une chaîne aphytal entièrement saturée. La famille de Tocophérol contient quatre substances (isomères) ; α , β , γ , δ tocophérols. (Léger, 1992 in Charef, 2010), le α tocophérol est le plus fréquent et le plus actif biologiquement (Maamri, 2008).

1.2.2.2. **Les stérols** : sont des alcools stéroïdes, membres de la famille des terpènes (Noui, 2013).

Les stérols sont présents dans l'organisme humains et animales sous forme de cholestérols, et qui a deux origines : une origine exogène provient de l'alimentation (environ un tiers) et une origine endogène, synthétisé principalement dans le foie (deux tiers) (Boudebouze, 2014).

Le cholestérol est un constituant majeure dans la membrane cellulaire et lui offre sa fluidité.

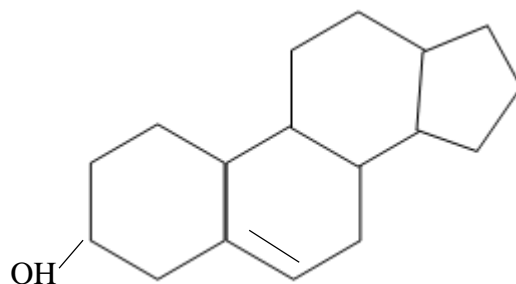


Figure 07 : Noyau de base de stérol.

Caroténoïdes : la famille de pigments du nature térapénoïdes c'est la partie importante des Caroténoïdes. Ce sont les pigments qui confèrent à l'huile sa coloration. Ces composés sont représentés essentiellement par les xanthophylles qui constituent 6,5 % de l'insaponifiable (**Krinsky, 2001**).

1.3. Rôle de lipides

1.3.1. Rôle énergétique

L'organisme animale est stocké l'excès des lipides dans les tissu adipeux, ces lipides sont généralement constitue par les triglycérides (TG). La valeur énergétique des lipides est très importante et très élevé par rapport à la valeur énergétique de protéine et de glucides (1 gramme de lipide fournit 9Kcal) (**Boudebouze, 2014**).

1.3.2. Rôle structural

Les lipides sont des constituants indispensables des membranes cellulaires et intracellulaires, les lipides sont représentés par la bicouche lipidique dans la membrane qui est constitué de glycérophospholipides, de sphingolipides et de stérols. La présence des lipides dans la membrane cellulaire donnent à ce dernier sa fluidité (**Boudebouze, 2014**).

1.3.3. Rôle fonctionnel

Les lipides ont un rôle dans la synthèse des hormones stéroïdes et les hormones dérivées des acides gras polyinsaturé. Ainsi que son rôle dans le transport des vitamines liposolubles et dans la signalisation intra et inter cellulaires (**Boudebouze, 2014**).

2. Espèces réactives d'oxygènes, stress oxydatif et antioxydants.

2.1 Les espèces réactives d'oxygènes (ERO)

2.1.1 Définition

Les espèces réactives d'oxygènes (ERO) sont tous espèces, atomes ou molécules, possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non pairs, isolé et se libérant facilement) telle que les ions oxygénés et les peroxydes.

Les espèces radicalaires cherchent d'appairer leurs électrons libres, en parle alors d'un état transitoire, l'espèce est alors très réactive et impliquer dans la dégradation des lipides, protéines acides nucléiques, par oxydation par couplages des électrons soit par l'acceptation ou par le transfert des électrons libres (**Bensakhria, 2018**) L'ERO sont des substances essentiel et indispensable de la vie cellulaire, ils sont participées dans le contrôle et la régulation de certain fonction biologiques (la communication cellulaire) et à l'homéostasie cellulaire (**Zbadi, 2018**).

Les différentes espèces réactives de l'oxygène sont le radical superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde, alkoxyde (**Monique et al, 2003**).

Tableau 01 : Quelques espèces réactives de l'oxygène (**Guillouty, 2016**).

ROS (Reactive Oxygen Species)	Symbole
Anion superoxide	$O_2^{\cdot -}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Radical hydroperoxyde	HOO^{\cdot}
Radical peroxyde	ROO^{\cdot}
Hydroperoxyde	$ROOH^*$
Radical alkoxyde	RO^{\cdot}
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical oxyde nitrique	NO^*

2.1.2 L'origine d'ERO

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production des ERO sont appelés les facteurs oxydants, en distinguant deux origines d'ERO :

- Endogène : où la formation des radicaux libres s'effectue au niveau de l'organisme par différents organites des cellules : mitochondries, microsomes....
- Exogène : où les ERO sont produits hors de l'organisme (tableau 02) (**Pincemail et al, 2001**).

Tableau 02 : Principaux systèmes de production des ERO (**Pincemail et al, 2001**).

Dans l'organisme	Extérieurs à l'organisme
<ul style="list-style-type: none"> ✓altération du transport des électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale (ischémie - reperfusion) ✓biosynthèse des prostaglandines (prostanoïdes et leucotriènes inflammatoires) ✓oxydation de l'hémoglobine ✓oxydation du glucose ✓libération du fer de ses protéines de transport ✓agrégation des plaquettes ✓activation des cellules endothéliales ✓activation des globules blancs ✓cytochrome P 450 	<ul style="list-style-type: none"> ✓exposition au soleil (UV) ✓exposition aux irradiations (rayon γ) ✓amiante ✓pollution ✓ozone ✓alimentation ✓fumée de cigarette ✓alcool ✓médicaments

2.2 Le stress oxydatif

2.2.1 Définition de stress oxydatif

On définit le stress oxydatif par un déséquilibre de système oxydants/antioxydants dont l'excès de la production des pro-oxydants par rapport à la production des neutralisateurs de l'organisme.

La production des espèces réactives d'oxygènes est un processus indispensable pour l'organisme ; mais l'excès de cette production en l'absence ou l'insuffisance des substances antioxydants et donc une perturbation, provoque ce que est ce que en appel le stress oxydatif ou le stress oxydant. ((Haleng *et al.*, 2007) ; (Rioux, 2009) ; (Guillouty ,2016)).

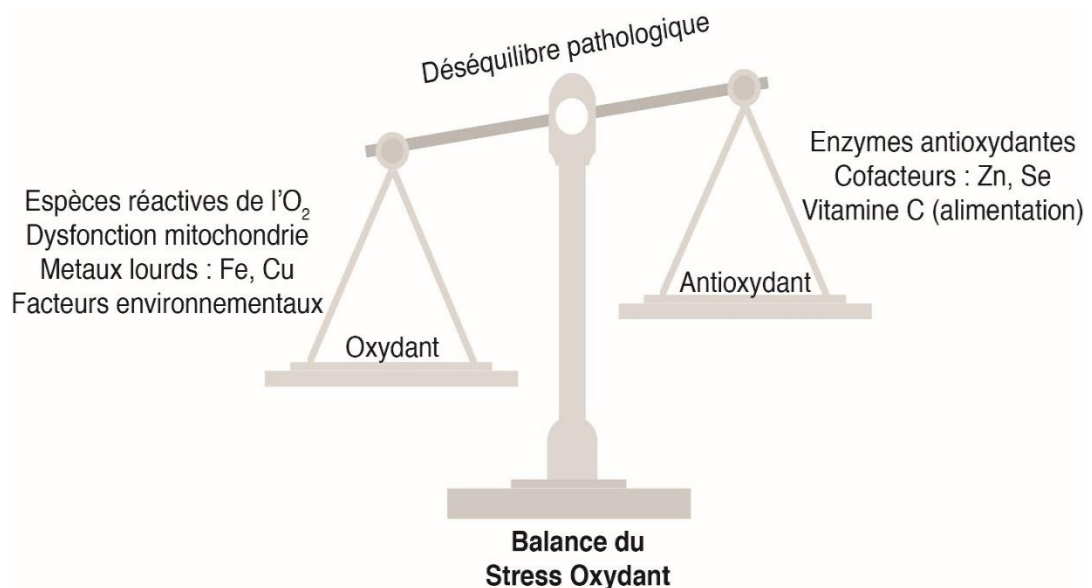


Figure 08 : balance d'équilibre entre les systèmes oxydant / antioxydant (stress oxydant) (Thibaut, 2017).

2.2.2 Les conséquences de stress oxydatif

Le stress oxydatif responsable de l'altération de biomolécules (ADN, carbohydrates, protéines et les lipides), et perte de contrôle des formes de signalisation et donc des dommages sur la cellule telle que l'apoptose et le nécrose (Edeas *et al.*, 2010).

Cette altération des biomolécules produit nouveaux formes complexes et nombreux selon le cible (acides aminés, stérols, phospholipides ou base pyrimidiques ou

purique) et selon le produit radicalaire (superoxyde, hydroxyle ou peroxydinitrite) (**Therond, 2006**).

➤ **Sur l'ADN**

Ces dommages s'obtiennent de la réaction des ERO avec désoxyribose ou phosphodiester des bases nucléotides puriques et pyrimidiques qui se résulte des cassures des brins (arrachement d'un atome d'hydrogène), et des mutations sur l'ADN (**Therond, 2006**).

➤ **Sur les protéines**

Les ERO attaquent les chaînes polypeptidiques et les chaînes latérales des acides aminés des protéines.

Ainsi que les acides aminés sont sensibles de l'oxydation telle que phénylalanine et tyrosines qui sont des cibles des métaux et des radicaux hydroxyles et qui subissent des modifications irréversibles (**Therond, 2006**).

➤ **Sur les lipides**

Les lipides sont aussi des cibles de l'oxydation et de façon précise les acides gras non estérifiés (triacylglycérols, phospholipides..), et les stérols. L'altération oxydante concerne les acides gras polyinsaturés en parle de l'acide linoléique, linoléique et arachidonique. (**Belkhiri, 2010., Bensakheria, 2018**).

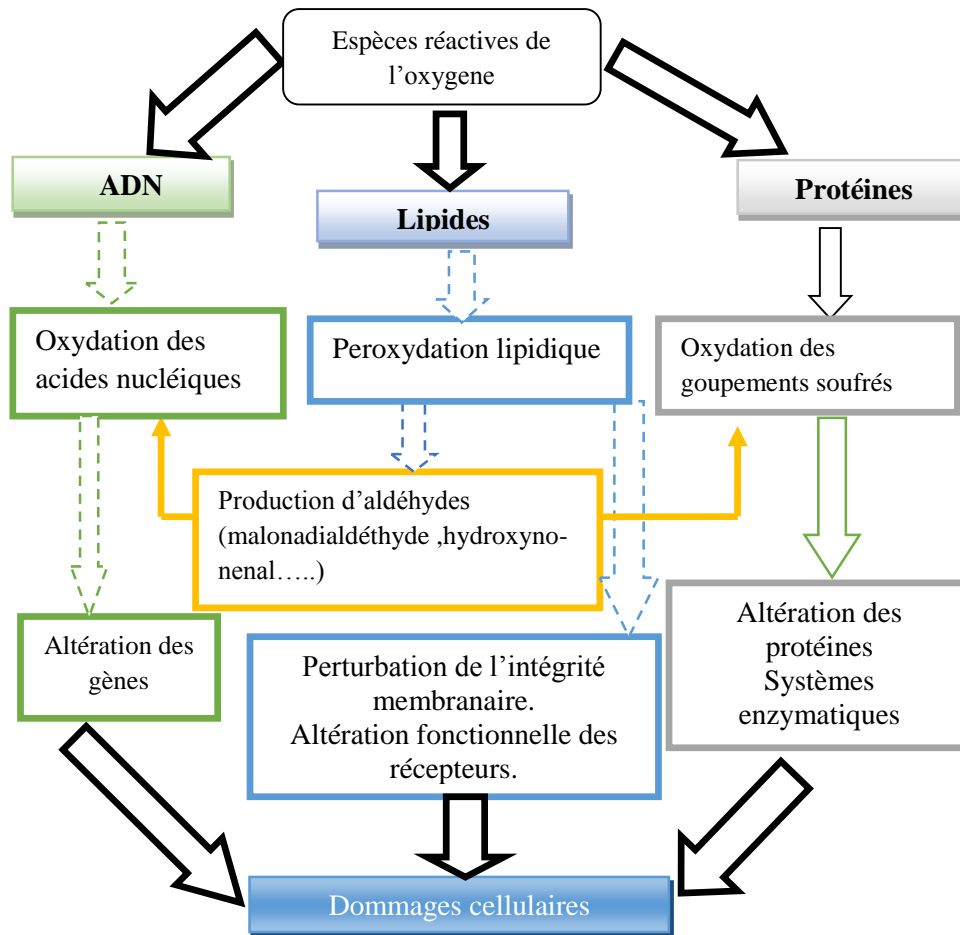


Figure 09 : les différentes cibles des espèces Réactives de l'Oxygène. (Klibet., 2016).

2.3 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui inhibent et neutralisent un radical libre et donc préviennent des maladies associées au stress oxydatif. (Kulawik *et al.*, 2013).

Un antioxydant peut donc :

- ✓ prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles.
- ✓ ou désactiver directement les ROS.

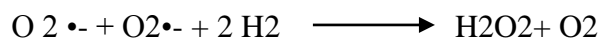
Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : les endogènes et les exogènes (Haleng *et al.*, 2007).

Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxydedismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants

exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation.

2.3.1 Systèmes de défenses antioxydants enzymatiques :

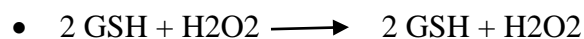
- **Les superoxydesdismutases (SOD):** La SOD est l'une des plus importantes enzymes cellulaires possédant une fonction antioxydante. C'est l'enzyme antioxydante « anti-O₂^{•-} » la plus importante dans toutes les cellules vasculaires car elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en eau oxygénée. L'absence de cette enzyme peut être létale. La SOD catalyse la dismutation de l'O₂^{•-} en dioxygène et H₂O₂ selon la formule :



Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. La SOD1 cytosolique, et la SOD3 extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique (Cu/Zn-SOD), alors que la SOD2 mitochondriale utilise le manganèse (Mn-SOD). (Johnson et Guilivi, 2005).

- **Glutathion peroxydases**

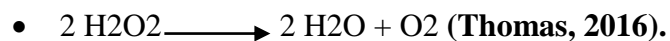
Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries. Elles permettent de réduire H₂O₂ en H₂O en parallèle de l'oxydation du glutathion.



Le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (Thomas, 2016).

- **Catalases**

La catalase est localisée dans les peroxysomes et sa cible principale est le H₂O₂. Cette enzyme hémique composée de quatre chaînes polypeptidiques. Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.



2.3.2 Système de défenses antioxydants non enzymatiques :

➤ Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide constitué d'acide glutamique, de cystéine et de glycine (γ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). On le retrouve dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries) soit sous forme réduite (GSH) soit sous forme oxydée (GS-SG). Le rapport de concentration entre ces deux formes est en faveur de la forme réduite, ce qui est nécessaire à l'action antioxydante. Pour être actif, le glutathion ne nécessite pas forcément l'action de la GSH réductase citée ci-dessus. Dans ce cas, la régénération à l'état initial ne sera pas possible. (Haleng *et al*, 2007).

➤ Vitamine C ou acide L-ascorbique

L'acide ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires, pour l'homme doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. (Bennamara, 2017).

La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA ($\text{HO}\cdot$ ou $\text{O}_2\cdot^-$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. (Klibet, 2016)

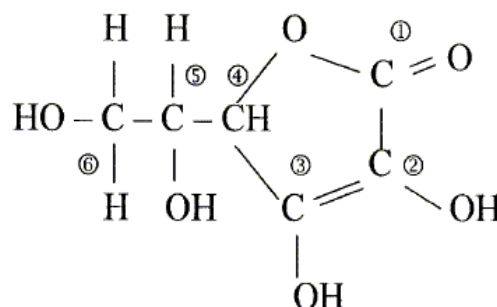


Figure 10 : structures chimiques des antioxydants naturels- acide ascorbique-.

➤ Vitamine E

La vitamine E est une vitamine liposoluble regroupée la famille des tocophérols (alpha, beta, gamma, delta), Elle a considéré comme antioxydant contre les ROS (en parallèle de la vitamine C et du glutathion) Ils sont liposolubles donc impliqués dans la réduction de la peroxydation lipidique contrairement par exemple à la vitamine C

qui est hydrosoluble et qui agira donc plutôt dans les milieux hydrosolubles (Thomas, 2016).

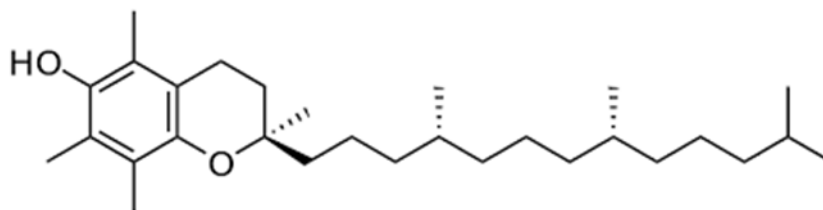


Figure 11: structures chimiques des antioxydants naturels- α tocophérol.

Caroténoïdes

Les caroténoïdes dont le bêta-carotène qui est le plus connu sont des précurseurs de la vitamine A. Ils jouent le rôle de pigments colorés jaunes à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes. Le bêta-carotène est caractérisé par sa couleur jaune à rouge où joue le rôle de pigment dans les fruits et les légumes principalement (Guillouty, 2016).

Ils sont apportés par l'alimentation, les aliments les plus riches sont la carotte (α -carotène, β carotène), la tomate, le melon, l'abricot et les légumes verts (épinards, laitue...) On en retrouve aussi dans le foie et les huiles de foie de poisson, le lait entier et les œufs l'apport journalier recommandé est de 1 à 5 mg.

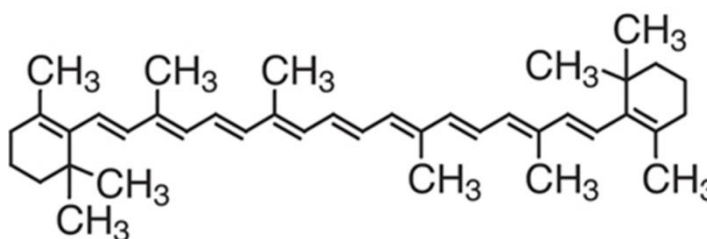


Figure 12: structures chimiques des antioxydants naturels- β -carotène.

Le β - carotène est considéré comme un excellent antioxydant naturel grâce à ces propriétés liposoluble qui lui permet de traverser les membranes cellulaires (Guillouty, 2016).

➤ Polyphénols

Il s'agit des substances organiques solubles dans l'eau, présent principalement chez les végétaux, ils sont appartient de métabolisme secondaire des plantes.

Les polyphénols sont considérés comme des piègeurs des ERO et des bons chélateurs des métaux de transition telle que le fer et le cuivre (qui permettent de catalyser les oxydations) (Guillouty, 2016 ; Haleng *et al*, 2007).

La bioactivité des flavonoïdes (groupe de composées phénoliques), et notamment de la quercétine qui a été très étudiée ne s'arrête pas uniquement aux réactions piégeuses de radicaux, mais aussi aux actions anti-cancérigènes, anti-inflammatoires, antiagrégants ou encore vasodilatateur (Klibet, 2016).

3 Les plantes du genre *Smilax*

3.1 Généralités

Le genre *Smilax* est détecté pour la première fois par Linnaeus (1753). Et a classé pour un long temps dans la famille Liliaceae. Aujourd'hui, ils ont exclus de la famille Liliaceae et inclus dans la famille des Smilicaceae, et beaucoup des botanistes sont suivis cette classification. Smilicaceae est une petite famille monocytes dans l'ordre de liliales, ces plantes sont dioïques. Le nom populaire des espèces de smilax est Sarsaparilla. (Soufiahi et Sulistyaningsih, 2019)

Le genre *smilax* est consisté plus de 300 espèces (de 300 à 350 espèces) (Myriam et al, 2019 ; Dhanya et al, 2018).

Les plantes de genre smilax sont caractérisé de tige grimpeuse jusqu'à 20 m de long. (Borkataky., 2014). (Venugopalan et Perumal., 2013) (Delgado et al., 2012). Rhizome tubéreux ou allongé, Tige cylindrique. Les feuilles sont caduc ou persistantes, symétriques ou asymétriques, brillante. L'inflorescence axillaire (figure 13) simple ou complexe. Les fleurs sont actinomorphe, unisexuelle. Les fruits noirs ou rouges. (Soufiahi et Sulistyaningsih., 2019 ; Martins et al, 2013).



Figur13 :L'inflorescence de *Smilax gigantea* et *Smilax zeylanica* (par ordre de gauche à droite) ((Soufiahi et Sulistyaningsih, 2019)

3.2 La diversité

Les plantes de genre smilax sont réponsues dans les régions tropicales et temporales du monde. 24 espèces de genre smilax sont trouvées en l'Inde tel que *Smilax zeylanica* Linn (**figure 14**), *Smilax aspera* Linn., *Smilax perfoliata* Roxbet *Smilax wightii* A. DC (Venugopalan et Perumal., 2013).

En Brazil, le genre est présenté par 32 espèces, et l'espèce le plus connus est *Smilax brasiliensis* (Barbosa *et al*, 2001 ; Martins *et al* ., 2013).



Figure 14 : *Smilax zeylanica*L (Dhanya *et al*, 2018).

Smilax aspera (**figure 15**) est répondu à la région méditerranéenne, Et se trouve aussi en Afrique d'est et le sud de l'Asie (Ivanova *et al*, 2011; Qi *et al*, 2017).

Smilax china est distribué en l'Inde, chine, Nepal et Bhutan (Vijayabaskar et Elango, 2018).



Figure 15 : Image de la plante *Smilax aspera*.

3.3 La composition chimique

Beaucoup d'études montrent que les smilacaceesont riches en alcaloïdes, saponines, Tanins, Glycosides, Triterpinoïdes, stérols et les Phytostérols(Alpha- et bêtasitostérols), stigmastérol, Caroténoïdes (β -carotène, β -cryptoxanthine) , Acides gras(Acides palmitique, stéarique, linoléique...), Sels minéraux (Sels de K , Ca et Mg), Flavonoïdes , les composées phénoliques et autre acides tel que l'acide sarsapique et l'acide ascorbique (Dhanya., 2018 ;Raul et Damaso ., 2012), (Ghédira. et Goetz., 2016).

3.4 Utilisation traditionnel et médicinal

Les smilax ont une utilisation très varié chez les peuples de monde que ce soit en médecine traditionnelle ou en cuisines.

*Smilax aspera*est utilisé : en Népal pour améliorer le gout et en Madagascar pour traiter les problèmes qui suivent la grossesse, la fatigue, les problèmes gastro-intestinaux, la grippe, les maladies hépatiques. (Bussmann *et al.* 2018).

Sarsaparilla est aussi utilisé traditionnellement dans le traitement de rhumatisme, traitements de la maladie syphilis (maladie sexuelle contagieuse due à une bactérie (Challinor *et al.*, 2012).

3.5 Les activités biologiques des plantes de genre smilax :

Les recherches sur le genre Smilax ont prouvées que les plantes de ce genre sont active biologiquement, et qu'ont une activité antioxydants, cytotoxiques, analgésiques, immuno- modulateur, antiarthritique, antipyrétique, antidiabétique, cyto protective, hépato protective, anti inflammatoire et action hémolytique (Ozsoy., 2008 ; Ivanova *et al.*, 2010 ;Chal ;linor *et al.*, 2012 ; Dhanya *et al.*, 2018).

3.5.1 Action anti-inflammatoire

La salsepareille inhibe l'œdème de la patte induit par la carragénine. *Smilax glabra* inhibe la production de NO des cellules et inhibe également la production de TNF- α . La fraction acétate d'éthyle et l'extrait total de Smilax sont anti-inflammatoires, utilisables dans les douleurs pelviennes chroniques. (Challinor *et al.*, 2012).

3.5.2 Effet hépato protective

L'extrait de Smilax a un effet protecteur du foie contre l'intoxication au tétrachlorure de carbone(CCl₄) chez le rat à la dose de 100 mg/kg par jour. À noter que l'extrait lui-même a une bonne tolérance hépatique au long cours (pas d'effet

toxique sur la souris à raison de 0,5 à 3,0 g/kg sur 24 heures). (**Mandal *et al*, 2008 ; Ghédira et Goetz, 2016**).

3.5.3 Action hémolytique-

Elle est liée à la nature de l'aglycone du sarsaparilloside (Saponines de structure Stéroïdique). Lasaponine remplace le cholestérol de la membrane des hématies (**Ghédira et Goetz., 2016**).

3.5.4 Activité antioxydant

Grace à sa richesse en métabolite secondaire tel que les composées phénoliques, β -carotène, Flavonoïdes, stérols et tocophérol, les Similicacea sont considérées comme une source d'antioxydants (**Barbosa *et al*, 2019**).

*Chapitre II : Analyse et étude de
quelques travaux*

1. Objectif de travail

Notre travail est une synthèse des travaux qui ont été réalisés dans le concept de l'étude phytochimique des extraits lipidiques de quelques plantes de genre *Smilax*.

2 Méthodes d'extraction des lipides

2.1 Extraction par Soxhlet : (extraction à chaud)

C'est l'appareil qui est inventé par Franz Von Soxhlet, Il s'agit d'une extraction à chaud solide-liquide. Les traces des solvants d'extraction sont éliminées par évaporateur rotatif à pression.

Le solvant est placé dans le ballon au-dessus de plaque chauffante et quand il atteint l'ébullition, le vapeur monte vers le réfrigérant ou se condense, le solvant est donc retourne au cartouche qui contient la matière végétale et quand la chambre se remplit, la solution est siphonnée automatiquement dans le ballon.

La durée et la température d'ébullition est lié au nature de solvant et la matière à extraire (Grigonis *et al*, 2005).

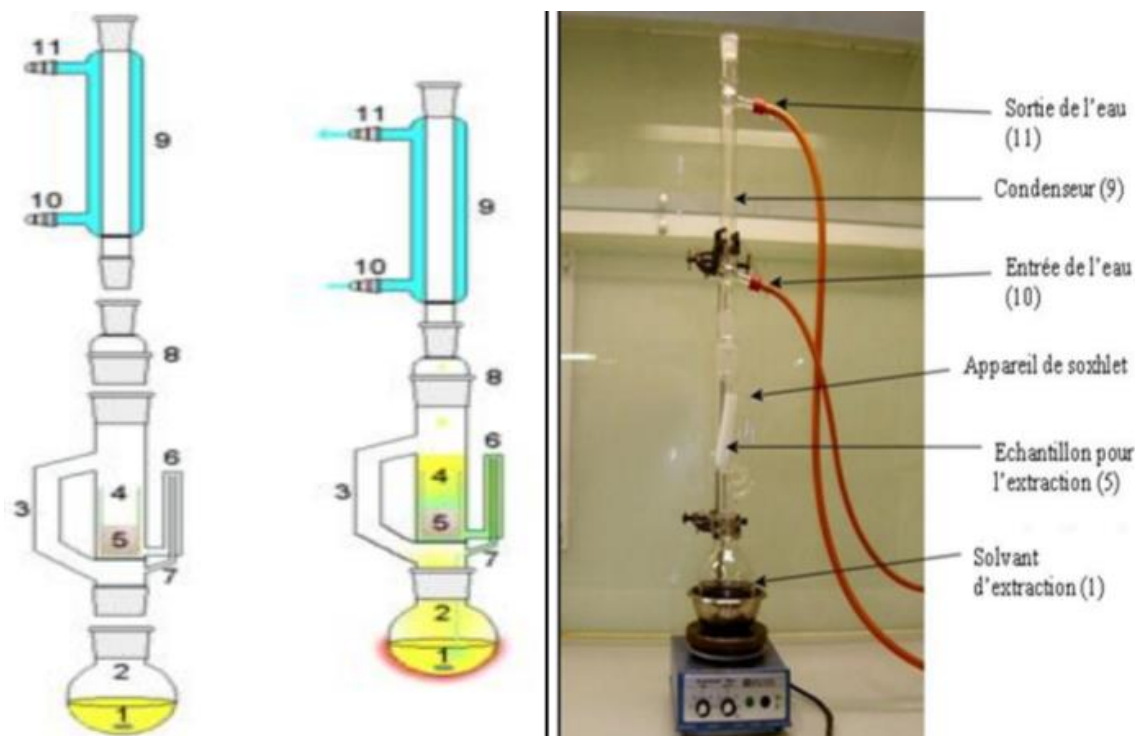


Figure 16 : Montage d'extraction par l'appareil de Soxhlet. (Solvant d'extraction (1), Ballon (2), tube d'adduction (3), corps en verre (4), cartouche en papier-filtre épais (5), tubesiphon (6-7), réfrigérant (9-10-11)) (Ben Rahal , 2018).

2.2 Extraction à froid : (macération)

C'est une méthode facile, il s'agit d'une opération où le solide est plongé dans le solvant avec une agitation, à l'abri de la lumière. L'utilité de cette méthode est dans le cas des molécules fragiles.

La macération peut durer des jours, ce qui peut présenter quelques inconvénients tel que le risque de fermentation et la contamination bactérienne, et aussi le risque de dégradation des molécules actives (**Meddour et al, 2013**)

3 Etude phytochimique

Criblage ou screening phytochimique est l'un des outils indispensables dans la caractérisation des familles chimiques présentes dans les plantes.

Son principe est de former des complexe qui soit précipitent ou colorent, ou changent la couleur (**Mamadou, 2012**).

3.1 Etude phytochimiques des stérols et caroténoïdes

➤ test de Liebermann-Burchardt : caractérisation des stérols et des Terpènes

- **Principe :** Faire dissoudre l'échantillon dans un volume d'anhydride acétique avec un volume de chloroforme dans un tube à essai. Ajouter un à deux volumes d'acide sulfurique concentré au fond du tube à essais à l'aide d'une pipette et ne pas agiter. La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette virant au vert de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes (**N'guessan et al, 2009**).

3.2 Test Emmerie–Engel (Emmerie et Engel., 1939) : caractérisation des tocophérols :

On utilise les propriétés réductrices de tocophérol, qui en solution alcoolique, réduit le fer ferrique en fer ferreux, ces dernier sont complexé par phénantroline, et donne la couleur rouge- orangé qui indique la présence de tocophérol. (**Emmerie et Engel ; 1939 in Maamri, 2008**).

4. Méthodes de dosage des lipides

4.1 Dosage des stérols totaux

Il s'agit d'un dosage spectrophotométrique qui applique le teste de Liebermann - Burchardt et qui est basé sur la coloration des stérols après sa formation de complexe stable avec l'anhydride acétique. Les absorbances sont mesurés à longueur d'onde de 550nm.

- **Principe :**

Le principe repose sur une réaction colorée spécifique des 3 β -hydroxystéroïdes possédant une double liaison en 5-6. En présence de cholestérol, le réactif spectral de Liebermann développe une coloration verte stable au bout de 25 min à l'obscurité. En parallèle, ils ont établis une courbe d'étalonnage du cholestérol (**Benalia et al, 2016**).

4.2 Dosage de tocophérols totaux

Il s'agit d'un dosage colorimétrique suivant le test Emmerie –Engel (**Emmerie et Engel, 1939**). La réaction d'oxydant-réduction entre le tocophérol qui réduit Fe^{3+} en Fe^{2+} en suite une formation de complexe entre le phénantroline et le Fe^{2+} qui donne la couleur rouge –orangé.

- **Principe**

Ils ont utilisé la courbe d'étalonnage d'alpha-tocophérol (vitamine E commerciale) avec le réactif phénantroline et le chlorure de fer $FeCl_3$. L'absorbance est mesuré en 510nm.

5. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

- **Principe :**

La HPLC, méthode d'analyse physico-chimique, sépare les constituants d'un mélange (les solutés) par entraînement au moyen d'une phase mobile liquide le long d'une phase stationnaire solide ou liquide fixé, grâce à la répartition sélective des solutés entre ces deux phases. Chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire et une force de mobilité due à la phase mobile.

6. L'activité antioxydante :

L'évaluation de l'activité antioxydante est reposé sur la mesure de la capacité des antioxydants de piéger et de réduire les composées radicalaire, tel que le DPPH•. FRAP.

➤ Le test DPPH

• Le principe test (2,2-diphényl 1-1picrylhydrazyl) DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-1picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune grâce à son électron non apparié sur l'atome du pont d'azote (**Figure 11**) (**Popovici et al, 2009**)

Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH., qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (**Talbi et al, 2014**).

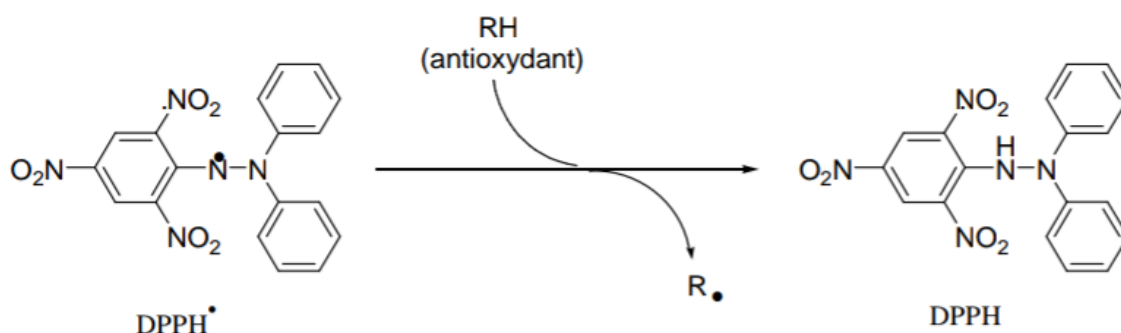


Figure 17: Réaction entre le DPPH• et le composé pour former le DPPH. (**Sering et al., 2015**).

7. Résultats de dosage phytochimique et HPLC

- La teneur en β -carotène de la plante *Smilax aspera* : 27.12 % (**Raul et Damaso, 2012**) est évaluée par HPLC-SM.
- Teneur en Alpha-Tocophérol-beta-D-mannoside Gamma-Sitostérol dans *Smilax macrophylla* (**Zubair et al, 2013**) est évalué par GC/MS, une valeur très faible qui peut due de la nature de solvant d'extraction (**tableau 03**).

Tableaux 03 : la teneur des lipides chez *Smilax aspera* et *Smilx macrophylla*

Espèce	Le composé chimique	La composition
<i>Smilax aspera</i> (Raul et Damaso., 2012)	β -carotène	65.76 μ g/g
<i>Smilax macrophylla</i> (Zubair et al., 2013)	Alpha-Tocophérol-beta-D-mannoside	0.47 %
	Gamma-Sitostérol	0.35%
<i>Sarsaparilla</i> (Zagorodskaya, et Chikovani., 1987)	β -carotène	5.5%

Le tableau ci-dessous présente des résultats de tests phytochimique de travaux de :

(Razafindratsima ., 2008) sur *Smilax aspera* qui indique la présence de β -carotène.

(Nidhi et al, 2019) sur *Smilax zeylanica* qui indique la présence de Stéroïdes.

Le travail de (Zubair et al, 2013) identifie l'existence d'Alpha-Tocophérol-beta-D-mannoside et le Gamma- Sitostérol. Par une GC/MS dans *Smilax lanceaefolia* Roxb.

- Le travail de (Raul et Damaso, 2012) sur *Smilax aspera* prouve la présence de β -carotène par HPLC. Le profil des pics exprimé dans la figure 18.

Tableau 04 : les résultats des tests phytochimiques et HPLC sur les extraits de quelques espèces de Smilax (*Smilax lanceaefolia* Roxb, *Smilax zeylanica*, *Smilax macrophylla*, *Smilax aspera* *Smilax kraussiana*).

Espèce	solvant d'extraction	Le composé chimique
<i>Smilax lanceaefolia</i> Roxb. (Laitonjam et Kongbrailatpam, 2009)	Méthanol	bêta-sitostérol., bêta-sitostérol-D-glucoside,
<i>Smilax zeylanica</i> (Nidhi et al., 2019)	Acétate d'éthyle, méthanol	Stéroïdes
<i>Smilax macrophylla</i> (Zubair et al., 2013)	n-hexane	Alpha-Tocopherol-beta-D-mannoside Gamma-Sitosterol.
<i>Smilax aspera</i> (Raul et Damaso, 2012)	Acétone	β-carotene
<i>Smilax kraussiana</i> . (Razafindratsima, 2008)	L'eau, après un fractionnement avec n-butanol	Stéroïdes
<i>Smilax zeylanica</i> (Murali et al., 2010)	Méthanol	B- Sitosterol

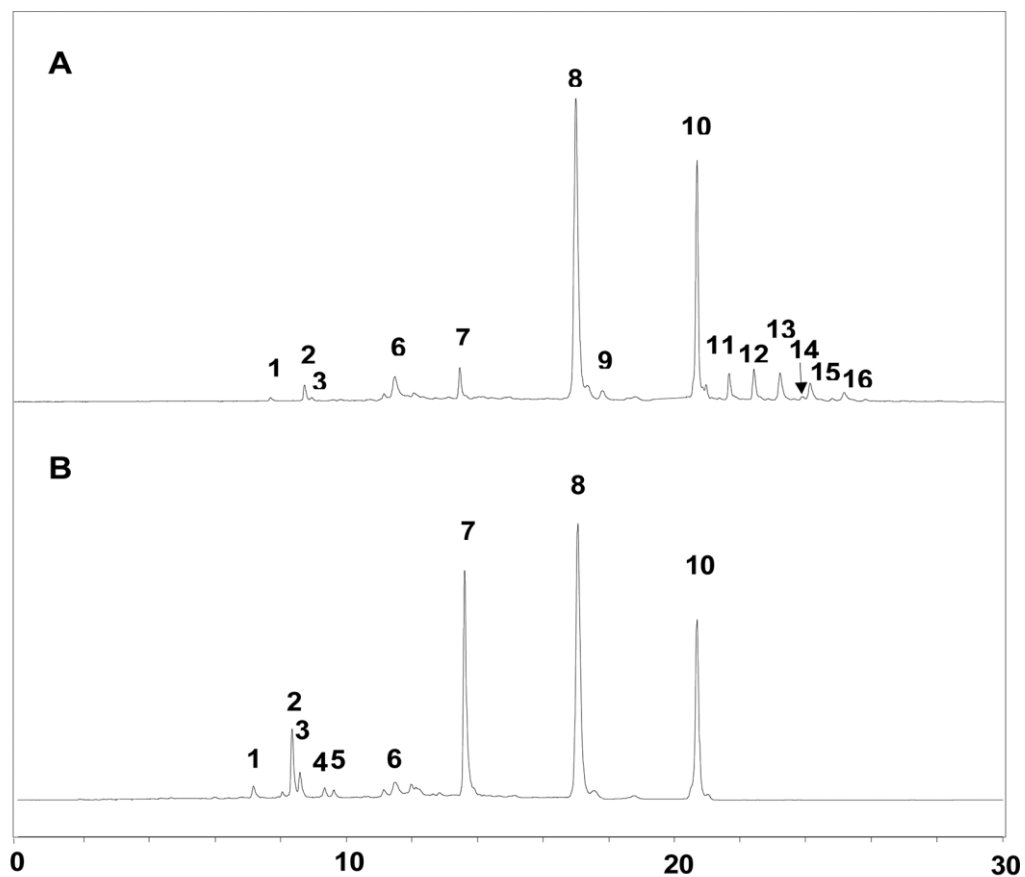


Figure 18 : le résultat de HPLC des extraits totale (A) et extrait de caroténoïdes saponifiés (B) de *Smilax aspera* (Raul et Damaso, 2012) le pic 10 présente β -carotène.

8. les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante

Pour mesurer l'activité antioxydante, 2.8 ml de solution de DPPH-méthanol 45 mg mL/1 est rapidement mélangé avec 200 microlitre de méthanol, l'absorbance est lue à 517nm. L'hydroxytoluène butylé (BHT) est utilisé comme un standard. Le résultat est exprimé dans le **tableau 05** et la **figure 19**.

L'activité antioxydante est calculée avec la formule :

Activité de récupération radicale (%) = $\frac{(A_0 \text{échantillon} - A \text{ test})}{(A_0 \text{référence} - A \text{ réf})} \times 100$.

Tableau 05 : Evaluation de l'activité antioxydante par le teste DPPH des extraits de *Smilax lanceaefolia* Roxb d'appriis **Laitonjam et Kongbrailatpam**.

Espèces	Le composé chimique	Le pourcentage de réduction
<i>Smilax lanceaefolia</i> Roxb. Laitonjam et Kongbrailatpam, 2009)	bêta-sitostérol-D-glucoside	2.33%

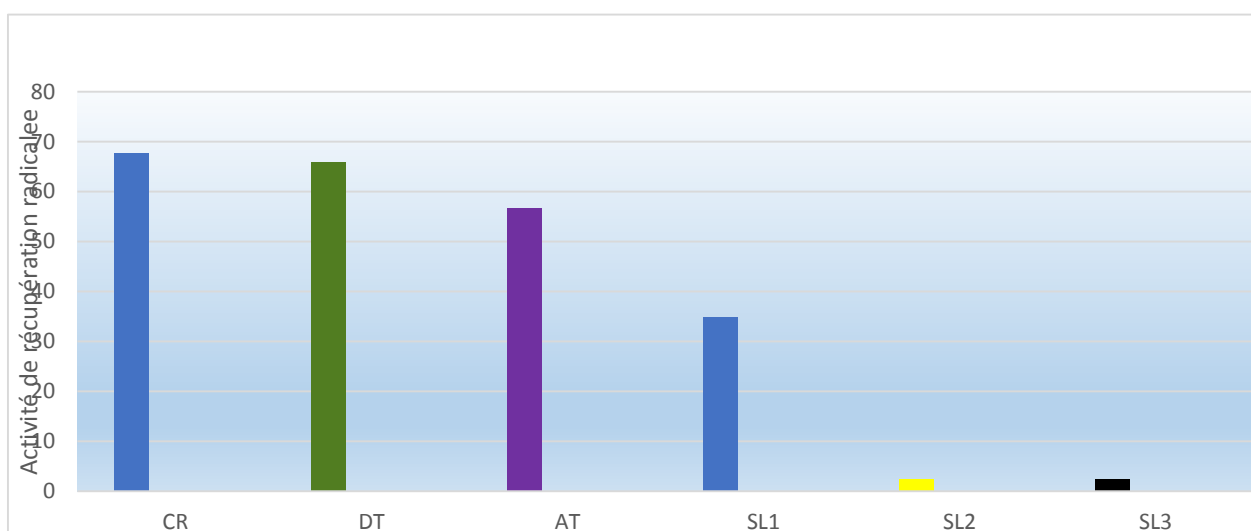


Figure 19 : Activité de piégeage radicalaire des extraits méthanique de racine de *S. lanceaefolia*, en utilisant la méthode DPPH. **SL2** (bêta -sitostérol-D-glucoside) présente le pourcentage de 2.33% (**Laitonjam et Kongbrailatpam, 2009**).

L'activité antioxydant de *Smilax lanceaefolia* Roxb est importante malgré la teneur faible de lipide.

D'autre part, d'après les travaux de **Tyagy et al, 2019**, les extraits de éther de pétrole, acétate d'éthyle et le méthanol de *Smilax zeylanica* présentent une forte activité antioxydante par le test DPPH et une activité antidiabétique, et cela est lié à leur richesse en phénol, stéroïdes et tannins....

Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, nous avons porté intérêt sur la synthèse et l'analyse des études phytochimiques des extraits lipidiques de quelques espèces de genre *Smilax*.

Les résultats de dosage et le screening avec le HPLC et GC / MS montrent que l'espèce *Smilax aspera* est riche en β -carotène, *Smilax zeylanica* et *Smilax kraussiana* riches en stéroïdes et l'espèce *Smilax macrophylla* contient Alpha-Tocophérol-beta-D-mannoside

Le résultat l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH montre que le bêta-sitostérol-D-glucoside extrait de *Smilax lanceaefolia* Roxb a une activité de 2.33%. Les extraits de éther de pétrole, acétate d'éthyle et le méthanol de *Smilax zeylanica* présentent une forte activité antioxydante par le test DPPH et une activité antidiabétique.

L'ensemble de ces résultats a permis de montrer la richesse de cette plante avec ses différentes espèces en molécules bioactives, ce qui prouve l'utilisation de cette plante pour des raisons thérapeutiques.

Il serait donc intéressant d'approfondir cette étude par :

- Faire des tests phytochimiques et étudier les différentes activités biologiques sur la plante *smilax*. Notamment l'espèce *Smilax aspera* qui est utilisée dans notre région dans la médecine traditionnelle.
- Préciser la nature des composés en utilisant des méthodes de HPLC et GC-MS.
- Etudier la cytotoxicité des différents extraits.

Références bibliographiques

- **Anwar F., Rehana N., Bhangar M. I., Ashraf S., Talpur F.N. et Aladedunye A. F.(2008).**, Physico-Chemical Characteristics of Citrus Seeds and Seed Oils from Pakistan., article, 85:321–330 .
- **Baati N.(2018).**, Le métabolisme lipidique dans les altérations mitochondriales induites par l'absence de myostatine : impact de l'entraînement en endurance. Education, thèse de doctorat, Université Montpellier, Français., NNT : 2018MONT4002.
- **Balata M.F., Yarılgac-b. T. , M.A. As-kınc, M. Kuc-ukd, F. Balata, K. O'zrenka .(2006).**, Determination of fatty acid compositions, oil contents and some quality traits of hazelnut genetic resources grown in eastern Anatolia of Turkey., Journal of Food Composition and Analysis., article 681–686.
- **Barbosa M.A., Costa Fonseca J., Ferraz V., Fonseca Castro A. et Alves Rodrigues dos Santos Lima L. (2019).**, Phytotoxic and antioxidant effects of dichloromethane fraction of *Smilax Brasiliensis Spreng.*, Natural product Research., ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427, <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.16249551>.
- **Békro Y.A., Békro J. A. M., Boui B.B., Tra Bi F. H. et Éhilé E.E., (2007).**, Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae), article, 4 N°2 : 217 - 225 (2007).
- **Belkhir N. (2010).**, dérivés phénoliques à activités antiathérogènes., thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de TOULOUSE III - Paul Sabatier.
- **Ben Rahal N. (2018).**, Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de *Silybum marianum*. Étude de leurs activités antioxydante et antitumorale, thèse en cotutelle pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Lorraine.
- **Benlacheheb R. (2008).**, score lipidique de certains plants traditionnels consommés à Constantine., Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister sciences alimentaires , université Mentouri de Constantine .
- **Bensakheria (2018).**, Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif, Chapitre XI, <https://www.researchgate.net/publication/326107870>

- **Bo Shao, Hongzhu Guo, Yajun Cui, Min Ye, Jian Han, et Dean Guo. (2007).**, Steroidal saponins from *Smilax china* and their anti-inflammatory activities., *Phytochemistry* 68 (2007) 623–630.
- **BOUCHOUKA Elmouloud . (2016).**, Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes saharienne. Thèse de Doctorat, université d’Annaba.
- **Boudebouz S. (2014).**, Effet comparatif de l’extrait butanolique de la plante *Stachys mialhesi* avec les vitamines B9 et B12 sur quelques paramètres biochimiques et la structure de l’aorte chez des souris induites par une hyperhomocystéinémie , Mémoire présenté en vue de l’obtention du Diplôme de Magister en Biologie Appliquée , Université Constantine 1.
- **Bussmann W. et Paniagua-Zambrana N.Y.**, Ethnobotany of Mountain Regions., page 1703 à 1707. <https://www.springer.com/series/15885>.
- **Challinor .V.L, Parsons P.G., Chap S., White E. F, Blanchfield J.T., Lehmann R.P., De Voss J.J. (2012).**, Steroidal saponins from the roots of *Smilax sp.*: Structure and bioactivity , Elsevier , *Steroids* 77 (2012) 504–511.
- **Charef M. (2011).**, Contribution à l’étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus.*, Thèse de doctorat, Université kasdi merbah Ouargla.
- **Cherbi R., Hamia C., Gourine N., Bombarda I., Saïdi M. et Yousfi M. (2018).**, Lipid Classes, Fatty Acids, Tocopherols Compositions and Antioxidant Activity of Lawsonia alba Seed Oils Growing in Algeria., <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01777684>.
- **Cox S.D., Jayasinghe K.C. et Markham. J.L. (2005).**, Antioxidant activity in Australian native sarsaparilla (*Smilax glycyphylla*)., *Journal of Ethnopharmacology* 101 (2005) 162–168.
- **Drögue W. (2002).**, Free Radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82: 47-95..
- **El Kalamouni C. (2010).**, Caractérisations chimiques et biologiques d’extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées., thèse de doctorat d’Université de Toulouse, France.
- **Fahy E., Subramaniam S., Brown H .A., Glass C.K., Merrill A.H., Jr., Murphy R.C., Raetz C.R.H., Russell D.W., Seyama Y., Shaw W. Shimizu**

T., Spener F., Meer G., VanNieuwenhze M., White S., Witztum J. et Dennis E. (2005)., comprehensive classification system for lipids. , Journal of Lipid Research Volume 46.

- **Favier A. (2003).**, Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Act.Chem.*, 108-115.
- **Gallelli C A., Calcagnini S., Romano A., Koczwara J B., Marialuisa de C ., Dante D., Villani R., Giudetti A M., Cassano T et Gaetani S.(2018).**, Modulation of the Oxidative Stress and Lipid Peroxidation by Endocannabinoids and Their .Lipid Analogues., *Antioxidants* 2018, Review, 7, 93; doi:10.3390/antiox7070093.
- **Ghédira K. et Goetz P. (2016).**, Salsepareille *Smilax sarsaparilla* L. (syn. *Smilax aspera* L.) [Smilacaceae], *Phytothérapie.*, Lavoisier SAS 2016, DOI 10.1007/s10298-016-1075-y.
- **Grigonisa D., Venskutonisa P.R., Sivikb B., Sandahlb M., Eskilssonc C.S., (2005),** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochlo'e odorata*), *J. of Supercritical Fluids* 33 (2005) 223–233.
- **Guillouty A. (2016).**, Plantes médicinales et antioxydants, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université Toulouse III PAUL SABATIER.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. et fonc. (2007).**, Le stress oxydant, *Rev Med Liege* 2007; 62 : 10 : 628-638.
- **Holthuis J. C.M. et Menon A.K. (2014).**, Lipid landscapes and pipelines in membrane homeostasis, *Reviuw*, doi:10.1038/nature13474.,
- **Ivanova A., Mikhova B., Kostova I. et Evstatieva L. (2010).**, Bioactive chemical constituents from *Smilax excelsa.*, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 46, No. 2, 2010, UDC 547.572.
- **Johnson F. et Giulivi C. (2005).**, Superoxide dismutases and their impact upon human health., *Reviuw*, 340–352.,
- **Kessous C.**, *Biochimie structurale*, EDITION 2798. Page :126.
- **Kholkha F., Lazouni ., Bendahou M., Boulenz I., Chabane S D., et Chaouch T. (2013).**, Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus ssp. Coloratus.*, *Laboratoire des Produits Naturels*

(LAPRONA), Université de Tlemcen, Algérie, Afrique SCIENCE 09(1) (2013) 151 – 158. ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>

- **Khoudali S., Benmessaoud I.D., Essaqui.A., Zertoubi.M., Azz M.i. , Benaissa M. (2014).**, Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. article, J. Mater. Environ. Sci. 5 (3) (2014) 887-898 ISSN : 2028-2508.
- **Khoulkhal F. (2014).**, Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp coloratus et ssp euciliatus , Thèse de Doctorat en Biologie., Université Tlemcen Algérie.
- **Klibet F. (2016).**, Impact du sélénium sur la cytotoxicité induite par l'arsenic chez le rat de la souche Wistar : Exploration des effets protecteurs de *Pistacia lentiscus*. Thèse En vue de l'obtention du diplôme de doctorat en Sciences en Biochimie, université Badji Mokhtar – ANNABA-Algérie.
- **Kudritskaya S., Fishman G.M., Zagorodskaya L. M., et Chikovani D. M. (1987).**, carotenoids of Sarsaparilla , UDC 547.912:635.3.
- **Laitonjam A., Kongbrailatpam A. (2009).**, Studies on the chemical constituents and antioxidant activities of extracts from the roots of *Smilax lanceaefolia* Roxb.a, Departement of Chemistry, Manipur University, Canchipur–795 003, Imphal, Manipur, India Available online: 15 Mar 2010, Natural Product Recherche Vol. 24, No. 12, 20 July 2010, 1168–1176.
- **Layachi N. (2013).**, thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat., Université Badji Mokhetar– Annaba-Algérie.
- **León-Camacho M., Viera-Alcaidea I. et Vicariob I.M. (2004).**, Acorn (*Quercus* spp.) fruit lipids: Saponifiable and unsaponifiable fractions: A detailed study, article [Journal of the American Oil Chemists' Society](#) 81(5):447-453 DOI: [10.1007/s11746-004-0921-8](https://doi.org/10.1007/s11746-004-0921-8) .
- **Maamri S. (2008).**, Étude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien .
- **Mamadou B. (2012).**, Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali.

- **Mandal S.C., Jana G.K., Das S., Sahu R., Venkidesh R., Dewanjee S.(2008).**, hepatoprotective and antioxidant activity of *Smilax chinensis* L. root., *Pharmacologyonline* 2: 529-535 (2008).
- **Martins A., Aline B. Bombo, Anielca N. Soares, Beatriz Appezzato-da-Glória. (2013).**, Aerial stem and leaf morphoanatomy of some species of *Smilax*., *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognos* 23(4): 576-584.
- **Meddour A., Yahia1 M., Benkiki N., Ayachi A. (2011).**, étude de l'activité antioxydante et anti bactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis spinosa* L. article. *Lebanese Science Journal*, Vol. 14, No. 1, 2013.
- **Muralii A., Ashok A., Madhavani V. (2010).**, in vitro antioxidant activity and HPTLC studies on the roots and rhizomes of *Smilax zeylanica* L. (smilacaceae). *Research Article International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* Vol 3, Issue 1, 2011 192195.
- **N'GUESSAN N., Beugré K., Guédé , Zirihi N., Dossahoua T. et Laurent A.(2009).**, Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)., *Article, Sciences & Nature* Vol. 6 N°1 : 1 - 15 (2009).
- **Nidhi Tyagi ., Nishant C., Nitin C. et Sunaina S. (2019).**, antioxidant and antidiabetic activity on roots of *Smilax zeylanica*., *Research Article., International research journal of pharmacy.*, ISSN 2230 – 8407., **DOI: 10.7897/2230-8407.1006207.**
- **Noui A. (2013).**, Identification de la fraction insaponifiable (stérols, tocophérols, polyphénols,...) de l'huile d'argan (*Argania spinosa* (L.)Skeels) *Mémoire de Magister.*, Université Hassiba Ben Bouali Chlef.
- **Olmedilla B., Granado F., Gil-Martinez E., Blanco I. et Rojas-Hidalgo E.(1997).**, Reference values for retinol, tocopherol, and main carotenoids in serum of control and insulindependent diabetic Spanish subjects., *Clinical Chemistry* 43:6 1066–1071.
- **Ousman M. (2005).**, Etude phytochimique et de l'activité antipaludique in vivo et in vitro de *Momordica balsamina*. (Cucurbitaceae), Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali.

- **Ozsoy N., Can A., Yanardag R., Akev N. (2008).**, Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts Food Chemistry 110 (2008) 571–583.
- **Palace V.P., Khaper N., QIN Q. et Singal P.K.(1999).**, antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease, Review Article, Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 5/6, pp. 746–761, 1999 .
- **Pincemail J. , Heusele C., Bonté F., Limet R. et Defraigne J.O. (2001).**, Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones - Nutrition, Volume V, n° 4, juillet-août.
- **Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B. (2009).**, Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel* 2009, 4, 25-39.
- **Qi Z.C., Shen C., Han Y.W., Shen W., Yang M., Liu J., Liang Z.S., Li P. et Fu C.X. (2017).**, Development of microsatellite loci in Mediterranean sarsaparilla (*Smilax aspera*; *Smilacaceae*) using transcriptome data., *Applications in Plant Sciences* 2017 5(4): 1700005.
- **Raúl D.P. et Dámaso H.M. (2012).**, Identification and Quantitative Analysis of Carotenoids and Their Esters from Sarsaparilla (*Smilax aspera* L.) Berries, *Journal agriculture.(J.Agric) FoodChem.* 2012, 60, 8225–8232 [dx.doi.org/10.1021/jf302719g](https://doi.org/10.1021/jf302719g) |.
- **Razafidratsima H. (2008).**, Etudes chimique et toxicologique des extraits de feuilles de *Smilax kraussiana* (LILIACEAE) une plante médicinale, mémoire pour l'obtention du diplôme d'études approfondies(D.E.A) de biochimie .,Université d'Antananarivo.
- **Rioux C. (2009).**, Stress oxydatif prévention des maladies chroniques, La supplémentation s'impose-t-elle?., Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en kinésiologie pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.).
- **Selmi H., Dhifallah A., Hammami O., Jedidi S et Rouissi H. (2019).**, Propriétés chimiques, activité antioxydante et fermentation ruminale de *Calycotum villosa*, *Smilax aspera* et *Phillyrea latifolia* en vue de leurs utilisation en alimentation animale. *Revue Agriculture.* 10(1) : 67 – 74.
- **Sofiah S. et Sulistyarningsih L.D. (2018).**, The diversity of *Smilax* (*Smilacaceae*) in Besiq-Bermai and Bontang Forests, East Kalimantan,

Indonesia., BIODIVERSITAS., Volume 20, Number 1, January 2019., Pages: 279-287., ., DOI: 10.13057/biodiv/d200187.

- **Stevenson D. E. et Hurst R. D. (2007).**, Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more? Review. 2900 – 2916.,
- **Talbi H., Boumaza.A, El-mostafa K., Talbi J. et Hilali A., (2015)**, Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). **1.** Université Hassan 1^{er}. **2.** Université Mentouri-Constantine. Mater. Environ. Sci. 6 (4) (2015) 1111-1117.
- **Therond P.(2006).**, Stress oxydant., Dommages créés aux biomolécules (lipides, protéines, ADN) par le stress oxydant. Article, Ann Pharm Fr 2006, 64 : 383-389 .
- **Tvrzicka E., Kremmyda L., Stankova B., Zak A.(2011).**, fatty acids as biocompounds : their role in human metabolism ,health and disease – a review. Part1: classification, dietary sources and biological functions., 10.5507/bp.2011.038.
- **Venugopalan R., et Perumal P.(2013).**, In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of methanol extract of *Smilax zeylanica* leaves in wistar rats, Orient Pharm Exp Med DOI 10.1007/s13596-013-0137-z.
- **Vijayabaskar G. et Elango V. (2018).**, Determination of phytochemicals in *Withania somnifera* and *Smilax china* using GC-MS technique., Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2018; 7(6): 554-557.
- **Yabrir B., Labiad M., Mostefaoui A., Hakem A., Titouche Y., Gaucheron F et Mati A.A. (2015).**, Profils en acides gras libres, cholestérol et indices lipidiques du lait cru ovin issu de deux races algériennes (Ouled-Djellal et Rumbi) collecté en milieu steppique, Article, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2016 20(1), 17-24.
- **Zbadi R., Mohti H. et Moussaoui F.(2018).**, Stress oxydatifs évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes Médicinales, Article in Medecine Therapeutique ., March 2018., DOI: 10.1684/met.2018.0682.
- **Zhou K. et Yu L. (2004).**, Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. , article, Lebensm.-Wiss. u.-Technol. ,37 (2004) 717–721.

- **Zubair M., Rizwan K., Umer R., Rabia S., Anum A.S., Rasool N. et Muhammad R. (2013).**, GC/MS profiling, in vitro antioxidant, antimicrobial and haemolytic activities of Smilax macrophylla leaves. Arabian Journal of Chemistry (2013)., <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.024>.