

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie,

Laboratoires antibiotiques, antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

## Mémoire en vue d'obtention de diplôme

### Master en Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

- Me<sup>lle</sup> BELGHAOUTI Ikram
- Me<sup>lle</sup> RAHMANI Fatima Zohra

Thème

## Etude du pouvoir antioxydant de l'extrait hexanique de « *Zygophyllum geslini* »

Soutenu le : 27 / 06 / 2020

Devant le jury composé de :

Présidente :	Me <sup>lle</sup> BENARIBA N.	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice :	M <sup>me</sup> BELKACEM N.	M.C.B	Université de Tlemcen
Encadreur :	M <sup>me</sup> MEDJDOUB H.	M.C.B	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2019/2020

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents,*

*À mon père **Benamar** et ma mère **Salîha***

*À mes frères **Mohammed** et **Aboubakr** et à ma sœur **Marwa***

*À toute ma famille, mes amis et mes collègues, qui trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien, merci pour votre sourire dans les moments difficiles tout au long de mes études.*

*Je dédie ce manuscrit à madame **Medjdoub H**, pour son soutien, son amour et sa sagesse pour sa présence tous les instants, sa sympathie et son encouragement qu'elle m'a apporté.*

*Je dédie ce mémoire à moi-même, pour tous mes efforts et à ma collègue **Rahmani Fatima Zohra** pour sa sympathie chaleureuse, et son appui inestimable.*

*Je dédie ce travail à tous ce qui aiment la science.*

*Je vous aime de tous mon cœur.*

***Ikram,***

# *Dédicaces*

*Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), le créateur du  
tout, pour me*

*Donner la vie, le bénédicité et la force pour accomplir ce travail.*

*A mon espoir dans la vie et mon honneur mes chers parents :*

*Mon père Fares et ma mère Safia*

*Et ma grand-mère Safya*

*Pour leurs sacrifices, leur tendresse, leur patience et leur présence  
dans ma vie.*

*A mes chères sœurs ; Fatima, Leïla, Maroua, Meriem*

*A mon frère ; Ahmed*

*A mon petit neveu ; Youcef*

*A toutes mes chères amies.*

*Fatima Zohra,*

## *Remerciement*

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tous puissant, de nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice Mme **Medjdoub H.** maître de conférences « B » à l'université Abou Bakr belkaid de Tlemcen ; recevez ici, madame, nos sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous avez accordés tous le long de ce travail. Merci également pour votre encadrement et votre disponibilité. Nous vous adressons notre profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

Nous adressons nos sincères remerciements à Melle **Benariba N.** maître de conférences « A » à l'université Abou Bakr belkaid de Tlemcen, pour avoir aimablement accepté de participer à ce jury, et d'avoir accepté de le présider. Nous vous remercions également pour tous les efforts fournis afin d'améliorer notre formation en Biochimie appliquée.

Nous adressons également nos vifs remerciements à Mme **Belkacem N.** maître de conférences « B » à l'université Abou Bakr belkaid de Tlemcen pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Notre profonde reconnaissance va à Melle **Benahmed I.**, doctorante en Biologie à l'université de Sidi Belabess, nous n'oublions pas votre soutien moral qui nous a souvent aidés à remonter la pente dans les moments difficiles.

On remercie également, Mr **Ferouani M.**, Mr **Habi S.**, Melle **Zazoua** Leila et Mme **Bouali** Samira, ingénieurs aux laboratoires de la faculté SNV-STU, pôle Biochimie, pour leur soutien moral, pour leur aide technique et scientifique. Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude et profond respect.

Nous remercions chaleureusement tous les membres des laboratoires de biochimie de département de biologie de Tlemcen, pour leur aide précieuse vous étiez toujours à nos côtés et vous avez toujours apporté le soutien.

Nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

*Mercie !*

## المخلص

الهدف من عملنا هو تقييم دراسة كيميائية للجزء الهوائي لنبته *Zygothallum geslini* مع تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات: الهكساني، ثنائي كلورو ميثان و البيتانولي باتباع ثلاث تقنيات (FRAP,  $\beta$ -carotene, ABTS).

خضعت جميع المستخلصات المستخرجة لبعض الاختبارات الكيميائية التي تكشف عن ثراء مستخلص البيتانول بالتانين، السكريات و الأحماض الامينية.

علاوة على ذلك، اظهر تقييم نشاط إرجاع الحديد بطريقة FRAP أن نشاط الإرجاع لجميع المستخلصات التي تمت دراستها اقل من تلك التي يتم إجراؤها بواسطة حمض الاسكوربيك. في الواقع إن المستخلص الهكساني له نشاط أعلى يتبعه مستخلص ثنائي كلورو ميثان و مستخلص البيتانول بنسبة امتصاص ضوئي 0,33 ; 0,125 ; 1,124 على التوالي.

نشاط مثبط التبييض  $\beta$  كاروتين الذي يقدمه المستخلص الهكساني ( $IC_{50}=1,68\text{mg/ml}$ ) اكبر من مستخلص ثنائي كلورو ميثان ( $IC_{50}=2,69\text{ mg/ml}$ ). من ناحية أخرى في تطبيق تقنية ABTS يلاحظ أن النشاط المثبط المسجل من طرف مستخلص ثنائي كلورو ميثان ( $IC_{50}=1,09\text{ mg/ml}$ ) هو الأفضل مقارنة بالمستخلص الهكساني ( $IC_{50}=2,70\text{mg/ml}$ ).

تشير هذه النتائج إلى وجود تأثير مضاد للأكسدة حققه الجزء الجوي من *Zygothallum geslini*.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للأكسدة، *Zygothallum geslini*، دراسة الكيمياء النباتية، الأحماض الامينية، السكريات،  $\beta$  كاروتين ABTS، FRAP.

## Résumé

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits : hexanique, dichlorométhanique et butanolique, de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* par les tests de FRAP, blanchiment du  $\beta$ -carotène et réduction de l'ABTS.

Tous les extraits récupérés ont subi quelques tests phytochimiques, qui révèlent la richesse de l'extrait butanolique en tanins, sucres et acides aminés.

Par ailleurs, l'évaluation du pouvoir réducteur de fer par la méthode FRAP a montré que l'extrait hexanique présente une activité supérieure suivie par celle de l'extrait dichlorométhanique et de l'extrait butanolique avec des absorbances de 1,124 ; 0,33 et 0,125 respectivement.

L'effet inhibiteur de blanchissement du  $\beta$ -carotène exercé par l'extrait hexanique est plus important ( $IC_{50}=1,68\text{mg/ml}$ ) que celui de l'extrait dichlorométhanique ( $IC_{50}=2,69\text{mg/ml}$ ) par contre pour la technique de l'ABTS nous constatons que l'effet réducteur enregistré par l'extrait dichlorométhanique est supérieur ( $IC_{50}=1,09\text{mg/ml}$ ) par rapport à celui de l'extrait hexanique ( $IC_{50}=2,70\text{mg/ml}$ ).

Ces résultats montrent que les extraits de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* exercent un effet antioxydant.

**Mots clés :** *Zygophyllum geslini*, Activité antioxydante, Etude phytochimique, FRAP, ABTS,  $\beta$ -carotène

## Abstract

The objective of our work is the evaluation of the phytochemical study and the antioxidant activity of the extracts: hexanic, dichloromethane and butanolic, from the aerial part of *Zygophyllum geslini* by FRAP tests, bleaching of  $\beta$ -carotene and reduction of ABTS.

The phytochemical tests reveal the richness of the butanolic extract in tannins, sugars and amino acids.

Furthermore, the evaluation of the ferric reducing power by the FRAP method has shown that the hexanic extract exhibits a higher activity followed by the dichloromethane extract and the butanolic extract with absorbances of 1.124; 0.33 and 0.125 respectively. The bleaching inhibitory effect of  $\beta$ -carotene exerted by the hexane extract is greater ( $IC_{50} = 1.68$  mg / ml) than that of the dichloromethane extract ( $IC_{50} = 2.69$  mg / ml) ; on the other hand for the technique of ABTS we note that the reducing effect recorded by the dichloromethane extract is greater ( $IC_{50} = 1.09$  mg / ml) compared to that of the hexane extract ( $IC_{50} = 2.70$  mg / ml).

These results show that the extracts of the aerial part of *Zygophyllum geslini* show an antioxidant effect.

**Keywords:** *Zygophyllum geslini*, Antioxidant activity, Phytochemical study, FRAP, ABTS,  $\beta$ -carotene

# Table de matière

Introduction.....	P01
-------------------	-----

## 1<sup>ère</sup>Partie : Synthèses bibliographiques

### Chapitre 01 : Le stress oxydatif

1. Introduction .....	P02
2. Le stress oxydant .....	P02
2.1. Les radicaux libres.....	P03
2.2. Espèces réactives de l'oxygène (ROS) .....	P03
2.3. L'origine du stress oxydatif .....	P04
2.4. Les conséquences du stress oxydatif.....	P05
2.4.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN .....	P05
2.4.2. Les dommages oxydatifs aux lipides .....	P05
2.4.3. Les dommages oxydatifs aux protéines.....	P06
2.5. Les pathologies liées au stress oxydant.....	P06
3. Les antioxydants et les systèmes de défense .....	P07
3.1. Caractéristiques des antioxydants .....	P08
3.2. Mécanismes d'action .....	P08
3.3. Classification des antioxydants .....	P09
3.3.1. En fonction de leur localisation .....	P09
3.3.2. En fonction de leur nature et leur action .....	P09
3.4. Principaux antioxydants .....	P09
3.4.1. Antioxydants Enzymatiques.....	P09
3.4.1.1. Le superoxyde dismutase (SOD) .....	P09
3.4.1.2. Le catalases.....	P09
3.4.1.3. Le glutathion peroxydase .....	P10
3.4.2. Antioxydant naturel Non Enzymatiques.....	P10
3.4.2.1. Vitamine .....	P10
3.4.2.1.1. Rétinol (Vitamine A) .....	P10
3.4.2.1.2. Acide ascorbique (Vitamine C).....	P10
3.4.2.1.3. Tocophérol (Vitamine E) .....	P10
3.4.2.2. Les composés phénoliques.....	P10
3.4.2.2.1. Les flavonoïdes.....	P11

3.4.2.2.2 Les anthocyanes .....	P11
3.4.2.3.Terpènes antioxydants .....	P11
3.4.2.4.Alcaloïdes antioxydants .....	P12
3.4.3. Les antioxydants de synthèses .....	P12
4. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante .....	P12

### **Chapitre 02 : Les métabolites secondaires**

1. Définition .....	P14
2. Classification des métabolites secondaires .....	P14
2.1.Les composés phénoliques .....	P15
2.1.1. Les acides phénoliques .....	P15
2.1.2. Les flavonoïdes .....	P15
2.1.3. Les tanins .....	P16
2.1.4. Les coumarines .....	P17
2.1.5. Les quinones .....	P17
2.1.6. Les anthocyanes .....	P18
2.2.Les terpènes .....	P18
2.3.Les alcaloïdes .....	P19

### **Chapitre 03 : *zygophyllum geslini***

1. Origine et répartition géographique des zygophyllacées .....	P21
2. Description botanique .....	P21
3. Classification systématique .....	P22
4. Composition chimique .....	P22
5. Propriétés biologiques de la famille zygophyllacées et de l'espèce « <i>zygophyllum geslini</i> » .....	P23

## **2<sup>ème</sup>Partie : Matériels & méthodes**

1. Objectif .....	P25
2. Matériel végétal, Récolte et Préparation .....	P25
3. Extraction .....	P25
3.1.Rendement d'extraction .....	P27
4. Screening phytochimique .....	P29
5. Evaluation de l'activité antioxydante .....	P30
5.1.Test de réduction de fer (FRAP) .....	P30

5.2. Test de blanchissement de $\beta$ -carotène .....	P30
5.3. Test d'ABTS .....	P31
6. Analyse statistiques .....	P32

### **3<sup>ème</sup> partie : Résultat & Interprétation**

1. Extraction .....	P33
2. Tests phytochimiques.....	P33
2.1. Activité antioxydant de la partie aérienne de <i>Zygophyllum geslini</i> .....	P34
2.2. Effet des extraits de <i>Zygophyllum geslini</i> sur la réduction de fer (FRAP) .....	P34
2.3. Blanchiment de béta carotène .....	P36
2.4. Test d'ABTS .....	P37
<b>Discussion</b> .....	P40
<b>Conclusion général</b> .....	P43
<b>Référence bibliographique</b> .....	P44

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Schématisation de la balance entre antioxydants et ERO .....	P02
<b>Figure 02</b> : Processus de formation des ERO .....	P04
<b>Figure 03</b> : les sources des radicaux libres .....	P05
<b>Figure 04</b> : Le passage de l'état stable au radical libre et la stabilisation de nouveau par l'antioxydant .....	P08
<b>Figure 05</b> : Structure de l'acide Benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B) .....	P15
<b>Figure 06</b> : Structure de la base de flavonoïde .....	P16
<b>Figure 07</b> : Structure des tanins hydrolysables (A) : tanin gallique, (B) : tanin ellagique ; (C) : tanin condensés .....	P16
<b>Figure 08</b> : Structure de base des coumarines.....	P17
<b>Figure 09</b> : Structure de base d'une anthocyanes .....	P19
<b>Figure 10</b> :Structure de l'isoprène .....	P19
<b>Figure 11</b> : Exemple d'alcaloïdes A) alcaloïde vrai, B) pseudo-alcaloïde, C) proto-alcaloïde.....	P20
<b>Figure 12</b> : Zygothymus geslini dans la région d'Adrar .....	P22
<b>Figure 13</b> : Structure du $\beta$ -(3,4-dihydroxycinnamoyl)-érythradiol.....	P23
<b>Figure 14</b> :A) Un rota vapeur, B) Extracteur de Soxhlet .....	P26
<b>Figure 15</b> :Organigramme des différentes étapes expérimentales .....	P27
<b>Figure 16</b> : Réduction de fer par les trois extraits ( Hexanique, Dichlorométhanique, Butanolique ) et l'acide ascorbique.....	P34
<b>Figure 17</b> : Résultats de la réduction de fer des extraits : hexanique, dichlorométhanique et butanolique .....	P34
<b>Figure 18</b> : Pourcentage d'inhibition de blanchiment du $\beta$ -carotène en fonction de différentes concentrations de l'extrait hexanique .....	P35

**Figure 19 :** Pourcentage d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène en fonction de différentes concentrations de l'extrait dichlorométhanique.....P35

**Figure 20 :** Pourcentage d'inhibition de blanchissement du  $\beta$ -carotène en fonction de différentes concentrations du BHT .....P36

**Figure 21 :** Pourcentage de réduction de l'ABTS en fonction des différentes concentrations de l'extrait hexanique .....P37

**Figure 22 :** Pourcentage de réduction de l'ABTS en fonction des différentes concentrations de l'extrait dichlorométhanique .....P37

**Figure 23 :** Pourcentage de réduction de l'ABTS en fonction des différentes concentrations de Trolox .....P38

## Liste des tableaux

**Tableau 01 :** Rendement des extraits récupérés de *Zygothymus geslini*.....P32

**Tableau 02 :** Tests phytochimique réalisés sur la partie aérienne de *Zygothymus geslini*.....P32

**Tableau 03 :** Les valeurs  $IC_{50}$  des extraits hexaniques, dichlorométhaniques, BHT et Trolox obtenues par les méthodes  $\beta$ -carotène et ABTS<sup>+</sup>.....P38

## Liste des abréviations

**ABTS** : 2,2- diphényle-1-picrylhrazyl

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**BHA** : Butyl Hydroxy Anisol

**BHT** : Butyl Hydroxy Toluène

**Cu** : Cuivre

**C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>** : Isoprène

**DCM** : Dichlorométhane

**DG** : Déoxy-Guanosine

**DMPP** : Balayage du Radical Cation N<sub>2</sub> N-diméthyle-phenylenediamine

**DNSA** : l'acide dinitrosalisilique

**DPPH** : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

**EOA** : Espèce Oxygénée Activée

**ERN** : Espèce Radicalaire de l'Azote

**ERO** : Espèce Réactive de l'Oxygène

**Fe<sup>2+</sup>** : Fer ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Fer ferrique

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer

**FRAP** : Capacité réductrice ferrique antioxydant

**GHS** : Glutathion

**HOCL** : Acide Hypochloreux

**H<sub>2</sub>O** : Molécule d'eau

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

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**IC<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice de 50%

**LDL** : Lipoprotéine de Densité Légère

**NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

**NO** : Radicale monoxyde d'azote

**NOS** : Monoxyde d'azote synthase

**OH** : Radicale Hydroxyle

**ONOO<sup>-</sup>** : Peroxynitrite

**ORAC** : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène

**O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion Superoxyde

**PCL** : Photo Chémi Luminescence

**PG** : Gallate Propylée

**PP** : Poly Phénol

**P<sub>53</sub>** : Cytochrome P<sub>53</sub>

**RL** : Radicaux Libre

**ROO<sup>°</sup>** : Alkylperoxydes

**ROOH** : Peroxyde Organique

**ROH** : Pyroxyle

**ROS** : Reactive oxygenous speices

**SOD** : Superoxyde Dismutase

**TEAC** : Capacité antioxydante équivalent de trolox

**TOSC** : Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux

**TRAP** : Paramètre du piégeage du radical total

**UV** : Lumière Ultra Violette

**XO** : Xanthine Oxydase

## Liste des unités

**%** : Pourcentage

**C°** : Degré Celsius

**g** : Gramme

**H** : Heure

**Kg** : kilo Gramme

**l** : Litre

**mg** : Milli Gramme

**ml** : Milli Litre

**min** : Minute

**KD** : kilo Dalton

**m** : Masse de l'extrait récupéré

**M** : Masse de la matière végétale

# **Introduction**

## **Générale**

## Introduction générale

---

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des pathologies est devenue l'une des principales voies de soin de santé. Ils ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en développement, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire (Ladoh, 2014).

L'activité biologique des plantes est due principalement à leur aptitude à synthétiser des métabolites secondaires. Ces derniers sont dotés de pouvoir analgésique, antifongique, anticancéreux, anti-inflammatoire, antioxydant et autres (Ghedira, 2005 ; Benhammou, 2012 ; Kabera *et al.*, 2014).

L'évaluation de ses activités et principalement l'activité antioxydante demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Jaccot et Campillo, 2003). Depuis quelques années le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par le concept du stress oxydatif et les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces derniers peuvent causer des dommages cellulaires qui peuvent être impliqués dans divers pathologies (Favier 2003).

L'objectif de cette étude porte sur une étude phytochimique qualitative ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* en utilisant les méthodes suivantes : la réduction du fer (FRAP), et le blanchiment de  $\beta$ -carotène ainsi que la réduction du cation radical ABTS<sup>+</sup>.

*Z. geslini*, objet de notre étude, est une plante endémique du Sahara algérien utilisée traditionnellement pour ses propriétés thérapeutiques. Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle du fait de sa capacité à traiter certaines pathologies y compris le diabète sucré (Medjdoub, 2013)

**1<sup>ère</sup> partie :**

# **Synthèse Bibliographique**

# **Chapitre 1 :**

## **Le stress oxydant**

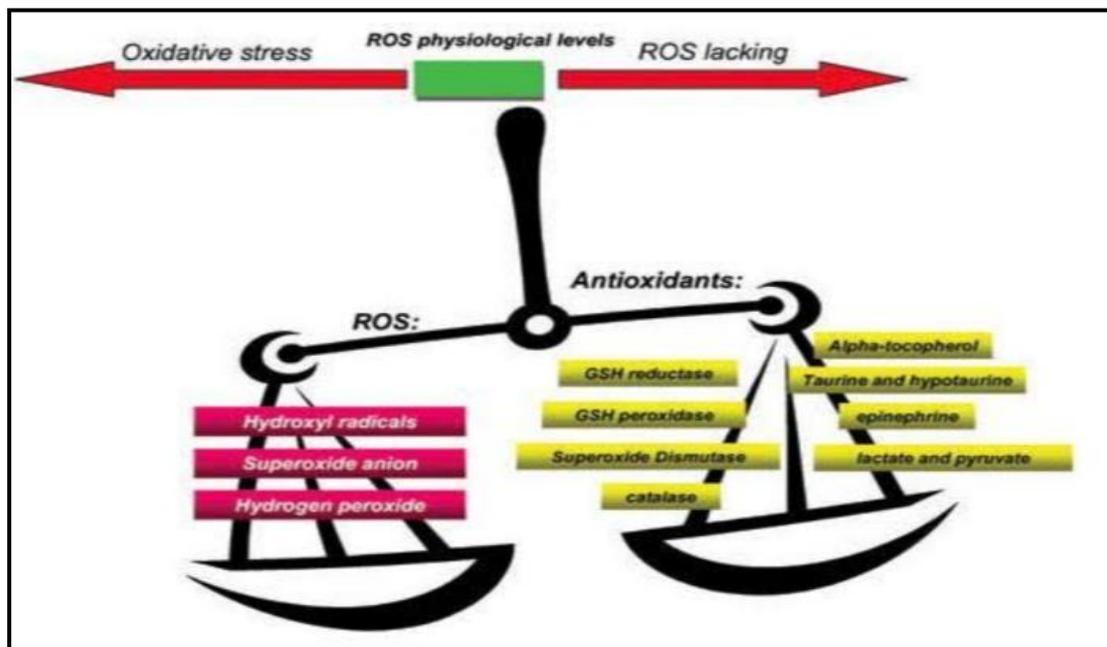
## 1. Introduction

Notre mode de vie qui est plein de mauvaises habitudes tel que le tabagisme, un exercice physique intense ou mal géré, une alimentation non contrôlée, l'inflammation et les perturbations métaboliques mais aussi la pollution de notre environnement, les radiations et les différents toxiques qui nous entourent (Haleng *et al.*, 2007) aboutissent à une expression commune appelée le stress oxydant (Walker *et al.*, 1982 ; Djiokeng *et al.*, 2014 ; Afify *et al.*, 2016).

## 2. Le stress oxydant

Il correspond à un déséquilibre de la balance oxydant-antioxydant, autrement dit un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) ou les espèces radicalaires de l'azote (ERN) connues sous le nom des oxydants et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des oxydants (Laplace *et al.*, 2005 ; Atamer *et al.*, 2008).

Selon d'autres points de vue, le stress oxydant peut être «un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (Durackova, 2008) et à des dégâts cellulaires irréversibles (figure01) (Abuja *et al.*, 2001 ; Pincemail *et al.*, 1999).



**Figure 01** : a balance entre antioxydants et les ERO (Pourrut , 2008) .

ROS : reactive oxygen species

### 2.1 Les radicaux libres (RL)

Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un ou plusieurs électrons célibataires (Kehrer, 1993 ; Delattre, 2005 ; Durackova, 2008). En toxicologie, les RL sont ceux qui existent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés tissulaires et cellulaires (Kehrer, 1993).

### 2.2 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'appellation espèces réactives de l'oxygène (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc..) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires, dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène (Halliwell et Whiteman, 2004).

L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) est la forme primaire des ERO, formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ), c'est le radical le moins réactif mais le précurseur des autres ERO. Ce radical est le substrat d'enzymes, les superoxydes dismutases (SOD) qui le transforment en eau oxygénée  $H_2O_2$ . Ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non appariés, mais il est réactif. L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinées. En présence de métaux, en particulier le fer ( $Fe^{2+}$ ), elle est transformée en radical hydroxyle  $OH^\cdot$  par la réaction de fenton (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote. Le monoxyde d'azote (NO) est un radical libre qui est formé à partir de l'un des deux atomes d'azote terminal du groupement guanidine de la L-arginine. Ce radical va interagir avec l'anion superoxyde pour donner le peroxynitrite ( $ONOO^-$ ), composé extrêmement réactif et toxique (Barouki, 2006 ; Tremellen, 2008).

Les espèces réactives oxygénées (ERO) proviennent de produits dérivés de réaction enzymatiques essentielles, principalement de processus métaboliques endogènes. Leur formation initiale se base sur la réduction d'oxygène moléculaire (Favier, 2003).

Les ERO sont produites par un grand nombre de mécanismes endogènes et exogènes (Cai et Harrison, 2008) :

- ❖ **Source endogène** : L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), principal précurseur des ERO, provient de différentes sources cellulaires en particulier la mitochondrie, et différentes

## Chapitre 01 : Le stress oxydant

enzymes comme la NADPH oxydase, la xanthine oxydas (XO), les NO-Synthases (NOS), la cyclo-oxygénase et les lipoxygénases, ainsi que les enzymes du réticulum endoplasmique (cytochrome P450) (Cai et Harrison, 2008).

- ❖ **Source exogène :** Elles sont surtout d'origines physique et chimique, elles proviennent de l'exposition aux rayons ionisants, aux métaux de transition, à l'oxygène en quantité excessive, à certains médicaments et à la radiolyse de l'eau. Elles peuvent être aussi issues des cytokines pro-inflammatoires, rayonnements, lors de la chimiothérapie et l'environnement toxique (Cai et Harrison, 2008).

Les différents processus de formation des ERO sont résumés dans la figure 02 ci-après :

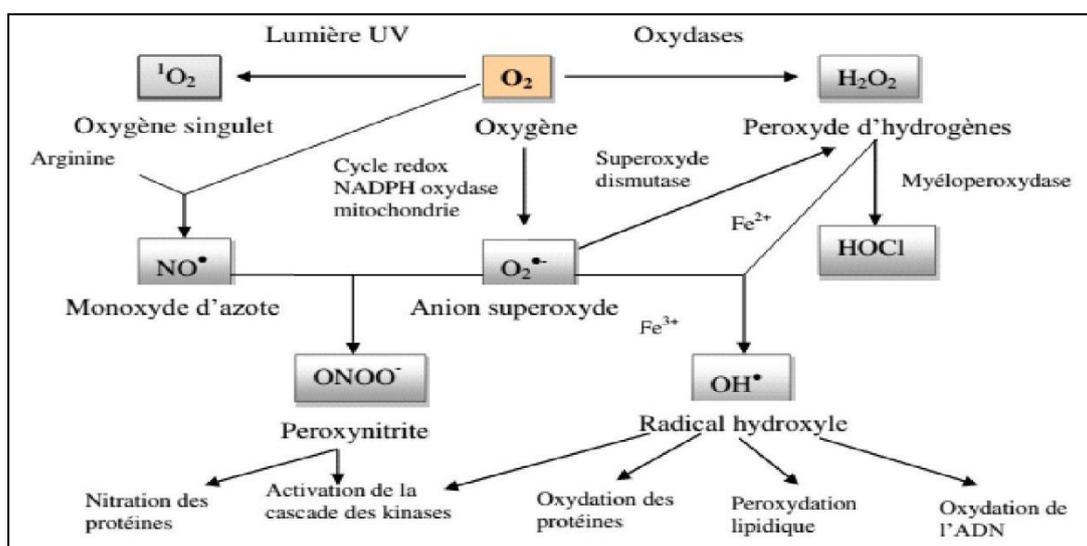
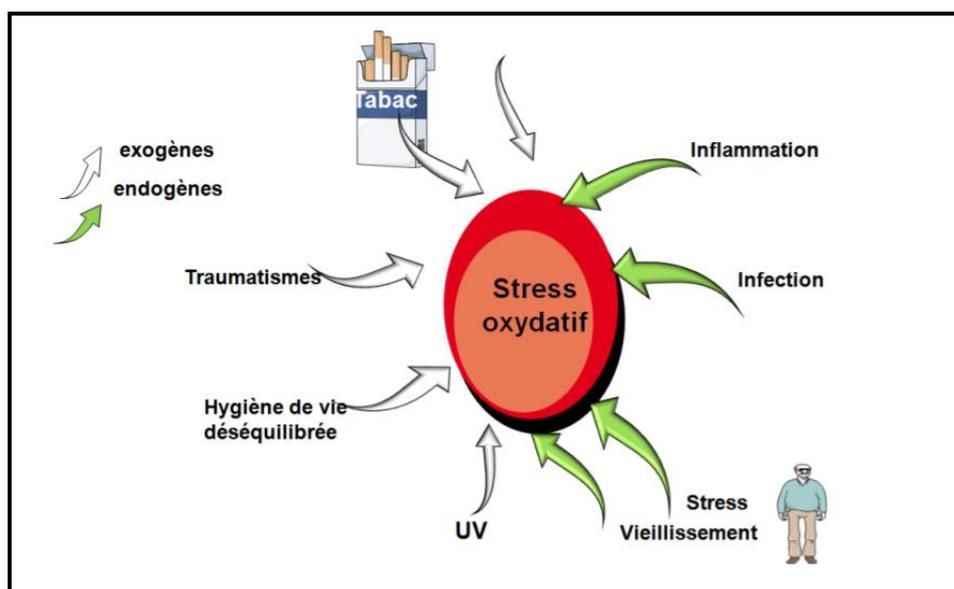


Figure 02 : Processus de formation des ERO (Linard *et al.*, 1976) .

### 2.3 L'origine du stress oxydatif

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leurs concentrations sont régulées par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydant. Cependant cette homéostasie redox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO, soit par une diminution des capacités antioxydante.

Cette rupture de l'homéostasie redox peut avoir plusieurs origines : stress d'origine exogène (agents environnementaux pro-oxydants y compris l'exposition prolongée aux soleil, lumière UV, le tabagisme, la pollution et le contact avec des agents cancérigènes), comme il peut être d'origine endogène (intoxication aux métaux lourds, irradiation, carence en antioxydant apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques) (figure 03) (Thanan *et al.*, 2014).



**Figure 03** : les sources des radicaux libres (Elkolli, 2017)

### 2.4 Les conséquences du stress oxydatif

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ERO ajoute des propriétés toxiques et diversifiées. En effet, toutes les macromolécules cellulaires sont des cibles potentielles des ERO (Barouki., 2006 ; Valko *et al.*, 2007 ) .

#### 2.4.1 Les dommages oxydatifs à l'ADN

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres. L'attaque des l'ADN va entraîner la modification des bases puriques et pyrimidiques où des cassures au niveau de la double hélice et des mutations ponctuelles, qui peuvent avoir de graves conséquences sur la synthèse des protéines et sur la transmission de l'intégrité du patrimoine génétique (Thanan *et al.*, 2014). La guanine, par exemple, peut réagir avec le OH<sup>-</sup> pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-DG), qui au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique (Halliwell et Whiteman, 2004).

#### 2.4.2 Les dommages oxydatifs aux lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde et par la suite une chaîne de peroxydation lipidique. Les hydro peroxydes peuvent être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes qui sont éliminés par voie pulmonaire. Le

radical pyroxylé après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde ou l'hydroxynonanal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires (Favier, 2003).

Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (Lipoprotéines de Densité Légère) oxydées qui captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome responsable des maladies cardiovasculaires. Ainsi, l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).

### 2.4.3 Les dommages oxydatifs aux protéines

Les protéines sont aussi des cibles pour les ERO en particulier certains acides aminés comme la cystéine, méthionine et la tyrosine (Tratner *et al.*, 2003). La modification des structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines par les ERO, est la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés (Pincemail, 2006 ; Kehrer, 1993).

### 2.5 Les pathologies liées au stress oxydant

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire et vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

Quelques exemples de maladies dues au stress oxydatif :

#### ❖ Athérosclérose

L'athérosclérose est un processus inflammatoire chronique et évolutif, liée à la peroxydation des LDL, ce qui conduit à la genèse des plaques athéromateuses. Les LDL oxydées vont attirer les cellules monocytes-macrophage vers l'intima des vaisseaux et puis les phagocytes se transforme en cellules spumeuses (surchargées des lipides) qui concourent à la

formation des stries lipidiques. Ces réactions provoquant la prolifération des cellules musculaires, conduisant ainsi à la formation des plaques athéromateuses surmontées par une couche fibro-cellulaire dense (Donnet, 2001 ; Lesgards *et al.*, 2002) .

### ❖ Oxydation de l'ADN et cancer

Le risque de développer un cancer est associé à l'accumulation de dommages oxydatifs à l'ADN dus aux mécanismes oxydatifs. Il a été suggéré que les ERO interagissant avec l'ADN dans des régions appelées nues (contiennent des métaux de transition [Fe, Cu,...etc.] qui ne sont pas protégées par les histones) activant ainsi des pro-carcinogènes en carcinogènes, et inhibant les gènes suppresseurs comme la P53 (Favier, 2003).

### ❖ Maladies neurodégénératives

Les neurones dopaminergiques sont riches en mitochondrie, ils sont plus susceptibles à être endommagés par les ERO. De ce fait, le stress oxydant est impliqué dans plusieurs maladies neurodégénératives, telle la maladie de Parkinson ou l'Alzheimer (Servais, 2004). Dans cette dernière, les radicaux libres sont responsables de la mort des neurones qui pourrait être liée à un phénomène d'apoptose, alors que dans la maladie de Parkinson il a eu lieu de la destruction de la matière noire sécrétrice de la dopamine (un neuromédiateur) (Lesgards *et al.*, 2002) .

## 3. Les antioxydants et les systèmes de défense

Un antioxydant est une molécule qui a la capacité de prévenir ou ralentir l'oxydation des macromolécules.

Le rôle des antioxydants est de réduire ou mettre fin à ces réactions en chaîne en éliminant les radicaux libres ou en inhibant d'autres réactions d'oxydation en s'oxydant eux-mêmes (Duarte, 2005). En d'autres termes, les antioxydants donnent leur électron pour stabiliser les radicaux libres et en faire un composé stable de manière à minimiser l'effet nocif des radicaux libres (Manisha *et al.*, 2017) .

### 3.1 Caractéristiques des antioxydants

Un composé est considéré comme antioxydant *in vivo*, lorsqu'il requière les propriétés suivantes (Ursini, 1999 ; Durackova, 2008) :

- ❖ Il doit réagir avec les métabolites réactifs de l'oxygène qui sont biologiquement toxiques.

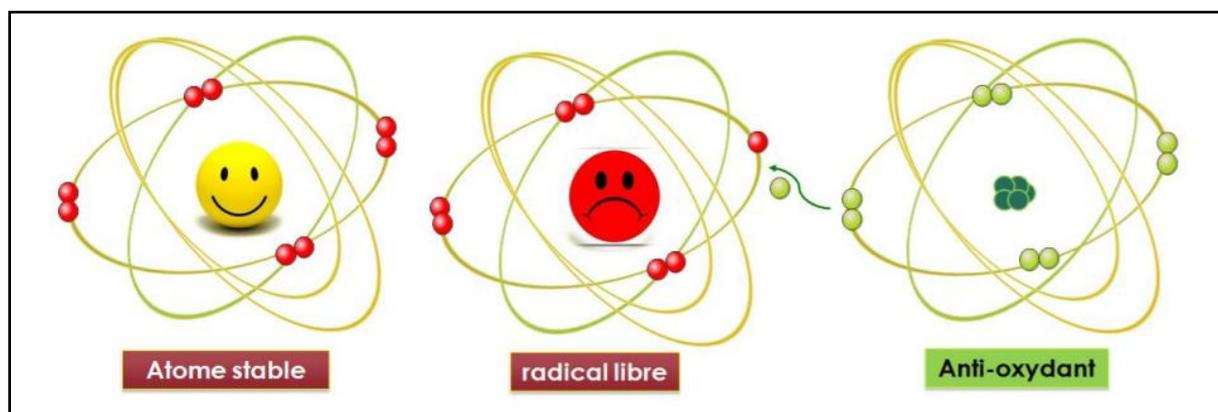
## Chapitre 01 : Le stress oxydant

- ❖ Le produit de la réaction de l'antioxydant avec l'oxydant ne doit pas être plus toxique pour l'organisme que le métabolite éliminé.
- ❖ L'antioxydant potentiel doit être présent dans l'organisme en concentration suffisante.
- ❖ La demi-vie de l'antioxydant doit être suffisamment longue pour réagir avec l'oxydant.

### 3.2 Mécanismes d'action

Divers mécanismes peuvent être impliqués dont (figure 04) :

- ❖ Blocage de la production de radicaux libres
- ❖ La conversion des radicaux libres toxiques en substances moins toxiques.
- ❖ Bloquer la production des métabolites secondaires toxiques et les médiateurs de l'inflammation.
- ❖ Blocage des propagations en chaîne des oxydants secondaires
- ❖ Réparation des molécules oxydées
- ❖ Initiation et renforcement de système de défense antioxydante endogène (Helliwell B., 2007).



**Figure 04** : le passage de l'état stable au radical libre et la stabilisation de nouveau par l'antioxydant (Elkolli , 2017).

### 3.3 Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés en :

### 3.3.1 En fonction de leur localisation

- ❖ Antioxydants plasmatiques : acide urique, acide ascorbique, bilirubine, transferrine, céruléoplasmine.
- ❖ Antioxydants de la membrane cellulaire :  $\alpha$ -tocophérol.
- ❖ Antioxydants intracellulaire : SOD (superoxyde dismutases), catalase, glutathion peroxydase, glutathion réductase (Manisha *et al.*, 2017).

### 3.3.2 En fonction de leur nature et leur action

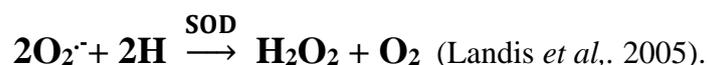
- ❖ Antioxydants enzymatiques : SOD, catalase, glutathion peroxydase et glutathion réductase.
- ❖ Antioxydants non enzymatiques et antioxydants nutritifs :  $\beta$ -carotène,  $\alpha$ -tocophérol, acide ascorbique.
- ❖ Antioxydants métaboliques : GSH (glutathion), bilirubine, acide urique, transferrine, céruléoplasmine, albumine, haptoglobine (Defraigne et Pincemail, 2007 ; Assmann *et al.*, 2014)

## 3.4. Principaux antioxydants

### 3.4.1 Antioxydants Enzymatiques

#### 3.4.1.1 La superoxyde dismutases (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD), est l'enzyme qui constitue la première ligne de défense contre les radicaux libres de l'oxygène. Elle catalyse la transformation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène, composés stables et moins toxiques (Pham-Huy *et al.*, 2008).



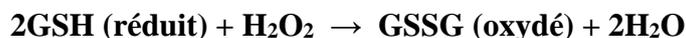
#### 3.4.1.2 Les catalases

La catalase est l'une des principales enzymes du système antioxydant. C'est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Matés, 2000). Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. La catalase humaine est formée de quatre sous unités, chaque sous unité comporte un groupement ferriprotoporphyrine avec un atome de fer à l'état  $\text{Fe}^{3+}$ . L'environnement de ce groupement constitue le site actif (Ko *et al.*, 2000).



### 3.4.1.3 Le glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Jacques et André, 2004).



### 3.4.2 Antioxydant naturels non enzymatique

#### 3.4.2.1 Vitamine

##### 3.4.2.1.1 Rétinol (Vitamine A)

La vitamine A provient de l'alimentation soit sous forme de vitamine A préformée, soit sous forme de caroténoïdes provitamine A. La vitamine A préformée est ingérée sous forme d'acides gras à longue chaîne de rétinol dans des aliments tels que le beurre, les œufs, le lait, le foie et les céréales enrichies. Des caroténoïdes de provitamine A ( $\alpha$ -carotène,  $\beta$ -carotène et crypto-xanthine) se trouvent dans le végétal (Chika *et al.*, 2019).

##### 3.4.2.1.2 Acide ascorbique (Vitamine C)

Ses propriétés antioxydantes sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (per-hydroxyles et peroxydes) (Valko *et al.*, 2006 ; Van Antwerpen, 2006).

##### 3.4.2.1.3 Tocophérol (Vitamine E)

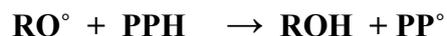
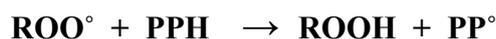
Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (Pryor, 2000 ; Valko *et al.*, 2006). Durant la réaction antioxydante, le  $\alpha$ -tocophérol est converti en radical  $\alpha$ -tocophérol beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxyde).

#### 3.4.2.2 Composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent une source importante d'extraits naturels d'antioxydants. Les polyphénols (PP) interviennent lors de l'oxydation des lipides en donnant un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon les réactions ;

## Chapitre 01 : Le stress oxydant

---



Ensuite les radicaux phenoxyyl issus de ces réactions agissent également sur les radicaux libres ;



La rutine, la quercétine, l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide gallique, réduisent l'absorbance des UVB et piègent les radicaux libres (Elkolli, 2017).

### 3.4.2.2.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques majoritairement présents dans les plantes vasculaires sous forme de pigment responsable de la coloration, ils peuvent être libres ou glycosylés. Ils sont constitués de deux noyaux benzéniques (A et B) liés par trois carbones en chaîne C6-C3-C6 (Ghedira, 2005).

### 3.4.2.2.2 Les anthocyanes

Ce sont des colorants ou pigments naturels des fruits et légumes. Ce sont de nouveaux antioxydants et des inhibiteurs puissants de la peroxydation lipidique par rapport à d'autres antioxydants classiques. L'atome d'oxygène chargé positivement dans la molécule d'anthocyanine en fait un antioxydant donneur d'hydrogène plus puissant et distinct que le pro anthocyanidines oligomériques et d'autres flavonoïdes (Chika *et al.*, 2019).

### 3.4.2.3. Terpènes antioxydants

Du moment qu'il y a une corrélation entre les antioxydants et les effets protecteurs contre les UV, l'activité antioxydante peut se traduire par l'absorbance des rayonnements UV. L'effet antioxydant est un mécanisme clé de l'activité photo protectrice d'extraits de plantes. Le tocophérol (Vitamine E, terpenoïdes) absorbe les UVA. Le  $\beta$ -carotène, le Camphor, le 1,8-cinéol, l' $\alpha$ -pinène, le bornéol, l' $\alpha$ -terpinéol et le lycopène sont des piègeurs de radicaux libres. (Elkolli, 2017).

### 3.4.2.4. Alcaloïdes antioxydants

La Boldine (principal alcaloïde que contient de la feuille du boldo), la pourpre, la vindoline, la vindolidine, la vindolicine et la vindolinine, les carbolines comme l'harmane, l'harmine, l'harmol, l'harmaline et l'harmalol peuvent agir comme piègeurs d'espèces réactives de l'oxygène en inhibant la peroxydation lipidique et le remplacement du groupe hydroxyle par un groupe méthoxyle (Elkolli, 2017).

### 3.5 Les antioxydants de synthèse

Il existe plusieurs antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels (Lee *et al.*, 2009). Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), et la gallate propylée (PG) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins coûteux que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée, car ils sont susceptibles de manifester des effets secondaires et même toxiques (Lisu *et al.*, 2003).

## 4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques (Ali *et al.*, 2008 ; Scherer et Godoy, 2009). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (Sanchez-Moreno, 2002 ; Huang *et al.*, 2005).

Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (Sanchez-Moreno et Larraui, 1998).

Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ), de l'hydroxyle ( $OH$ ), des anions superoxyde ( $O_2^-$ ), du peroxyde ( $ROO^-$ ) et de l'oxyde nitrique ( $NO$ ) (Sanchez-Moreno, 2002).

Parmi ces techniques, nous citons :

- ❖ La méthode d'**ORAC** (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (Cao *et al.*, 1993).

## Chapitre 01 : Le stress oxydant

---

- ❖ La méthode d'**ABTS** (2,2-azinobis-3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate ) ou **TEAC** (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) (Miller *et al.*, 1993).
- ❖ La méthode de **FRAP** (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) (Benzie et Strain, 1996).
- ❖ La méthode du radical **DPPH** (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ) (Brand-Williams *et al.*, 1995).
- ❖ La méthode de **DMPD** (Balayage du radical cation N, N-diméthyl-phénylènediamine) (Li *et al.*, 1994) .
- ❖ La méthode **TOSC** (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (Winston *et al.*, 1998 ) .
- ❖ La méthode **TRAP** (Paramètre du piégeage du radical total) (Wayner *et al.*, 1985).
- ❖ La méthode **Photochimiluminescence (PCL)** (Popov *et al.*, 1987) .

**Chapitre 2 :**  
**Les métabolites**  
**Secondaires**

### 1. Définition

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une partie importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques et qu'on peut les classer en deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et secondaires (Hartman, 2007).

❖ 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. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes : les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléique (Muanda , 2010).

❖ Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plantes et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Koskinen, 1993 ; Pereira, 2003).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches où ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. De plus, ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatique, antioxydant et antiradicalaires.

### 2. Classification des métabolites secondaires

Toutes les plantes ont la capacité de produire les métabolites secondaires, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

On distingue : les composés phénoliques, les terpènes et les composés azotés (alcaloïdes) (Muanda, 2010).

#### 2.1. Les composés phénoliques

Ce groupe de composés regroupe un ensemble de 8000 molécules largement distribuées dans le règne végétale particulièrement dans les fruits et les légumes (Lugasi *et al.*, 2003 ; Hennebelle *et al.*, 2004) .

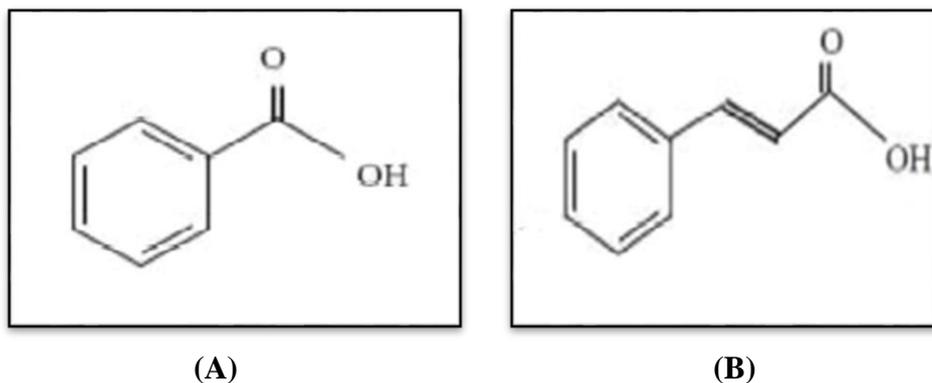
### 2.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Brunton, 2008).

Pour cette sous famille, on distingue deux classes, les dérivées de l'acide benzoïque et les dérivées de l'acide cinnamique (figure 05) (Manach *et al.*, 2004).

Les acides phénoliques possèdent des propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires. Ainsi, l'acide caféique et l'acide gallique sont dotés d'activités antioxydantes, dont l'acide caféique est connu par son effet antiviraux, antibactériens et antifongique.

Cependant, l'acide gallique une fois combiné avec des anticancéreux, il a la capacité à réduire la viabilité des cellules cancéreuses du poumon chez la souris, il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire (Benhammou, 2012).

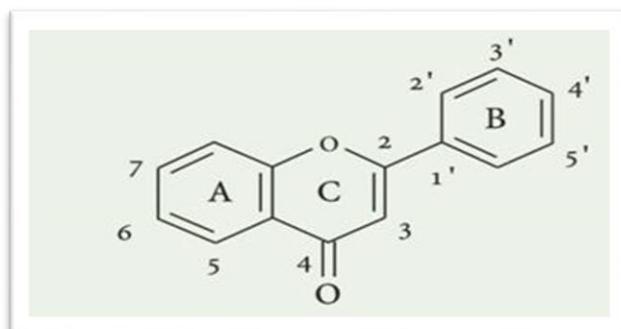


**Figure 05 :** Structure de l'acide Benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B) (Brunton, 2008)

### 2.1.2. les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides, en particuliers, les chromoplastes (Guignard, 1996). Ils sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbones (C6-C3-C6) (figure 6) (Collin et Croouz *et al.*, 2011).

Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités biologiques intéressantes telles que l'activité antimicrobienne (Ulanowska *et al.*, 2006), antifongique (Ortuno *et al.*, 2006), anti-inflammatoire (Park *et al.*, 2008) et une activité contre la peroxydation lipidique et l'atteinte hématologique (Rao et Vijayakumar, 2008).

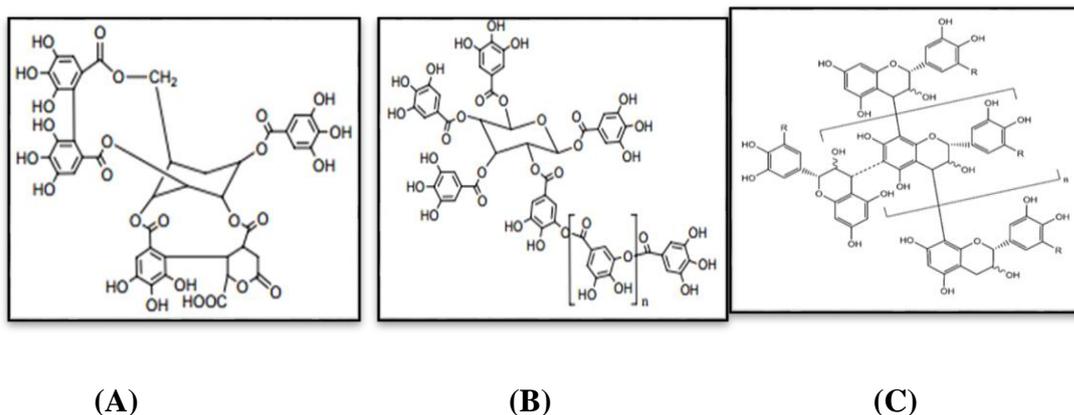


**Figure 06 :** Structure de la base des flavonoïdes (Collin et Cruz *et al.*, 2011).

### 2.1.3.les tanins

Ce sont des composés phénoliques à haut poids moléculaire entre 500 et 4000 kD. Ils sont capables de se lier aux protéines en solution et les précipiter ce qui leur confère la propriété de tanner la peau (Macheix *et al.*, 2005). On les trouve dans presque toutes les parties de la plante, l'écorce, le bois, les feuilles et les fruites. Les deux principaux types de tanins sont chimiquement assez différents ; les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Figure 07) (Hygerman, 1988).

Lors d'une peroxydation les tanins offrent leurs proton aux radicaux libres lipidiques permettant ainsi l'arrêt de la réaction d'auto-oxydation lipidique. Cette capacité antioxydante autorise leur exploitation dans le domaine médicale et pharmaceutique où ils sont utilisés pour stopper les hémorragies, drainer les excréctions excessives, les infections et aussi pour réparer les tissus endommagés par une brûlure ou un eczéma (Attou, 2011).



**Figure 07 :** Structure des tanins hydrolysables(A) : tanin gallique ; (B) : tanin ellagique (Peronny, 2005) ; (C) : structure de base des tanins condensés (Muanda, 2010)

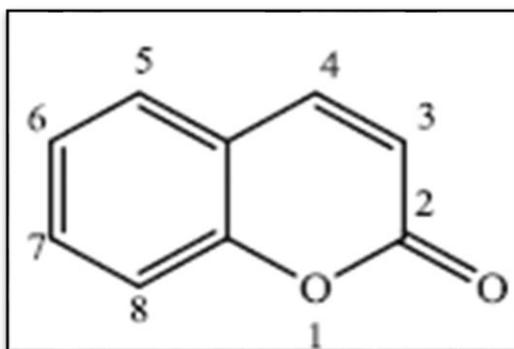
### 2.1.4. Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base benzo-2-pyrone (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) (Figure 08) (O’Kennedy et Thornes, 1997).

La structure phénolique des coumarines permet une utilisation préventive contre la peroxydation des lipides membranaires et une capacité à capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Attou, 2011).

Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont bénéfiques en cas d’affections cutanées (Vivas de Gaulejac, 2003 ; Bruneton, 2009).

Ils sont également utilisés pour leurs propriétés vasculo-protectrices, neuro-sédatives et diurétiques (Benhammou, 2012).



**Figure 08 :** Structure de base des coumarines (Iweueke et Nwodo ,2008)

### 2.1.5. Les quinones

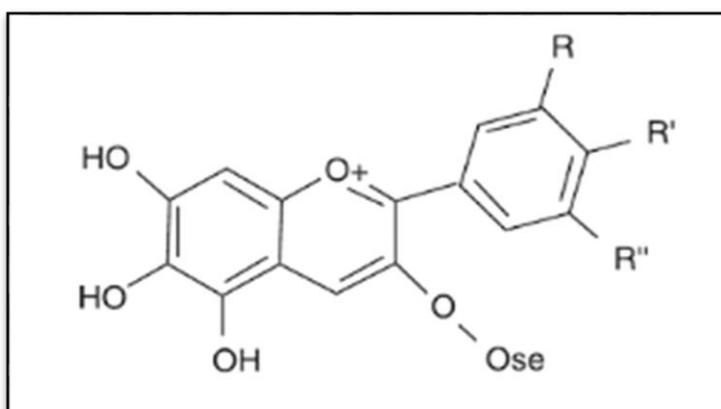
Ce sont des composés oxygénés formés suite à l’oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto-cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou éventuellement par un motif 1,2-dicéto-cyclohexa-3,5-diéniq (ortho- quinones) (Bruneton, 1993).

Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (Cowan, 1999).

### 2.1.6. Les anthocyanes

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpre, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (figure 09). Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu, on trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines (Bruneton, 1993 ; Muanda, 2010).

Ils sont utilisés comme diurétiques, antiseptiques urinaires et dans les troubles de la fragilité capillaire. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres et maintiennent une bonne circulation du sang (Bruneton, 1999 ; Hannebelle *et al.*, 2004).



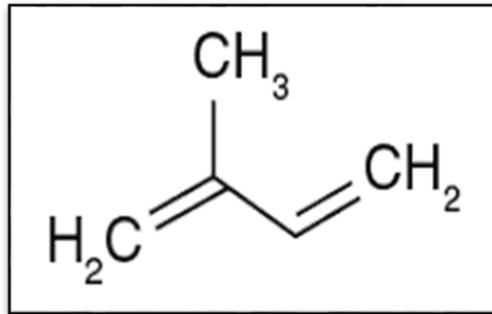
**Figure 09** : Structure de base d'un anthocyane (Samouelian *et al.*, 2009)

### 2.2. Les terpènes

La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal, mais on peut en rencontrer chez les animaux (Manchado et cheynier, 2006).

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, ce sont des dérivés de l'isoprène C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>, et ont pour formule de base (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> (figure10) (Muanda, 2010).

Les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation ou encore des infections bactériennes (Christianson, 2008).



**Figure 10** : structure de l'isoprène (Morot-Gaudry, 2006).

### 2.2.1. Les saponosides

Le nom saponine (saponosides) dérive du mot latin « sapo » qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau (Manach *et al.*, 2004).

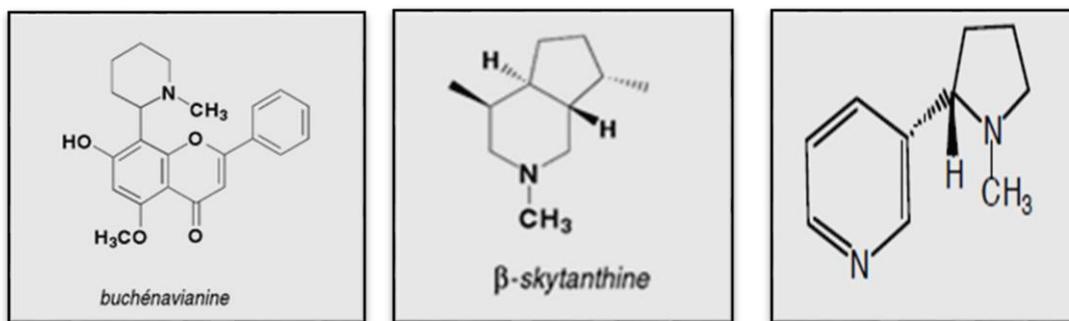
Ils sont très communs dans les plantes médicinales. Ils constituent une classe d'hétérosides très répandue et chimiquement sont des molécules glycosidiques triterpéniques et stéroïdiques (Olezek, 2002).

Les saponosides possèdent plusieurs activités biologiques intéressantes telles que l'activité antioxydante, antivirale, antifongique, anti-inflammatoire et anti tumorale (Yu *et al.*, 2002 ; Gulcin *et al.*, 2004).

### 2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques (Zenk et Juenger, 2007). Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine) (Muanda, 2010). Il existe 3 classes d'alcaloïdes qui diffèrent par la présence ou l'absence de l'azote dans l'hétérocycle et par leur biosynthèses (le précurseur peut être un acide aminé ou non) (figure11) (Bruneton, 2008).

Les alcaloïdes sont utilisés dans le domaine médical et pharmaceutique comme analgésique, sédatif, anti-convulsion, anti-inflammatoire, antifongique, bactériostatique, anticancéreux (Kabera *et al.*, 2014), antitumoraux (Taxol), vasodilatateurs (Vincamine) (Kone, 2009). Ils sont dotés aussi d'un pouvoir antioxydant (Rackova *et al.*, 2004).



(A)

(B)

(C)

**Figure11** : Exemple d'alcaloïdes (A) alcaloïde vrais, (B) pseudo-alcaloïde, (C) proto-alcaloïde (Krief, 2003 ; Bruneton, 2008).

## **Chapitre 3 :**

**« *Zygophyllum geslini* »**

### 1. Origine et répartition géographique des Zygophyllacées

La famille des Zygophyllacées regroupe des plantes dicotylédones. Elle comprend environ 27 genres et 285 espèces (Beier *et al.*, 2003). Elle est représentée dans tous les continents, mais principalement dans les régions arides, semi-arides et salines dans toutes les parties chaudes du monde, en particulier dans les déserts saisonnièrement secs, dans les régions tropicales et subtropicales (Quezel et Santa, 1963). En Algérie, les Zygophyllacées forment plus de 3% de la flore du désert (Quezel et Santa., 1963).

*Zygophyllum*, un des genres de la famille des zygophyllacées, est diversifié de 80 à 100 espèces. Il comprend des arbustes, des sous-arbrisseaux et des herbes annuelles et vivaces, principalement avec des feuilles bi-folioles, qui poussent dans des zones chaudes et saisonnières d'Afrique, d'Asie et d'Australie (Sheahan *et al.*, 2000).

### 2. Description botanique

Les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes, arbustes, ou arbres. Elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes. Les fleurs de 4 à 5mères, isolées ou inflorescences. La corolle, est également de 4 à 5 mères, et parfois nulle. Généralement, ces plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, à un ou plusieurs ovules par loge. Ses fruits, sont en général, capsulés, loculicides, ou septicides, se dissociant en coques, parfois bacciformes, ou drupacés (Quezel et Santa, 1963).

*Zygophyllum geslini* est une plante endémique connue sous le nom vernaculaire "El Aggaya"(Ozenda, 1977) ; c'est une Zygophyllacée vivace de la classe des Magnoliopsides, de l'ordre des Sapindales. *Z. geslini* est une plante en petits buissons ramifiés, à rameaux blanchâtres, à petites feuilles charnues et composées de deux folioles. Les fleurs sont petites et blanches et le fruit est prolongé en lobes, piriforme régulièrement dilaté depuis la base jusqu'au sommet mais non muni de cornu recourbé en crochet. Il est une fois et demie plus long que large (Medjdoub, 2006).

Le pédoncule est fructifère, aussi long que le fruit. La portion libre des carpelles est trois à quatre fois plus courte que la portion soudée, faisant à peine saillie (Ozenda, 1977).



**Figure 12:** *Zygophyllum geslini* de la région d'Adrar (Boudjelthia *et al.*, 2017)

### 3. Classification systématique

L'étude de cette famille est particulièrement délicate, les trois principaux genres : *Fagonia*, *Zygophyllum* et *Tribulus* sont en effet des genres critiques, à nombreuses espèces très voisines les unes des autres (Quezel et Santa., 1963).

La classification systématique de la plante *Zygophyllum geslini* est (Ozenda, 1977) :

**Règne :** *Planta*.

**Embranchement :** *Spermaphytes*.

**Sous-embranchement :** *Angiospermes*.

**Classe :** *Dicotylédones*.

**Ordre :** *Zygophyllacée*.

**Famille :** *Zygophyllaceae*.

**Sous-famille :** *Zygophylloideae*.

**Genre :** *Zygophyllum*.

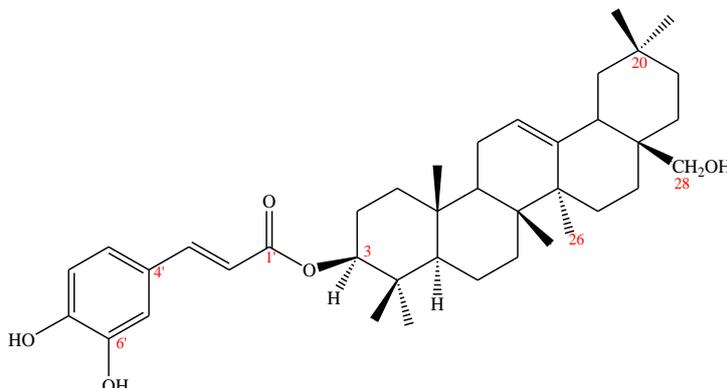
**Espèce :** *Geslini*.

**Nom vernaculaire :** El aggaya (العقاية)

### 4. Composition chimique

Les principaux constituants mis en évidence dans *Zygophyllum geslini* sont les saponosides où les deux classes sont présentes : les saponosides à génine stéroïdique et ceux à génine triterpénique ; tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, coumarines, glucosides cardiotoniques, anthracénosides, acides aminés, huiles volatiles et acides gras (Medjdoub, 2006).

Smati *et al.*, (2004) ont isolé un triterpénoïdes à partir de l'extrait dichlorométhanique des racines (Figure 13). In vitro, ce composé a un effet sur les cellules cancéreuses.



**Figure 13** : Structure du 3β-(3,4-dihydroxycinnamoyl)-érythradiol

### 5. Propriétés biologiques de la famille zygophyllacées et de l'espèce « *Zygophyllum geslini* »

Plusieurs chercheurs ont démontré différents effets thérapeutiques d'espèces de la famille des Zygophyllaceae et qui sont utilisées en médecine traditionnelle comme remèdes des différentes affections.

Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance thérapeutique:

- ***Zygophyllum geslini***: Cette espèce est utilisée contre le diabète. Elle a également des activités cytotoxiques (Smati *et al.*, 1993; Smati, 2004), une activité antioxydante remarquable et un effet inhibiteur important sur l'activité de l'  $\alpha$ -amylase ont été montré par (Boudjelthia *et al.*, 2017) .
- ***Zygophyllum album*** : Cette espèce est utilisée dans la médecine traditionnelle comme médicament actif contre le rhumatisme, la goutte, l'asthme, l'hypertension, la flatulence. Il est diurétique, anesthésique local et agent antidiabétique (Moustafa *et al.*, 2007). Cette plante est utilisée aussi contre les douleurs, pour calmer la soif, le soin des plaies, le traitement des caries et pour laver les vêtements et les cheveux (Tigrine-Kordjani, 2011). D'autres vertus telles que les activités anti inflammatoire, antipyrétique et antivirale sont très connues à ces espèces (Saad *et al.*, 1967).
- ***Zygophyllum gaetulum*** : Cette espèce est utilisé en médecine traditionnelle en tant que condiment, anti inflammatoire, antipyrétique, antidiabétique, antispasmodique et

### Chapitre03 : *Zygophyllum geslini*

---

anti-eczéma (Ait El Cadi *et al.*, 2012), est aussi utilisée pour le traitement des douleurs de l'estomac et du foie (Capasso *et al.*, 1998).

- ***Zygophyllum Eichwaldii*** : Cette espèce a des propriétés nombreuses, antiseptiques, anti eczéma, antidiabétiques, antibactériennes et antifongiques (Sasmakov *et al.*, 2001).
- ***Zygophyllum Coccineum*** : Cette espèce sert à nourrir les chameaux tandis que les graines sont utilisées comme substitut du poivre. Les extraits de cette plante ont été utilisés en médecine traditionnelle comme anthelminthique et diurétique. Les fruits ont également été utilisés dans le traitement de diverses maladies telles que le diabète, l'asthme, la goutte, les rhumatismes et l'hypertension. Une infusion des feuilles dans l'eau est utilisée comme antiseptique topique (Gibbons *et al.*, 2001).

**2<sup>ème</sup> Partie :**  
**Matériels & Méthodes**

### 1. Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hexanique, dichlorométhanique, et butanolique de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* en utilisant le soxhlet comme technique d'extraction. La partie expérimentale de cette étude est réalisée comme suit :

- Extraction par soxhlet et préparation des extraits à polarité croissante (hexanique, dichlorométhanique et butanolique) de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini*.
- Réalisation de quelques tests phytochimiques pour la mise en évidence de certaines familles de molécules.
- La mise en évidence de l'effet antioxydant des extraits de cette plante selon trois axes : le pouvoir d'oxydoréduction d'un métal de transition par le test FRAP et ABTS ; et l'évaluation de l'effet protecteur de l'oxydation d'un acide gras insaturé selon le test de blanchiment bêta carotène.

### 2. Matériel végétal, récolte et préparation

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est d'origine de Sahara algérienne : la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* (tiges, feuilles et fleurs) qui a été récoltés en mois de Mars 2019 dans la zone d'Ougrout situé à 120 km du Nord-est de la wilaya d'Adrar (Sud-ouest de l'Algérie).

Après récolte le matériel végétale (partie aérienne) est séché à l'air libre et à l'abri de la lumière et de la chaleur. Ensuite il est broyé afin de procéder à l'extraction.

### 3. Extraction

L'extraction se fait par soxhlet où 21g de la plante séchée et broyée sont mis dans une cartouche. Dans le ballon du soxhlet un volume de 200ml d'hexane (solvant à polarité faible) est préparé. Après 2 heures d'extraction l'extrait hexanique est récupéré, soumis à une évaporation par le rota vapeur en raison d'éliminer l'hexane et conserver à 4°C. En suivant le même protocole, le matériel végétal, préalablement extrait par l'hexane, subit une deuxième extraction par le dichlorométhane. L'extrait obtenu est ensuite évaporé et conservé.

Une troisième extraction est faite sur le même matériel végétal en utilisant le butanol comme solvant à polarité plus élevée et en suivant les conditions d'extraction. Cela a permis

## Matériel et Méthodes

---

d'obtenir un extrait butanolique. Les extractions sont répétées deux à trois fois et les extraits sont ensuite combinés.



(A)



(B)

**Figure 14:** A) Un rota vapeur ; B) Extracteur de soxhlet (photos prise au laboratoire)

- **Rendement d'extraction :**

Tous les extraits récupérés (hexanique, dichlorométhanique et butanolique) seront pesés puis conservés à 4°C jusqu'à utilisation. Leurs rendements sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (m / M) \times 100$$

**m** : masse de l'extrait récupéré

**M** : masse de la matière végétale

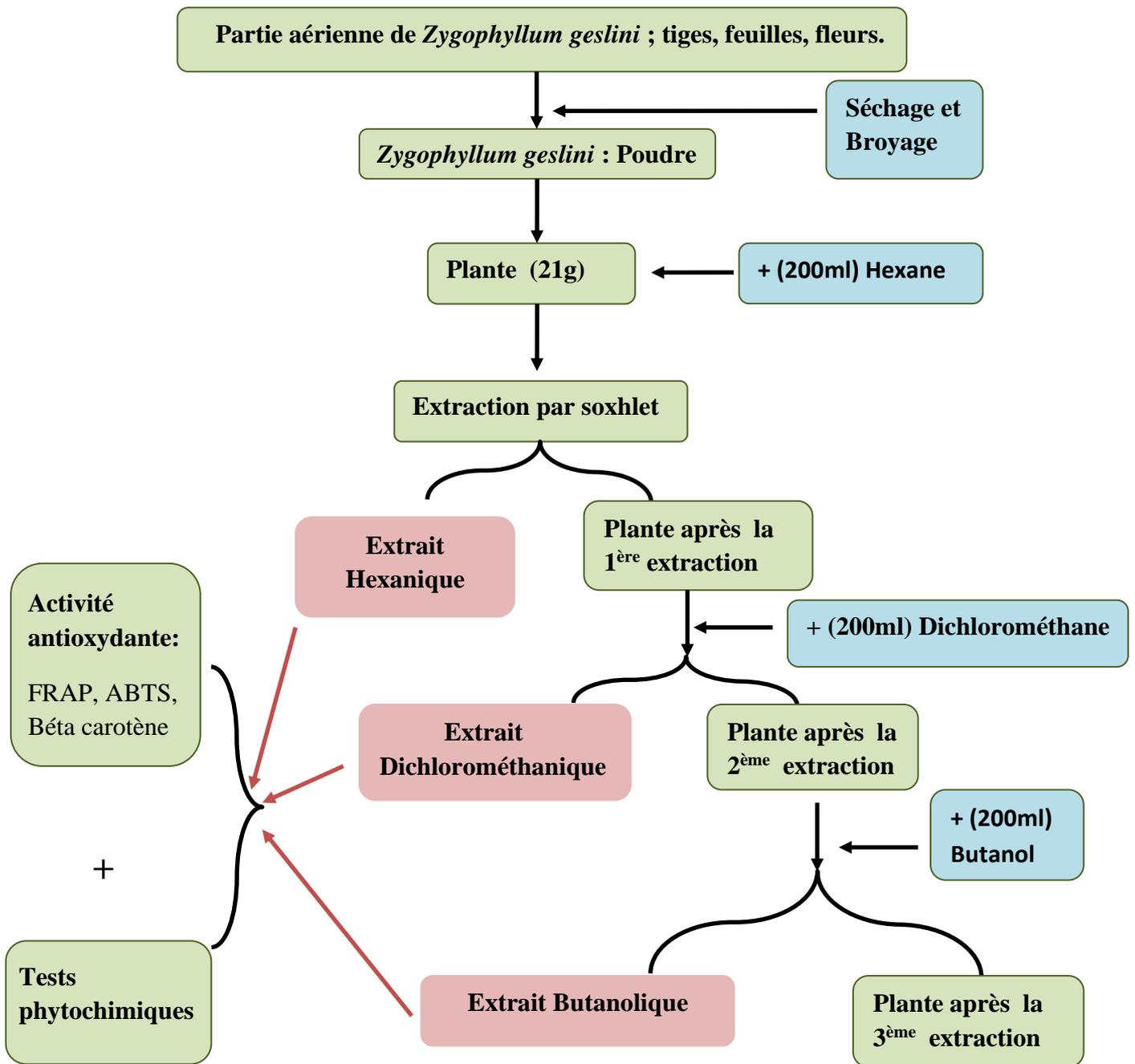


Figure 15 : Organigramme de différentes étapes expérimentales

### 4. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur tous les extraits récupérés de la plante étudiée pour mettre en évidence certains constituants. Les résultats obtenus ont été évalué comme suit : (+) : test positif ; (-) : test négatif.

#### ❖ Tanins

A 2 ml de la solution à tester, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de Fe Cl<sub>3</sub> à 2%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes) (Karumi et al., 2004)

#### ❖ Sucres

**Test 1 :** A 1ml de la solution à tester ajouter 1ml de phénol à 5% et 5ml d'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Observer la coloration, la présence des sucres est confirmée par une coloration rouge marron (Dubois, 1956)

**Test 2 :** A 1ml de la solution à tester ajouter 1ml du réactif de DNSA (acide dinitrosalicylique). Maitre le mélange dans un bain marie bouillant pendant 8 min. Observer la coloration (Bernfeld, 1955).

#### ❖ Acides aminés

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine. A 1ml de la solution à tester (solubilisée dans l'eau distillée) ajouter 1ml de solution de ninhydrine préparée dans l'acétone (ou éthanol) dont la concentration est de 1% .Chauffer dans le bain marie (bouillant) et observer le changement de couleur. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (Harbonne, 1993)

### 5. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 5.1. Test de réduction de fer (FRAP)

##### ❖ Principe

La méthode de réduction du fer est déterminée en utilisant la technique d'Oyaizu (1986). Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) (Ou *et al.*, 2001).

### ❖ Mode Opérateur

Les différentes concentrations des extraits préparés (1 ml) sont mélangées avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. Après, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min.

Après, 2,5 ml du surnageant de chaque concentration sont mélangés avec 2,5 ml de l'eau distillée et 0,5 ml de  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

### 5.2. Test de blanchiment du $\beta$ -carotène

#### ❖ Principe

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le  $\beta$ -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie par spectrométrie à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du  $\beta$ -carotène. Dans ce test la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Laguerre et al., 2007).

#### ❖ Mode opératoire

Une quantité de 2 mg de  $\beta$ -carotène est solubilisée dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans un bécher contenant préalablement 200 mg de Tween 40 et 20 mg d'acide linoléique. Après évaporation, un volume de 50 ml d'eau saturée en oxygène est ajouté. Dans des tubes, 4ml de l'émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique sont additionnée à 100  $\mu$ l de la solution de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse BHT à différentes concentrations. Les tubes sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance est mesurée à 470 nm à  $t = 120$  min. Le control négatif est constitué par 100  $\mu$ l d'éthanol au lieu de l'extrait. Tous les essais sont répétés trois fois (Koleva *et al.*, 2002). L'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à  $t = 0$  min contre le blanc contenant l'émulsion sans  $\beta$ -carotène seulement pour le contrôle négative. L'activité

antioxydante (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de  $\beta$ -carotène en employant la formule suivante :

$$\% = ((AA_{(120)} - AC_{(120)}) / (AC_{(0)} - AC_{(120)})) \times 100$$

**AA<sub>(120)</sub>**: représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min.

**AC<sub>(120)</sub>**: représente l'absorbance du contrôle à 120 min.

**AC<sub>(0)</sub>**: représente l'absorbance du contrôle à 0 min

### 5.3. Test d'ABTS

#### ❖ Principe

L'activité anti-radicalaire en utilisant l'ABTS (l'acide 2,2 azino-bis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)) est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS, l'ajout d'antioxydant va réduire ce radical et provoque la décoloration du mélange (Boligon *et al.*, 2014)

#### ❖ Mode opératoire

Le cation radical ABTS a été produit en faisant réagir 7 mM d'ABTS avec une solution de 2,45 mM de persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) à des volumes égaux. On laisse ce mélange réagir dans l'obscurité à température ambiante pendant 16 heures avant son utilisation.

Ensuite, la solution ABTS est diluée avec de l'eau distillée pour donner une absorbance de  $0,7 \pm 0,02$  à 734 nm. Un volume de 80  $\mu$ l de chaque extrait est additionné à 1 ml de la solution d'ABTS et l'absorbance a été mesurée à 734 nm après 30 min d'incubation à 30°C.

Le trolox (vitamine E) est utilisé comme contrôle positif.

Le pourcentage de réduction d'ABTS est exprimé par l'équation :

$$\% \text{ ABTS réduit} = [Abs_{\text{contrôle}} - (Abs_{\text{échantillon}} / Abs_{\text{contrôle}})] \times 100$$

**Abs<sub>contrôle</sub>** : Absorbance du contrôle

**Abs<sub>échantillon</sub>** : Absorbance en présence de l'antioxydant

### ❖ Calcul des concentrations inhibitrices $IC_{50}$

$IC_{50}$  est la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre au 50%. Plus la valeur d' $IC_{50}$  est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

$IC_{50}$  est calculée graphiquement en traçant la variation des pourcentages de réduction en fonction des concentrations de chaque extrait.

### 6. Analyse statistiques

Les données expérimentales du dosage et l'évaluation de l'activité antioxydante obtenues ont été exprimés par une moyenne et plus ou moins l'écart type.

Le coefficient de corrélation des propriétés antioxydante a été déterminé en utilisant le programme de l'Excel 2007.

**3<sup>ème</sup> Partie :**  
**Résultats & Interprétations**

## Résultats & interprétations

### 1. Extraction

La préparation des trois extraits de la partie aérienne de *Zygodphyllum geslini*, nous a permis de calculer le rendement de ses trois extraits ; extrait hexanique, extrait dichlorométhanique et l'extrait butanolique. Les valeurs le tableau 01 ont représentées sur en g par rapport à 42 g de la plante séché (partie aérienne)

**Tableau01** : Rendement des extraits obtenus (par rapport à la plante sèche).

Extrait de la plante	Extrait hexanique	Extrait dichlorométhanique	Extrait butanolique
Rendement (%)	0,83	1,02	0,76
Couleur	Marron	Jaune	Marron foncé
Aspect	Huileux	Visqueux	Huileux

De ces résultats, nous constatons que l'extrait dichlorométhanique donne le meilleur rendement 1,02% suivie de l'extrait hexanique qui est de l'ordre de 0,83% tandis que l'extrait butanolique à montré le rendement le plus faible 0,76%.

### 2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques réalisés sur les trois extraits de *Zygodphyllum geslini* nous a permis d'avoir les résultats présentés sur le tableau 02.

**Tableau 02** : Tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de *Zygodphyllum geslini*

Composé	Test réalisé sur		
	Extrait hexanique	Extrait dichlorométhanique	Extrait butanolique
Tanins	-	-	++
Acides aminés	-	+	++
Sucres	Test 1	++	+++
	Test 2	+	++

(-) : Non détecté ; (+) : détecté ; (++) : riche ;

Test 1: Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); Test 2: DNSA

## Résultats & interprétations

---

*Zygothylum geslini* précisément l'extrait butanolique est très riche en tanins. Par contre l'hexane et le dichlorométhane ne permettent pas d'extraire ces polymères dont la polarité est élevée.

L'ajout de la ninhydrine (1%) aux trois extraits à permis de mettre en évidence la présence des acides aminés au niveau de l'extrait dichlorométhane et l'extrait butanolique et leur absence dans l'extrait hexanique.

L'analyse qualitative des sucres selon deux tests permet de mettre en évidence la présence de ces derniers au niveau de tous les extraits à des quantités différentes. Le premier test a montré une présence plus importante des sucres car son principe réactionnel permet de réagir avec une large variété de sucre (monosaccharides, disaccharides, ...). Cependant, le deuxième test permet la mise en évidence des sucres réducteurs.

D'une part, l'extrait butanolique est très riche en sucres suivie par l'extrait hexanique puis l'extrait dichlorométhane selon le test 1. D'autre part, on note que l'extrait butanolique et l'extrait dichlorométhane présente une teneur supérieure en sucres que l'extrait hexanique, d'après le test 2.

La partie aérienne de *Zygothylum geslini* est très riche en composés pouvant être actifs. En se basant sur les tests réalisés, nous pouvons constater que l'extrait butanolique est très riche en composés chimiques par rapport aux autres extraits.

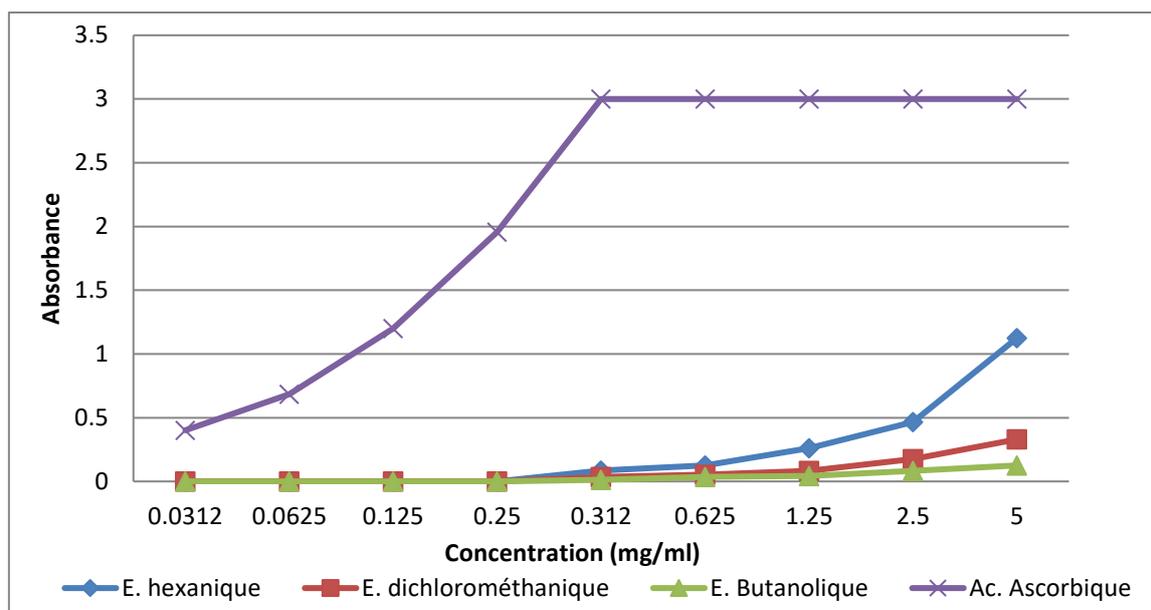
### **3. Activité antioxydante de la partie aérienne de *Zygothylum geslini***

#### **3.1. Effets des extraits de *Zygothylum geslini* sur la réduction de fer (FRAP)**

Le potentiel antioxydant des extraits étudiés à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) a été déterminé en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle positif.

Les résultats de l'activité réductrice de nos extraits sont représentés sur la figure 18 suivante. Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration.

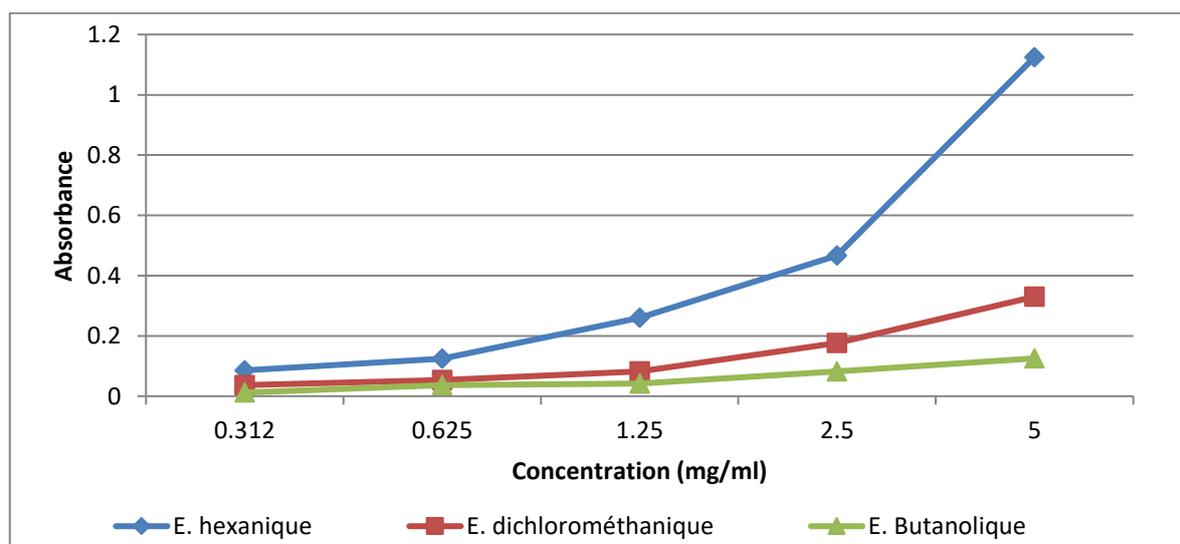
## Résultats & interprétations



**Figure 16:** Réduction du fer par les trois extraits (hexanique, dichlorométhanique, butanolique) et l'acide ascorbique.

D'après la figure 16 on note que la capacité réductrice de tous les extraits de *Zygothymus geslini* est très faible par rapport à celle de l'acide ascorbique. Ce dernier présente un pouvoir réducteur total de fer pour de très faibles concentrations.

A la concentration de 5 mg/ml, l'extrait hexanique présente le pouvoir réducteur le plus important avec une absorbance de d'ordre de 1,124, suivie respectivement par celle de l'extrait dichlorométhanique (DO=0,33) et de l'extrait butanolique (DO=0,125) (Figure17).

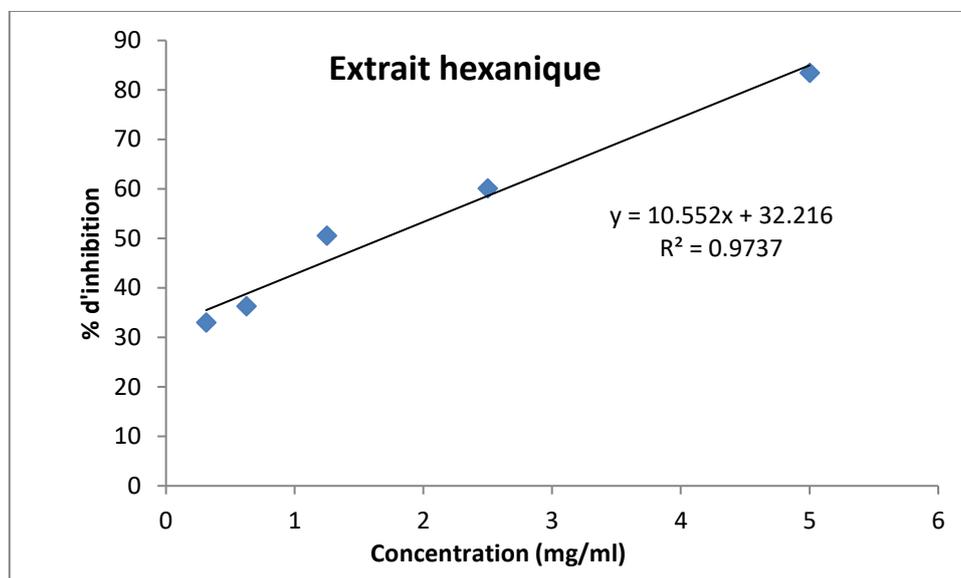


**Figure 17:** Résultats de la réduction de fer des extraits : hexanique, dichlorométhanique et butanolique.

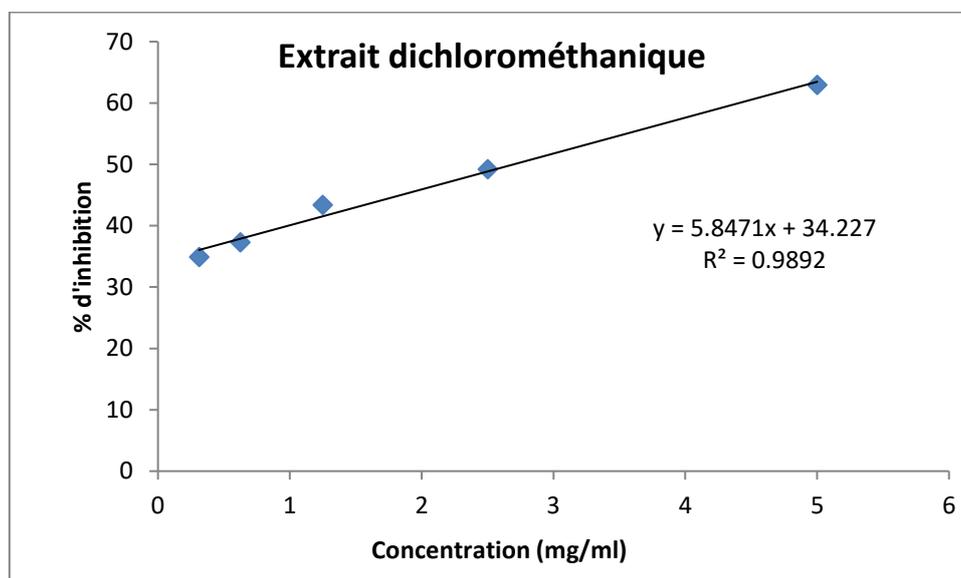
## Résultats & interprétations

### 3.2. Blanchiment du $\beta$ -carotène

Cette méthode consiste à la mesure de la capacité de nos extraits à minimiser la décoloration du  $\beta$ -carotène. Cette activité est confirmée par une  $IC_{50}$  calculé.

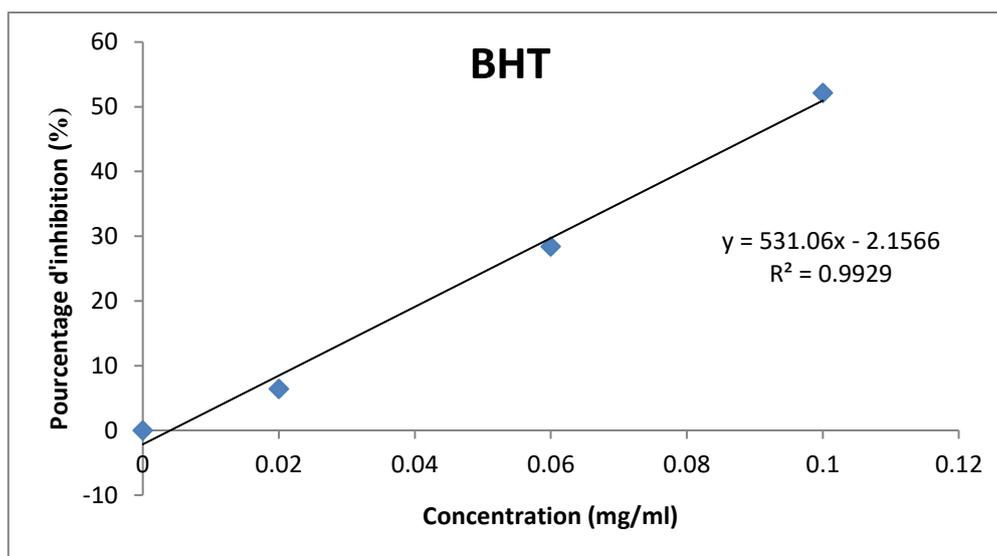


**Figure 18 :** Pourcentage d'inhibition de blanchiment du  $\beta$ -carotène en fonction des différentes concentrations de l'extrait hexanique.



**Figure 19 :** Pourcentage d'inhibition de blanchiment du  $\beta$ -carotène en fonction des différentes concentrations de l'extrait dichlorométhanique.

## Résultats & interprétations



**Figure 20:** Pourcentage d'inhibition de blanchiment du β-carotène en fonction des différentes concentrations du BHT

Les figures 18 et 19 montrent l'effet inhibiteur des deux extraits, hexanique et dichlorométhanique, sur le blanchiment du β-carotène. Nous pouvons remarquer que l'effet inhibiteur varie en fonction de la nature et de la concentration de l'extrait où le pourcentage d'inhibition à 5mg/ml dépasse 83% pour l'extrait hexanique et il est de l'ordre de 63% pour l'extrait dichlorométhanique. En calculant les  $IC_{50}$  nous allons confirmer l'efficacité de l'extrait hexanique par rapport à l'extrait dichlorométhanique et qui sont respectivement 1,68 ; 2,69mg/ml.

L'efficacité du BHT reste plus importante avec une  $IC_{50}$  estimée à 0,098.

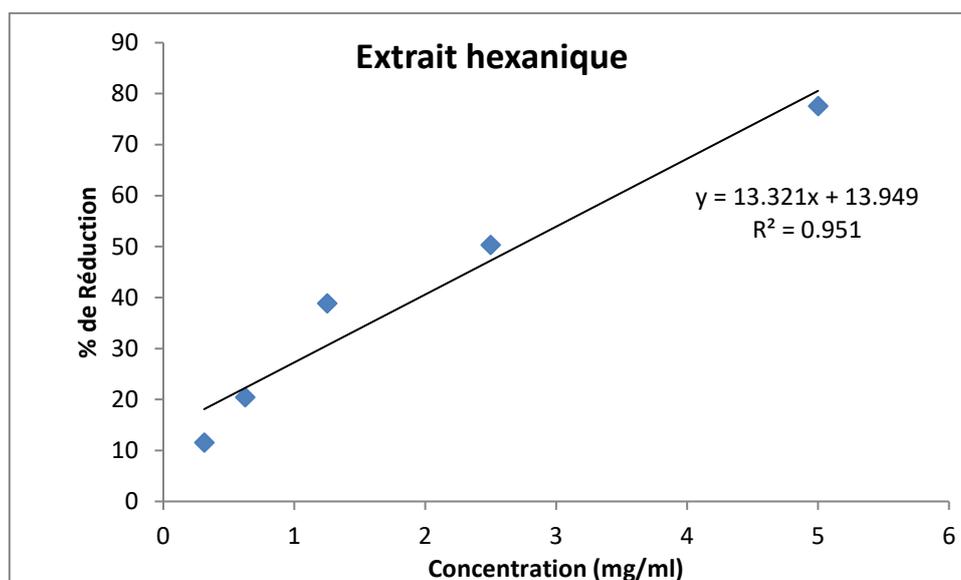
### 3.3.Réduction de l'ABTS

Le pouvoir réducteur du radical cation  $ABTS^{\cdot+}$  est une technique qui permet d'évaluer le pouvoir anti radicalaire des extraits des plantes.

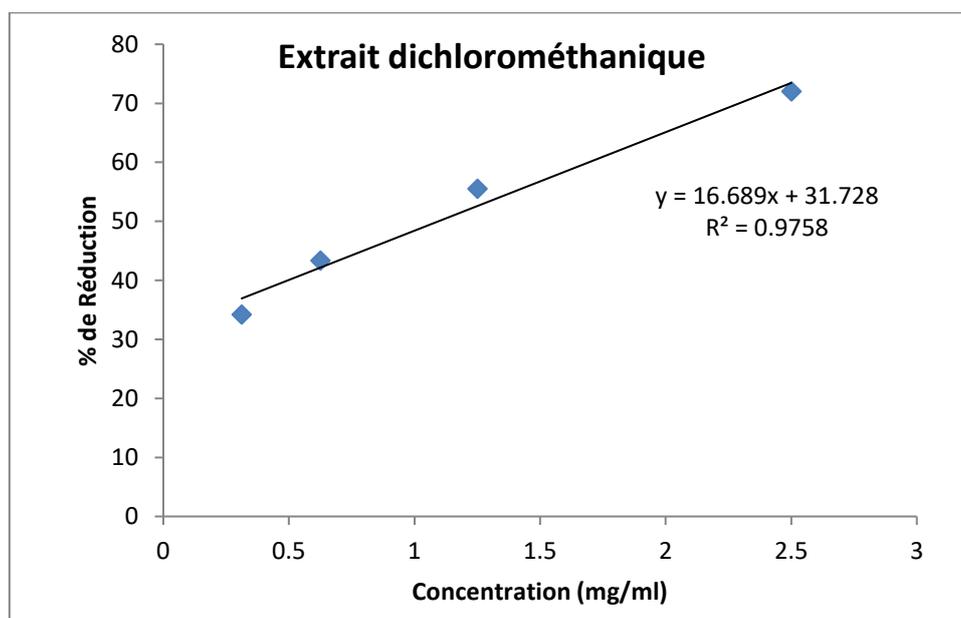
Les figures 23 et 24 montrent que les extraits, hexanique et dichlorométhanique sont doués d'une activité antiradicalaire vis-à-vis de l' $ABTS^{\cdot+}$ .

L'activité la plus élevée est enregistrée dans l'extrait dichlorométhanique avec un pourcentage d'inhibition de 31,96 % à 0,312 mg/ml ; alors que l'extrait hexanique présente la plus faible activité réductrice d'ABTS qui est de l'ordre de 11,09 % à la même concentration. Les  $IC_{50}$  sont 2,70 ; 1,09 respectivement pour les extraits hexanique et dichlorométhanique.

## Résultats & interprétations

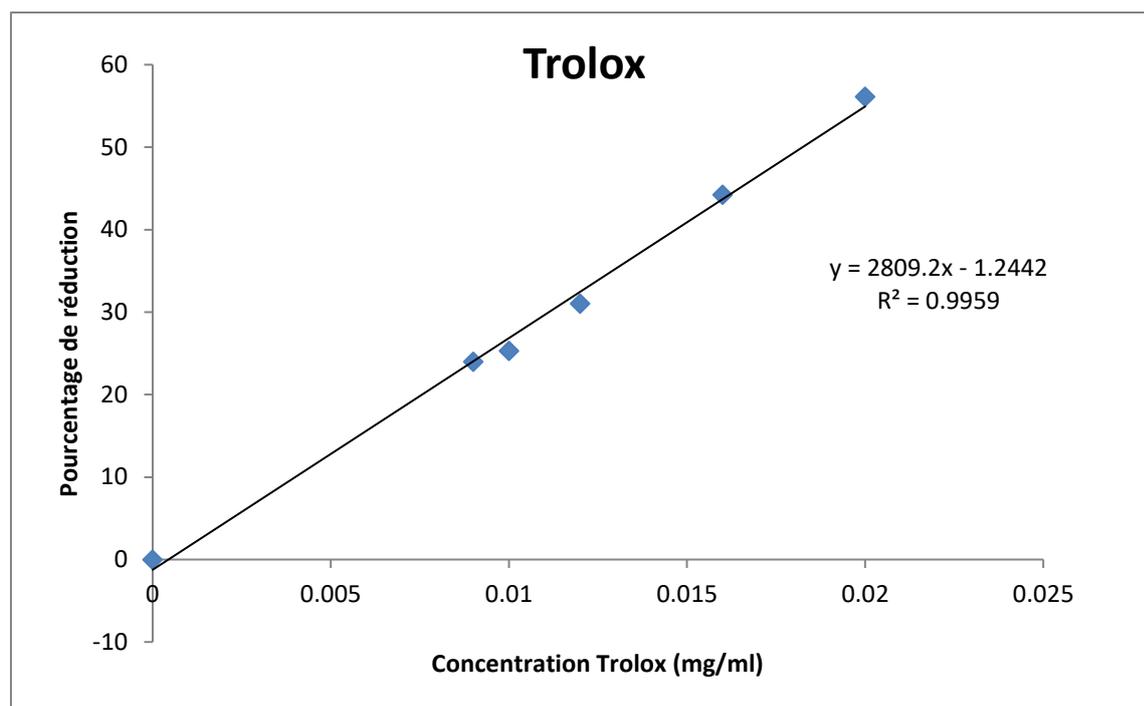


**Figure 21 :** Pourcentage de réduction de l'ABTS en fonction de différentes concentrations de l'extrait hexanique.



**Figure 22 :** Pourcentage de réduction de l'ABTS en fonction des différentes concentrations de l'extrait dichlorométhanique.

## Résultats & interprétations



**Figure 23** : Pourcentage de réduction de l'ABTS en fonction des différentes concentrations de Trolox.

#### 4. Calcule des IC<sub>50</sub> (Concentration inhibitrice à 50%) :

**Tableaux03** : Les valeurs IC<sub>50</sub> des extraits hexanique, dichlorométhanique, BHT et Trolox obtenues par les méthodes β-carotène et ABTS<sup>·+</sup>.

		<i>Extrait hexanique</i>	<i>Extrait dichlorométhanique</i>	<i>BHT</i>	<i>Trolox</i>
IC <sub>50</sub> mg/ml	β-carotène	1,68	2,69	0,098	/
	ABTS <sup>·+</sup>	2,70	1,09	/	0,018

Les IC<sub>50</sub> obtenues par la méthode β-carotène et ABTS, nous permettent de révéler la meilleure activité enregistrée par les standards BHT et Trolox par rapport aux autres extraits étudiés.

Par ailleurs, l'extrait hexanique présente une activité inhibitrice de blanchiment β-carotène d'ordre 1,68 mg/ml supérieure à celle de l'extrait dichlorométhanique (IC<sub>50</sub> = 2,69 mg/ml) ; par contre pour le test ABTS, on note que l'extrait dichlorométhanique présente un IC<sub>50</sub> assez inférieure à celle de l'extrait hexanique et donc révèle a une activité réductrice supérieure.

# **Discussion**

## Discussion

---

Ces derniers temps, l'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Cela montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées en thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances (Houghton, 2000).

*Zygophyllum geslini* ou communément appelé « Aggaya », est une plante saharienne du sud algérien qui selon nos meilleures connaissances, l'une des trésors de notre patrimoine végétal utilisé traditionnellement dans le sud algérien à des fins thérapeutiques principalement antidiabétique et dans les problèmes digestifs, dermatologiques et comme désinfectants pour les nourrissons (Medjdoub, 2013).

Tenant compte de ces résultats, notre recherche a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hexanique, dichlorométhanique et butanolique de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* en utilisant trois techniques : réduction de fer (FRAP) et le blanchiment de bêta carotène ainsi que la réduction d'ABTS<sup>+</sup>.

L'extraction par Soxhlet de cette plante en utilisant trois solvants à polarité croissante : hexane, dichlorométhane et le butanol permet d'obtenir un rendement de 1,02% pour l'extrait hexanique avec un aspect huileux ; 0,83 % pour l'extrait dichlorométhanique d'aspect visqueux et 0,76 % pour l'extrait butanolique ayant un aspect huileux. Ceci indique que l'extrait hexanique a donné un meilleur rendement par rapport aux autres extraits.

Ces résultats sont bien inférieurs à ceux qui sont obtenus par Badami *et al.* (2004), Ho *et al.* (2008), Souri *et al.* (2008), Khalaf *et al.* (2008) et Bhatti *et al.* (2010) sur différents extraits méthanoliques des fruits d'*E. cardamomum*, les rendements sont dans l'ordre de 9,81% ; 7,1%, 9,28% ; 8,1% et 9,4% respectivement.

En effectuant les trois examens phytochimiques qualitatifs sur les extraits récupérés, nous constatons une variation dans la composition. L'extrait butanolique a montré une richesse en tanins, acides aminés et sucres ; l'extrait dichlorométhanique a présenté une teneur remarquable en acides aminés et en sucres, par contre l'extrait hexanique a révélé la présence de sucres.

Cela peut être expliqué par les résultats des études phytochimiques présentées par Medjdoub en 2013 et qui montrent que l'extrait aqueux de *Zygophyllum geslini* est riche en métabolites : mucilage, flavonoïdes, tanins, saponosides, glucosides cardiotoniques, anthracénosides, alcaloïdes, et acides aminés.

## Discussion

---

Nos résultats sont en partie comparables à ceux obtenus par Pöllmann et ses collaborateurs en 1997 qui ont pu isoler certains saponosides stéroïdiques et triterpéniques à partir de certaines espèces de *Zygophyllum* (Aquino *et al.*, 2001), à partir de *Zygophyllum gaetulum* (Hassanean *et al.*, 2002) et à partir de *Zygophyllum album*. Zygophyloside F a été isolé de *Z. album* et *Z. dumosum* (Elgamal *et al.*, 1995) ainsi que zygophyloside D et E qui sont isolés à partir de *Z. propinquum* (Ahmad *et al.*, 1993), le 3 $\beta$ -(3,4- dihydroxycinnamoyl)-érythradiol isolé à partir de *Z. geslini* (Smati *et al.*, 2004).

Par ailleurs l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits montre que la capacité réductrice du fer par les extraits étudiés est faible par rapport à celle de l'acide ascorbique ; l'extrait hexanique présente la meilleure activité (DO=1,124) suivie par celle de l'extrait dichlorométhanique et de l'extrait butanolique à des densités d'ordres : 0,33 et 0,125 respectivement à une concentration de 5 mg/ml. Ces résultats démontrent que nos extraits ont marqué la capacité de réduire les ions ferrique Fe<sup>3+</sup>.

Nos résultats obtenus par la méthode FRAP sont en accord avec ceux qui sont obtenus par Kandikattua *et al.* (2017) sur l'extrait hexanique et Jain *et al.*, (2011) sur l'extrait méthanolique des extraits des fruits d'*E. cardamomum*, qui ont montré que ces deux extraits présentent une faible capacité réductrice par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus par la technique de l'inhibition de blanchiment de  $\beta$ -carotène nous permettent de marquer l'activité inhibitrice supérieure de l'extrait hexanique (IC<sub>50</sub>=1,68 mg/ml) par rapport à celle de l'extrait dichlorométhanique avec une concentration inhibitrice à 50% égale à 2,69 mg/ml. Malheureusement, ce test est réalisé seulement sur les deux extraits.

Selon Liyana-Pathirana et Shahidi (2006), un extrait qui retarde ou inhibe le blanchiment du  $\beta$ -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire.

D'après Barros *et al.*, (2010), l'extrait méthanolique des fruits de l'*Arbutus unedo* inhibe le blanchiment de 50% du  $\beta$ -carotène à la concentration de 0,77 mg/ml. En comparant ce résultat avec le notre, les fruits de l'*Arbutus unedo* restent plus efficaces que la partie aérienne de *Zygophyllum geslini*.

## Discussion

---

L'analyse des valeurs obtenues pour la réduction de l'ABTS a révélé des  $IC_{50}=2,70\text{mg/ml}$  pour l'extrait hexanique et  $IC_{50}=1,09\text{mg/ml}$  pour l'extrait dichlorométhanique.

Concernant cette technique « ABTS », la plante présente une activité réductrice de radical  $ABTS^{\cdot+}$ .

Selon Sarr et ses collaborateurs (2015), *Vitex doniana* présente une activité inhibitrice du radical libre ABTS très importante dont la fraction aqueuse était plus active que l'extrait éthanolique sur l'inhibition de l'ABTS à partir de  $10\text{mg/ml}$  (Sarr *et al.*, 2015).

Dans notre étude, l'extrait dichlorométhanologique présente une activité bien supérieure à celle de l'extrait hexanique et à la fois inférieure à celle réalisée par le Trolox (le standard) ( $IC_{50}=0,018\text{mg/ml}$ ) pour inhiber l'ABTS.

En résumant ces informations, il ressort, donc, que *Zygophyllum geslini* est une plante qui possède un pouvoir antioxydant très remarquable surtout la partie aérienne : tige, feuilles et fleurs. La partie aérienne est très riche en composés, tanins, flavonoïdes, saponosides, acides aminés et en alcaloïdes (Medjdoub, 2013).

Le présent travail est, donc, très intéressant et mérite d'être poursuivi par d'autres études ultérieures.

# **Conclusion Générale**

## Conclusion Générale

---

Dans le but de trouver de nouvelles sources d'antioxydants naturels, nous sommes intéressés à une contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits : hexanique, dichlorométhanique et butanolique de la partie aérienne de *Zygodphyllum geslini*.

L'extraction a permis d'avoir un rendement élevé pour l'extrait hexanique par rapport aux autres extraits. Ce rendement moyen a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

L'analyse phytochimique qualitative des extraits étudiés a révélé la présence de certains composés y compris les tanins dans l'extrait butanolique, les acides aminés au niveau des extraits dichlorométhanique et butanolique et les sucres pour les trois extraits.

Après la recherche du pouvoir antioxydant nous constatons que l'ensemble des extraits étudiés présente une activité antioxydante variable ; une importante activité réductrice du fer présentée par l'extrait hexanique suivie par l'extrait dichlorométhanologique et butanolique ; l'extrait hexanique fournit la meilleure inhibition du blanchiment de bêta carotène ainsi qu'une faible réduction de l'ABTS. Nous pouvons conclure que l'extrait hexanique présente une bonne activité antioxydante.

A la lumière de ces résultats, il serait intéressant de réaliser d'autres recherches qui s'intéressent à :

- ✓ Utiliser d'autres méthodes d'extraction avec d'autres solvants organiques, sur d'autres parties de la plante (racines et graines).
- ✓ Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes *in vitro* : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Activity), DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl), et *in vivo* sur le stress oxydatif en mesurant l'activité des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase, catalase).
- ✓ Identifier les molécules actives responsables de l'effet antioxydant et étudier leur cytotoxicité.
- ✓ Rechercher d'autres activités biologiques telles que l'activité antifongique et antibactérienne.

**Références**  
**Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

---

- Abuja P .M and Albertini R. (2001) . Methods for monitoring oxidative stress, Lipidperoxidation and oxidationresistance of lipoproteins. *clinicachimica acta*. 306 :1-17 .
- Ali, S. S. ,kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008) . Indianmedicinalherbs as sources of antioxidants . *Food Res Int*, 41 :1-15 .
- Afify, A. E. M. M. R., &Hassan, H. M. M. (2016). Free radical scavengingactivity of threedifferentflower-Hibiscus rosa-sinensis, Quisqualisindica and sennasurattensis. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 771-777 .
- Ahmad V. U., Shafi U. G and Shaiq A. M. (1992). Saponinsfrom zygophyllum propinquum. *Phytichemistry* 33(2) :453-455.
- Ait El Cadi, S .M. Ansar, Y .Khabbal, K.Alaoui, M .A. Faouzi, Y.Cherrah, J. Taoufik, Anti-inflammatoryactivity of aqueeous and ethanolicextracts of .Zygophyllum geatulum, *Annales pharmaceutiques francaises*, 2012, 70(2), 13-6 .
- Aquino R., Tortora S., Fkih-Tetouani S.,Capasso A.(2001).Saponins from the roots of Zygophyllumgaetulum and their effects on electrically-stimulated guinea-pig ileum.*Phytochemistry*.56(4) : 393-398.
- Atamer A, Bilici A, Yenice N, Selek S, Ilhan N &AtamerY(2008). The importance of paraoxonase I activity, nitric oxide and lipidperoxidation in hepatosteatosi. *IntMed Res*.36, 771-776.
- Attou, A. (2011) . Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Rutachelepensis (Fidjel) de la région d'Ain témouchent .
- Badami, S., Rai, S. R. (2004). In-vitro antioxidant properties of Indian traditional paan and its ingredients. *Indian journal of traditional knowledege*, 3, 187-191
- Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medicine/sciences* n°3, vol.22, 266-272.
- Barros, L., Carvalho, A. M., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry*.2010 ; 120 (1), 247-254.
- Beier, M. W. Chzse , M. Thulin, (2003). Phylogeneticrelationships and taxonomy of subfamilyZygophlloideae (Zygophyllaceae) based on molecular and morphologicalcat, *plant Systematics ans Evalution*. 240(1-4), 11-39 .

## Références Bibliographiques

---

- Belguidoum M. (2018). Etude de métabolites secondaires et quelques activités de plantes algériennes de la famille zygophyllaceae . Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat (LMD). Université kasdimerbah-Ourgla .
- Belyagoubi, Benhammou , N. Ativité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien . Thèse doctorat. Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen .
- Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien (Doctoral dissertation).
- Benzie , I. F. F. et Strain, J. J. (1996). The ferricreducingability of plasma (FRAP) as a measureofantioxidant power : the FRAP assay. *AnalyticalBiochemistry*, 239 :70-75.
- Bernfeld , Peter .(1955).Amylases, alpha and beta. *Methods in enzymology*.149-158.
- Bhatti, H. N., Zafar, F., Jamal, M. A. (2010). Evaluation of phenolic contents and antioxidant potential of methanolic extracts of green cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Asian Journal of Chemistry*, 22, 4787.
- Boudjetthia K., Hammadi K., Kouidri M., DjebliN.(2017). Evaluation of Antidiabetic Activity of Ywo plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*, *J Phys ChemBiophys* , 7 :236 .
- Bolington, A. A., Machado, M. M., Athayde, M.L. (2014). Tecknicalevaluation of antioxidantactivity. *Medicinalchemistry* 517-522.
- BoumazaA(2009), Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum*coscontr le stress oxydant associé au diabet sucré et les organes en relation. Thèse en vue de l'obtention du diplôme Magister en biologie moléculaire et cellulaire, Université de Mentouri-Constantine.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluateantioxidantactivity. *Food .Sci. Technol*, 28 : 25-30 .
- Brunton J., (1999). *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. 3<sup>ème</sup> Ed Paris, Lavoisier Tech &Doc.
- Brunton J., (2008). *Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales*. 4<sup>ème</sup> Ed Paris. Lavaosier Tech &Doc.
- Brunton j., (2009). *Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales*. 5<sup>ème</sup> Ed Paris .Lavaosier Tech & Doc.

## Références Bibliographiques

---

- Charfi D., (1995). Effet des eaux usées traitées sur les caractéristiques physico-chimiques du sol et sur la physiologie de quelques espèces végétales cultivées au périmètre d'El Hajeb (Sfax). Thèse en écologie végétale, Fac .Sci de Sfax.
- Cao, G. H., Alessio, H.M., Cutler, R. G. (1993). Oxygen-Radical Absorbency Capacity Assay for antioxidants. *Free Radical Biol Mes*, 14 :303-311 .
- Cai, H. et Harrison D. G. (2008). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases : The role of oxidant stress. *Circulation Research*. 87 :840-844 .
- Capasso, S. Omar, S. Fkil-Tetouani, L. Sorrentino, R. Aquino,(1998). Properties and effects on isolated Guinea-Pig Ileum of *Zygophyllum geatulum* Spe, *Pharmaceutical Biology*. 36(5), 320-326 .
- Chika J, Ifeoma O and Ndiamaka H. (2019). Antioxidant Properties of Natural and Synthetic Chemical Compounds, Therapeutic Effects on Biobiosystems, *Acta scientific Pharmaceutical sciences*. 3.6 :28-42 .
- Christianson D. W. (2008). Unearthing the of the terpenome. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12 :141-150 .
- Collin S and Crouzet J. (2011). Polyphénols et procédés. Lavoisier, Paris .336 .
- Cowen M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Research*. 12(4), 564-582 .
- Dellatre J. (2005). Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris-New york. P :620 .
- Domart A., Bourneuf J.(1988). Nouveau Larousse des plantes médicinales. Librairie Larousse. Paris.
- Donnet J. (2001). L'athérosclérose. *Médecine science*, 17(5) :559-567 .
- Duarte TL, Lunec J. (2005). When is an antioxidant not an antioxidant. A review of novel action and reactions of vitamin C . *Free Radic Res*. 39(7) : 671-686.
- Dubois M, Gilles k, Hamilton P, Rebers A, Smith F.(1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry* 28(3), 350-356.
- Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M. (2008). Oxidants Antioxidants and Oxidative stress. *Mitochondrial medicine* .Gvozodjakova A ed p : 19-43 .
- El-Agamey, A., Lowe, G. M., Mc Garvey, D. J. Mortensen, V., Phillip, D. M., Truscott, T. G. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Arch. Biochem. Biophys*. 430(1) :37-48.

## Références Bibliographiques

---

- Elgamal A., Hani M., Shaker H K., Pöllmann K., Seifert K. (1995). Triterpenoid saponins from *Zygophyllum* species. *Phytochemistry*. 40(4) : 1233-1236.
- Elkoli M. (2017). Cours : Structures et activités des substances naturelles, principes et applications. Université de Ferhat Abbas Sétif.
- Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journal scientifiques Ressources naturelles et antibiotiques* . Maroc.
- Fakraoui L. (2016). Investigation phytochimiques d'une plante médicinales algérienne de la famille des zygophyllaceae . Université de Constantine .
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108 .
- Fontanay S. (2012). Complexation de triterpènes penta cycliques par des cyclodextrines Caractéristique et activités biologiques. Université de Lorraine .France . 287.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique* .91 .
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 3(4). 162-169 .
- Gibbons, M. A. Oriowo,(2001). Antihypertensive effect of an aqueous extract of *Zygophyllum coccineum* L. in rats, *phytotherRes*, 15(5), 452-456 .
- Guinard J. L., Cosson L., Henry M. (1985). *Abrégé de phyto-chimie*. Masson, Paris, 175-191 .
- Guinard J. L. (1996). *Abrégé de biochimie végétale*, Ed. Masson, Paris, 160 .
- Halliwell, B., Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean. *British journal of pharmacology* . 142(2), 231-255 .
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans*. 35 : 1147-1150. 13.
- Hannebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, Sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- Harbone JB.(1998). *Phytochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis* . Ed Chapman et Hall, 3<sup>ème</sup> Edition.
- Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals : fifty years research of plant secondary metabolism . *Phytochemistry*. 68. 2831-2846 .

## Références Bibliographiques

---

- Haleng, j., Pincemail, Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress aoxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10), 628-638 .
- Ho, S. C., Tsai, T. H., Tsai, P. J., Lin, C. C. (2008). Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 920-928.
- Houghton P. j. (2000). Use of smallscalebiossays in the discovery of noveldrugsfromnaturalsources .*PhytotherapyResearch*, 14, 419-423 .
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. I. (2005).Thechemistryhehindantioxidantcapacityassays . *J. Agric. Food Chem*, 53/ 184161856 .
- Hygerman A. E aand Larry G. B. (1988). Choisingappropriatemethods and standards for assaying tannin. *Journa of Chemical Ecology* 15(6) :1795-1810 .
- Iwueke A. V. Nwodo O. F. C., (2008). Antihyperglycaemiceffect of aqueousaxtract of Daniellaaaliveri and Sarcocephaluslatifoliusroots on key carbohydrate metabolicensaszymes and glycogen in experimentaldiabetes .*Biokemistri* . 20 :63-70 .
- Jaccot B., Campillo B. (2003). *Nutrition humaine*. Masson, Paris .311 .
- Jacques B., and André R. (2004). *Biochimie métabolique* Ed ellipses. Paris 217-219, 220-223.
- Jain, N., Sharma, V., Ramawat, K. G. (2011). Therapeutic potentials of medicinal plants traditionally used during postpartum period and their molecular targets. *Journal of Ecobiotechnology*, 3, 30-39.
- Kabera, J. n., Semana, E., Mussa, A. R., He, X. (2014). Plant secondarymetabolites : biosynthesis, classification, function and pharmacologicalproperties. *Journal of pharmacy and pharmacology*. 2, 377-392.
- Kandikattu, H. K., Rachitha, P., Jayashree, G. V., Krupashree, K., Sukhith, M., Majid, A., Khanum, F. (2017). Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of Cardamom (*Elettaria repens* (Sonn.) Baill) and its phytochemical analysis by 4D GCXGC TOF-MS. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 191-201.
- Karumi Y., Onyeyili PA., Ogugbuaja VO. (2004). Identification of active principales of *M. balsamina* (Blasmaapple) leafextract, *J Med Sci* . 4(3) : 179-182.
- Kehrer J. P. (1993). Free radicalsmediators of tissue injury and disease. *Criticalreview in toxicology* . 23(1) : 21-48 .

## Références Bibliographiques

---

- Kelova, I. I., Van BEEK, T. A., Lissen, J. P., Groot, A. D., Evsatatieva, L. N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*. 13(1), 8-17.
- Ko, T. P., Safo, M. K., Musayev, F. N., Di Salvo, M. L., Wang, C., Wu, S. H., Abraham, D. J. (2000). Structure of human erythrocyte catalase. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. 56(2), 241-245.
- Koskinen, A., 1993. « Asymmetric synthesis of natural products », John Wiley & Sons Ltd, England, pp. 1-3.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32, 51-55.
- Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progression in Lipid Research*. 46(5) :244- 82 .
- Ladoh Yemeda, C. F., Dibon, S. D., Nyegue, M. A., Djembissi Talla, R. P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo, E., Yinyang, J., Wansi, J. D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of applied Bioscience* 84 : 7636-7643.
- Landis, G. N. Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech. Ageing Dev.* 126 :356-379 .
- Laplace, C., Huet, O., Vicaut, E., Ract, C., Martin, L., Benhamou, D., Duranteau, J. (2005). Endothelial oxidative stress induced by serum from patients with severe trauma hemorrhage. *Intensive care medicine*, 31(9), 1174-1180.
- Lee, Y. M., Gweon, O. C., Seo, Y. J., Im, J., Kang, M. J., Kim, J. I. (2009). Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition research and practice*, 3, 156-161 .
- Li, C., Oldham, C. D., May, S. W. N. (1994). N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochem. J.* 300 :31-36 .
- Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., Ming-Jiuan, W. (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumage and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). *Journal of food and drug analysis*. 11, 60-66 .
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagik., Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*. 47(1-4) : 119-125 .

## Références Bibliographiques

---

- Linard A., Quemain J., Paris R. (1976). Plantes malgaches No XXI sur les flavonoïdes du *XyrisSemfuscata* (xyridacées). *Plantes Rtiédicinales et Phytothérapie Torne X*. 11(4) : 267-275 .
- Manchado P. S. and Cheynier V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Lavoisier. Paris. 398 .
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques*. PPUR Presses polytechniques .
- Mamadou B. (2011). *Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologiques de nauclea latifoliasmith une plante médicinale affricainerecolte au mali* .Faculté des sciences et technique FAST .
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Jiménez L., (2004). Polyphénols : foodsources and bioavailability. *American journal of clinical nutrition* 79 : 727-747 .
- Matés, J. M., Sanchez-Jiménez, F. M.(2000). Role of reactiveoxygenspecies in apoptosis : implications for cancer therapy . *The international journal of biochemistry&cellbiology*. 32(2) :157-170 .
- Manisha, Whidul H, Richa R and Deepali J. (2017). Oxydative stress and antioxydants : An overview . 2(9) : 110-119 .
- Medjdoub H. (2006). *Etude phytochimique et activités biologiques de Zygophyllum gesliniCoss* . Mémoire de magistère, Université de Tlemcen .
- Medjdoub H. (2013). *Contribution à la recherche d'évaluation activités biologiques de Zygophyllum gesliniCoss* . Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur en biologie. Université Abou bekrBelkaid Tlemcen.
- Meklati F. Chemat, Contribution of microwaveaccelerated distillation in the extraction of the essential Oil pf *Zygophyllum album L* .
- Miller N. J., Rice-Evans, C, Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993). A novelmethod for measuringantioxidantcapacity and its application to monitoring the antioxidantstatus in prematureneonates. *Clin Sci*. 84 : 407-412 .
- Mohammadi Z. (2013). *Etude phytochimique et avtivités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud Oouest de l'Algérie* . Thèse doctorat. Université de Tlemcen .
- Morot-Guadry J. F(2016). *Les végétaux , un nouveau pétrole ?* Editions Quae .

## Références Bibliographiques

---

- Moustafa A. I. Kodair, F. M. Hammouda, H. A. Housseiny,(2007). Phytochemical and toxicological studies of *Zygophyllum album* L. F. J ournal of parmacology and toxicology . 2(3) : 220-237 .
- Mortensen P. S. and Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaires .Lavoisier .Paris .398 .
- Muanda F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques . Doctoral dissertation. Thèse de Doctorat . Université Paul Verlaine-Metz . 55-86 .
- Olzek WA., et al . (2002). Chromatographic determination of plant saponins- an update septembre 2002. Journal of chromatography A976(1) :147-62. DOL : 10.1016/s0021-9673(01)01556-4, source Analysis of antioxydant activitPubMed.
- Ortuno A., BaidezA., Gomez, P., Arcas, M. C., Porras, I., Garcia-Lidon, A., Del Rio, J. A. (2006). Citrisparadisi and citrus sinensisflavonoids .
- Ou B., Huang D., Hampsh-Woodill M.,Judith A., Ronald L.Prior.(2001).DEvelopment and validation of an improved Oxygen Rdical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. Journal of Agricultural and Food Chemistry.49(10) :4619-4626.
- O’Kennedy, R., and Thornes, R.D. (ed) (1997). Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y.
- Oyaizu M., (1986). Studies on products of browning reactionpreparedfrom glucose amine. Japanese journal of nutrition. 44 : 307-316 .
- Park, H. H., Lee, S., Son, H. Y., Park, S. B., Kim, M. S., Choi, E. J., Hyun, M. C. (2008). Flavonoidsinhibit histamine release and rspressionof pro inflammatory cytokines in mastcells. Archives of pharmacalresearch . 31, 1303-1311.
- Peronny S., (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de dictorat en Eco- Ethologie. Muséum national d’histoire naturelle doscriplune.
- Pereira, R.C., DA Gama, B.A.P., Teixeira, V.L., Yoneshigue-valentin, Y.,2003. Braz.J.Bio, 63 (4). pp : 665-672.
- Pham-Huy LA., He H & Pham-Huy C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health, International Journal of Biomedical Science. 4 : 89-96.
- Pincemail J., Meurisse M, Limet R, Defraigne JO. (1999). L’évaluation du stress oxydatif d’un individu : une réalité pour le médecin .Vaisseaux, Cœur, Poumons. 4(5).

## Références Bibliographiques

---

- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K and Defraigne J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante .Nutrition clinique et métabolisme 16 : 233-239 .
- Popov, I., Lewin, G., Baehr, R. (1987). Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I .Assay of superoxide dismutase .Biomed Biochim Acta . 46 : 775-779 .
- Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue du Génie Industriel . 4 : 26-39 .
- Pryor, W. A. (2000). Vitamin E and heart disease : basic science to clinical intervention trials, Free Rad .Biol .Med . 28 : 141-164 .
- Quezel P., Santa S.(1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome I, C.N.R.S. Paris.
- Qzenda P. (1977). Flore du Sahara. 2<sup>ème</sup> Edition . Ed du centre national de la recherche scientifique .Paris . 318-320.
- Rao, C. V., & Vijayakumar, M. (2008). Effect of quercetin, flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. European journal of pharmacology. 589 : 233-238 .
- Rackova, L., Majekova . M., Kost'alova, D., Stefek, M. (2004). Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from Mahonia aquifolium. Structural aspects .Bioorganic & medicinal chemistry. 12 : 4709-4715 .
- Saleh, M. N. El-Hadidi, An approach to the chemosystematics of the Zygophyllaceae. Biochemical systematics and ecology . 1977, 5(2), 121-128.
- Samouelian, F., Guadin, V., Boccara, M. (2009). Génétique moléculaire des plantes .Editions Quae.
- Sanchez-Moreno, C., Larraui, J.A. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. Food Sci Technol. Int. 4 : 391-399 .
- Sanchez-Moreno, C. (2002). Review : Methods used to evaluate the free radical .scavenging activity in food and biological systems. Food Sci Tech Int. 8(3) : 121-137.
- Sarr, O., Fall, A.D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Ndiaya, B., Diop, Y M. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Vitex doniana (Verbenaceae). Int.J.Biol.Chem.Sci.9(3) :1263-1269.

## Références Bibliographiques

---

- Servais, S (2004). Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'azote : effet de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse de doctorat. Université claudernard-lyon.
- Sasmakov S. A., Putieva M. Zh., Kachala V. V., Shashkov A. S. (2001). Triterpène glycosides of *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M. Chemistry of Natural Compounds. 37 : 91-92 .
- Schere, R., Godoy, H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method . Food Chem , 112 : 654-658 .
- Sheahan M. C., Chase M. W. (2000). Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions. With special emphasis on Zygophylloideae. Syst. Bot. 25 : 371-384.
- Smati D., Hammiche V., Nehari H., Alamir B., and Merad R. (1993). *Zygophyllum geslini* : Chemical investigation hypoglycemic activity. Acta Hort. (ISHS). 332 : 243-248 .
- Smati D., Longeon A and Guyot M. (2004). 3-β (3,4-Dihydroxyeinnamoyl) erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara. Journal of Ethnopharmacology 95 : 405-407.
- Soury, E., Amin, G., Farsam, H. (2008). Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 16, 83-87.
- Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2014). Oxidation stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer . International journal of molecular sciences. 16, 193-217 .
- Tigirin F., Tubaro F., Rong J and Sevanian A. (1999). Optimization of nutrition : Polyphenols and vascular protection. Nutrition reviews . Vol 57, n°8 : 241-249 .
- Tratner I. (2003). Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux Médecine/Science n°12 . Vol 19 : 1291-1292
- Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., Wegrzyn, G. (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Archives of Microbiology .184, 271-278.
- Ursini F., Tubaro F., Rong J and Sevanian A. (1999). Optimization of nutrition : Polyphenol and vascular protection . Nutrition reviews . Vol 57, n°8 : 241-249.

## Références Bibliographiques

---

- Van Antwerpen, P. (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myloperoxydase/peroxyde d'hydrogène/chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.
- Vivas, N., de Gaulejac, N. V., Nonier, M. F. (2003). Sur l'estimation et la quantification des composés phénoliques des vins . L'OIV. 865-281 .
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer .Chem . Biol Interact. 160 : 1-40 .
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T. D., Mazur M and Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease . The International journal of Biochemistry&CellBiology 39 : 44-84 .
- Walker J. E. M., Sareste M. J., Runswick and N. J. GAY. (1982). Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinase and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide fold .Embo J, (8) : 945-51.
- Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U. et Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation . FEBS Letters, 187 : 33-37 .
- Yaniv, Z., Shabelsky, E., Shafferman D., Granot I. and Kipnis T. (1998). Oil and fatty acid changes in Sinapis and Crambe seeds during germination and early development .Phytochemistry. 9(1) : 1\_8 .
- Yu, B., Tao, H. (2002). Glycosyl trifluoroacetimidates . 2. Synthesis of dioscin and Xiebaisonin . I. J. Org. Chem. 67 : 9099-9102 .
- Zenk H. and Juenger M. (2007). Evaluation and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. Phytochemistry 68 : 2757-2772 .