

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان -

Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –

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

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité
Biologique.



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du **diplôme** de **Master**
En Sciences biologiques
Option : Biochimie Appliquée

Par : **YOUBI Houda & KOUAR Ibtissem**

Thème

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et
antidiabétique des racines de *Ricinus communis*.**

Soutenu publiquement, le 22 /06/ 2023, devant le jury composé de :

| | | |
|-------------------|----------------------------|----------------------|
| Président | Pr. Azzi Rachid | Univ. Tlemcen |
| Examineur | Dr. Medjdoub Houria | Univ. Tlemcen |
| Encadrante | Dr. Benariba Nabila | Univ. Tlemcen |

Année universitaire : 2022/2023

REMERCEMENT

Avant toute chose nous tenons à remercier **Dieu**, le tout puissant de m'avoir guidé, aidé et donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos vifs remerciements à mon encadreur **Mme. BENARIBA NABILA**, Maître de Conférences Classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour ces conseils précieux, sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ainsi sa gentillesse. Merci pour vos qualités scientifiques et humaines sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené à bon port.

Nous tenons à remercier chaleureusement **Mme. MEDJDOUB HOURIA**, Maître de Conférences Classe B au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

Nos remerciements vivement **Mr AZZI RACHID**, professeur au département de Biologie, et vice-doyen chargé de la post graduation, la recherche scientifique et les relations extérieures de la faculté SNV/STU, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent à **Mme Fekhikher Z.** et **Mme Brixi Gormat R.** doctorantes en biochimie pour leur aide, leur présence, leur gentillesse et leurs précieux conseils au cours de la réalisation de la partie expérimentale du travail, car désormais votre souvenir restera à jamais gravé aux tréfonds de nos cœurs.

Nos remerciements à toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je rends grâce à Dieu de m'avoir donnée le courage et la volonté d'avoir pu terminer mes études.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit récolté après tant d'années d'efforts à :

Ma mère **Rahma**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Que Dieu t'accorde santé et bonheur pour que tu restes la splendeur de ma vie.

Mon père **Abderrahim**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie, Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Puisse Dieu te prêter longue vie, santé et bonheur.

A mon très cher frère **Sif Allah**.

A mes grands-parents, pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel, je les souhaite une vie pleine de santé

A mes amies **Imane, Sanaa, Fatima, Karima, Nadjat, Bouchera, Ilhem**, Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble durant ses cinq dernières années.

A mon Binôme **Houda** pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce recherche. J'ai le plaisir à dédie ce modeste travail à toute personne ayant contribué de près ou de loin signalé leur présence pour m'assister dans mon éreintante besogne et à tous ceux que j'aime.

A tous membre de la famille **Kouar** et **Rezini**.

IBTISSEM

Dédicace

Merci mon **Dieu** pour la santé, la protection et le souffle de vie que tu me donnes chaque jour
merci de m'avoir envoyé le sentiment qu'il y'a plus pour moi dans cette vie et merci de
toujours transformer des moments de désespoir en espoir.

Merci à moi-même pour toute cette constance et ce courage pour réaliser cette étude.

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit récolté après tant d'efforts à :

Mon papa **Fethi** merci de m'avoir élevé avec tant d'amour, sans toi ma vie n'est qu'un désert
de solitude et de souffrance.

Ma maman **Mebarek Nadjjet**, le secret de mon bonheur continu dans cette vie., il n'y a pas
assez de mots pour décrire à quel point tu es importante pour moi.

Ma grand-mère **Chelhi Yamina** la femme spéciale qui a influencé ma vie positivement et la
femme qui me reconforte quand je vais mal.

Mon grand-père **Mebarek Omar** merci pour ta parole à moi « rien ne vous sera bénéfique
dans votre vie sauf vos études ».

Petit frère **Yahia Yaecobe** le miracle de ma vie, merci d'être à mes côtés

Mes grands frères **Mebarek Houcine** et **Mebarek Mohamed**, toute ma vie vous êtes là pour
moi, pour me guider, m'accompagner me consoler quand j'en avais besoin, ma vie est vide
sans vous, merci pour tout.

Ma soeur **Samira Bouteraa**, merci pour ton amour inestimable inconditionnel.

Mes oncles **Chelhi Abdenebi** et **Ouraghi Sidahmed** merci d'être dans ma vie.

Mes sœurs **Chelhi sabah** et **Chelhi imene** nous avons traversé beaucoup d'épreuves
ensemble, Je vous souhaite un succès durable.

Mes cousins **Mebarek Meriem**, **Mebarek Anas** et **Mebarek Ziad** vous coloriez ma vie.

Mon frère **Mebarek Lahcene** et sa fiancée **Ariana Verónica Pérez Sánchez de Mebarek** je
pense toujours à vous et la distance n'est rien pour nous, merci de m'avoir encouragé.

Mon cousin **Youbi Abdelwaheb** et son épouse **Sophie**, merci pour votre contact permanent.

A mon binôme **Ibtissem** pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce recherche.

HOUDA

ملخص

Ricinus communis L هو نبات شجرة سنوي أو معمر من عائلة Euphorbiaceae ، ويستخدم في مستحضرات التجميل وهو مصدر لزيت الخروع والريسين.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد لمرض السكر في المستخلصات المائية والأسيتون المائية لجذور *Ricinus communis* ، المحضرة بواسطة الإغلاء لمدة 30 دقيقة. مع الاختبارات الكيميائية النباتية. وتحديد مستوى البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص المكثف.

يكشف الفحص الكيميائي النباتي للمستخلصات عن وجود التانينات والفلافونويدات والكينونات الحرة والتربينويدات والمركبات المختزلة والصابونوزيدات وغياب القلويات والأنثراكينونات. أظهرت جرعة المركبات الفينولية في كل مستخلص أن مستخلص الأسيتون المائي مقارنة بالمستخلص المائي، يقدم أفضل المحتويات في إجمالي البوليفينول (499,55 ميكروغرام مكافئ حمض غالليك/ ميلي غرام) ، في الفلافونويد (28,21 ميكروغرام مكافئ حمض كاتيشين/ ميلي غرام) العفص المكثف (7,96 ميكروغرام مكافئ حمض كاتيشين/ ميلي غرام).

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال طريقة مسح الجذور الحرة DPPH وطريقة FRAP لوحظ وجود نشاط قوي مضاد للجذور على DPPH على وجه الخصوص للمستخلص المائي (1,46 ميكروغرام / مل) متبوعاً بمستخلص الأسيتون المائي (2,01 ميكروغرام / مل) والذي يقدم قيم أفضل من تلك الموجودة في حمض الأسكوربيك (2,47 ميكروغرام / مل). في طريقة FRAP، يُظهر المستخلص المائي (20,49 ميكروغرام / مل) تأثيراً مهماً في تقليل الحديد مقارنة بتأثير BHA (17,98 ميكروغرام / مل)، بينما كان تأثير مستخلص الأسيتون المائي أقل بشكل ملحوظ (40,32 ميكروغرام / مل).

تم تقييم النشاط المضاد لمرض السكر لمستخلصات جذور *Ricinus communis* في المختبر عن طريق قياس تأثيرها المثبط على نشاط α -amylase. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تأثير مثبط لمستخلص الأسيتون المائي الذي أظهر قيمة قدرها (1,03 مجم / مل) ، يليه المستخلص المائي الذي أعطى قيمة منخفضة (9,56 مجم / مل). هذه القيم أعلى بكثير من تلك الخاصة Acarbose (15,01 ميكروغرام / مل).

في ضوء النتائج، فإن مقتطفات جذور *Ricinus communis* غنية بالمركبات الفينولية. قد يكون هذا الأخير مسؤولاً عن التأثير المضاد للشيخوخة، والحد من الحديد، والتأثير المثبط لـ α -amylase لهذا النوع، مما يؤدي إلى استخدام هذا النبات كمصدر جديد لمضادات الأكسدة والجزئيات المضادة لمرض السكر.

الكلمات المفتاحية: *Ricinus communis*، بوليفينول، فلافونويد، العفص المكثف، DPPH، FRAP، α -amylase.

Résumé

Ricinus communis L est une plante arborescente annuelle ou vivace de la famille de Euphorbiaceae, elle est utilisée dans le domaine cosmétique et constitue une source de l'huile de ricin et de la ricine.

L'objectif de cette étude porte à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique de l'extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis*, préparés par décoction pendant 30 min. Avec des tests phytochimiques ; et la détermination du taux des polyphénols totaux, flavonoïdes et des tanins condensés.

Le screening phytochimique des extraits révèle la présence des tanins, flavonoïdes, quinones libres, terpénoïdes, composés réducteur, saponosides, et l'absence des alcaloïdes et des anthraquinones. Le dosage des composés phénoliques dans chaque extrait a montré que l'extrait eau-acétone par rapport à l'extrait aqueux, présente les meilleurs teneurs en polyphénols totaux (499,55 µg EAG/mg E), en flavonoïdes (28,21 µg EC/mg E) et en tanins condensés (7,96 µg EC/mg E).

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode du FRAP. Une forte activité antiradicalaire sur le DPPH a été observée en particulier pour l'extrait aqueux (IC₅₀=1,46 µg/mL) suivi par l'extrait eau-acétone (IC₅₀=2,01 µg/mL) qui présentent des valeurs de IC₅₀ meilleurs que celle de l'acide ascorbiques (2,47 µg/mL). Dans la méthode du FRAP l'extrait aqueux (EC₅₀= 20,49 µg/mL) présent un effet réducteur du fer important et comparable à l'effet du BHA (EC₅₀= 17,98 µg/mL), tandis que l'effet de l'extrait eau-acétone été nettement inférieur (EC₅₀=40,32 µg/mL).

L'activité antidiabétique des extraits des racines de *Ricinus communis* a été évaluée *in vitro* en mesurant leur effet inhibiteur de l'activité de α-amylase. Les résultats obtenus ont montré un effet inhibiteur de l'extrait eau-acétone qui a révélé une valeur de IC₅₀ de 1,03 mg/mL, suivi par l'extrait aqueux qui a assuré une faible valeur de IC₅₀ = 9,56 mg/mL. Ces valeurs sont nettement supérieures à celle du contrôle positif l'acarbose (IC₅₀ = 15,01 µg/mL).

A la lumière des résultats, les extraits des racines de *Ricinus communis* sont riches en composés phénoliques. Ces derniers peuvent être responsables de l'effet antiradicalaire, réducteur du fer, et inhibiteur de l'α-amylase de cette espèce, ce qui conduit à l'utilisation de cette plante comme source de nouvelles molécules antioxydantes et antidiabétiques.

Mots clés : *Ricinus communis*, polyphénols, flavonoïdes, tanins, DPPH, FRAP, α-amylase.

Abstract

Ricinus communis L is an annual or perennial tree plant of the Euphorbiaceae family, it is used in cosmetics and is a source of castor oil and ricin.

The objective of this study is to evaluate *in vitro* the antioxidant and antidiabetic activity of aqueous and water-acetone extracts of the roots of *Ricinus communis*, prepared by decoction for 30 min. With phytochemical tests; and the determination of the level of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins.

The phytochemical screening of the extracts reveals the presence of tannins, flavonoids, free quinones, terpenoids, reducing compounds, saponosides, and the absence of alkaloids and anthraquinones. The dosage of phenolic compounds in each extract showed that the water-acetone extract compared to the aqueous extract, presents the best contents in total polyphenols (499.55 $\mu\text{g EAG/mg E}$), in flavonoids (28.21 $\mu\text{g EC/mg E}$) and condensed tannins (7.96 $\mu\text{g EC/mg E}$).

The antioxidant activity was evaluated by the DPPH free radical scavenging method and the FRAP method. A strong antiradical activity on DPPH was observed in particular for the aqueous extract (IC₅₀=1.46 $\mu\text{g/mL}$) followed by the water-acetone extract (IC₅₀=2.01 $\mu\text{g/mL}$) which present values of IC₅₀ better than that of ascorbic acid (2.47 $\mu\text{g/mL}$). In the FRAP method, the aqueous extract (EC₅₀= 20.49 $\mu\text{g/mL}$) exhibits a significant iron-reducing effect comparable to the effect of BHA (EC₅₀= 17.98 $\mu\text{g/mL}$), while the effect of the water-acetone extract was markedly lower (EC₅₀=40.32 $\mu\text{g/mL}$).

The antidiabetic activity of *Ricinus communis* root extracts was evaluated *in vitro* by measuring their inhibitory effect on α -amylase activity. The results obtained showed an inhibitory effect of the water-acetone extract which revealed an IC₅₀ value of 1.03 mg/mL, followed by the aqueous extract which provided a low IC₅₀ value = 9.56 mg/mL. mL. These values are significantly higher than those of the acarbose positive control (IC₅₀ = 15.01 $\mu\text{g/mL}$).

In the light of the results, the extracts of the roots of *Ricinus communis* are rich in phenolic compounds. The latter may be responsible for the antiradical, iron reducing, and α -amylase inhibitory effect of this species, which leads to the use of this plant as a source of new antioxidant and antidiabetic molecules.

Key words: *Ricinus communis*, polyphenols, flavonoids, tannins, DPPH, FRAP, α -amylase.

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Introduction | 1 |
| Synthèse bibliographique | |
| 1 Les métabolites secondaires | 2 |
| 1.1 Les composés phénoliques | 4 |
| 1.1.1 Acides phénoliques | 5 |
| 1.1.2 Flavonoïdes | 6 |
| 1.1.3 Tanins | 7 |
| 1.2 Alcaloïdes | 9 |
| 1.3 Terpènes et stéroïdes | 11 |
| 2 Stress oxydatif | 12 |
| 2.1 Radicaux libres | 13 |
| 2.2 Les antioxydants | 14 |
| 3 Les plantes antioxydantes | 14 |
| 4 Généralité sur la plante | 18 |
| 4.1 Généralité sur <i>Ricinus communis</i> L | 18 |
| 4.2 Description botanique | 18 |
| 4.3 Répartition géographique | 19 |
| 4.4 Classifications botanique (Anjani, 2005 ; Aslania <i>et al.</i> , 2007) | 20 |
| 4.5 Composition chimique | 20 |
| 4.6 Propriétés pharmacologiques de <i>Ricinus communis</i> | 21 |
| Matériel et méthodes | |
| 1 Etude phytochimique | 22 |
| 1.1 Matériel végétal | 22 |
| 1.2 Préparation de l'extrait aqueux de <i>Ricinus communis</i> | 23 |
| 1.3 Préparation de l'extrait eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> | 23 |
| 1.4 Screening phytochimique | 24 |
| 1.5 Calcul du rendement des extraites | 26 |
| 2 Dosage des polyphénols totaux | 26 |
| 3 Dosage des flavonoïdes | 27 |
| 4 Dosage des tanins condensés | 29 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5 | Evaluation des activités biologiques | 30 |
| 5.1 | Evaluation de l'activité antioxydante des extraits eau-acétone et aqueux de <i>Ricinus communis</i> L | 30 |
| 5.1.1 | Test de piégeage du radical libre DPPH..... | 30 |
| 5.1.2 | Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP : <i>Ferric reducing antioxidant power</i>)32 | |
| 5.2 | Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de <i>Ricinus communis</i> | 34 |
| 5.2.1 | Evaluation de l'effet des extraits eau-acétone et aqueux sur l'activité de l' α -amylase | 35 |

Résultats et Interprétations

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Rendements des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> | 38 |
| 2 | Screening phytochimique des extraits de <i>Ricinus communis</i> | 38 |
| 3 | Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensé dans les extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> | 41 |
| 4 | Effet antioxydant des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> sur la réduction de DPPH | 42 |
| 5 | Effet antioxydant des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> sur le pouvoir réducteur du Fer (FRAP)..... | 44 |
| 6 | Effet antidiabétique des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> sur l'activité de l' α -amylase..... | 47 |
| | Discussion | 38 |
| | Conclusion | 49 |
| | Références bibliographiques | 52 |

Liste des abréviations

A : Absorbance.

ABTS : L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) et le nom d'un test antioxydant.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADP : Adénosine diphosphate.

Al⁺ : Aluminium

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ASP : Antioxydants phénoliques synthétiques.

BHA : Butyl Hydroxy Anisole.

C : Atome de carbone.

cm : Centimètre.

Da : Dalton

DNSA : Acide 3,5-Dinitrosalicylique

DO : Densité Optique

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

EC/g Ms : Equivalent catéchine par gramme de matière sèche

EC₅₀ : Concentration efficace médiane.

EGa/g Ms : Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche

EOA : espèces oxygénés activées.

Fe²⁺ : Fer Ferreux

Fe³⁺ : Fer Ferrique

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power.

g : Gramme

h : Heure

H : hydrogène.

HCl : Acide Chlorhydrique

IC50 : Concentration Inhibant 50% de l'activité enzymatique

IPP : Isopenténylpyrophosphate.

K3Fe (CN) 6 : Ferricyanure de potassium

Kg : Kilogramme

LAPSAB : Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique.

mg : Milligramme.

min : Minute

ml : Millilitre.

N : Normalité

N : Azote.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

Na₂HPO₄ : Hydrogénophosphate de soduim

NaH₂PO₄ : dihydrogénophosphate de soduim

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

nm : Nanomètre

NO : Oxyde nitrique.

OH : Hydroxyle un atome d'oxygène et hydrogène liées.

P : Poids

P.A : Principe actif.

PBS : Tampon phosphaté salé (Phosphat buffer salin)

PPA : Pancréas Du Porc

R% : Rendement En %.

TCA : Acide Trichloracétique

UV : Rayons ultraviolets.

V : Volume

µg : Microgramme.

µg EAG/mg E : Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

µg EC/mg E : Microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait.

µl : Microlitre

% : Pourcentage.

°C : Degrés Celsius

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure n°1 : Principale voie de biosynthèse menant à la synthèse de métabolites | 2 |
| Figure n°2 : Les fonctions des métabolites secondaires des plantes..... | 3 |
| Figure n°3 : Structure chimique de l'acide cinnamique..... | 6 |
| Figure n°4 : Structure chimique de l'acide benzoïque..... | 6 |
| Figure n°5 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes. | 7 |
| Figure n°6 : Deux exemples de tanins hydrolysables. | 8 |
| Figure n°7 : Exemple de structure d'un tanin condensé. | 8 |
| Figure n°8 : Un exemple des alcaloïdes vrais « nicotine ». | 10 |
| Figure n°9 : Un exemple des proto-alcaloïdes « mescaline ». | 10 |
| Figure n°10 : Un exemple des pseudo-alcaloïdes « la caféine ». | 11 |
| Figure n°11 : Structure d'isoprène. | 11 |
| Figure n°12 : Un exemple des diterpènes « momilactone A ». | 12 |
| Figure n°13 : Un exemple des triterpènes « cucurbitacin I ». | 12 |
| Figure n°14 : Un exemple des tétraterpènes « bêta-carotène ». | 12 |
| Figure n°15 : Balance radicaux libres / antioxydants. | 13 |
| Figure n°16 : Origine des radicaux libres et leurs effets sur l'organisme..... | 13 |
| Figure n°17 : Activité principale des polyphénols : le piégeage de radicaux libres. | 14 |
| Figure n°18 : <i>Arbutus unedo</i> | 16 |
| Figure n°19 : <i>Cynara scolymus</i> | 16 |
| Figure n°20 : <i>Opuntia ficus-indica</i> | 16 |
| Figure n°21 : <i>Rosmarinus officinalis</i> | 16 |
| Figure n°22 : <i>Tragopogon porrifol.</i> | 16 |
| Figure n°23 : <i>Calendula arvensis</i> | 16 |
| Figure n°24 : <i>Thymus vulgaris</i> | 16 |
| Figure n°25 : Présentation de l'espèce <i>Ricinus communis</i> | 19 |
| Figure n°26 : Représentation botanique de <i>Ricinus communis</i> | 19 |
| Figure n°27 : Le passage du texte (Eb 251) (colonne 47, ligne 15 - colonne 48, ligne 3) est souvent nommé "Livre Ricinus" et résume les applications curatives de la plante ricin (image reproduite avec l'aimable autorisation de la bibliothèque universitaire de Leipzig, collection Papyrus et Ostraka). | 21 |
| Figure n°28 : les composés Phytochimiques de <i>Ricinus communis</i> et leur activité pharmacologique. | 22 |
| Figure n°29 : Station de la récolte de <i>Ricinus communis</i> L (Tounane, Souahlia). | 23 |
| Figure n°30 : Les racines récoltées de <i>Ricinus communis</i> | 23 |
| Figure n°31 : Les racines découpées de <i>Ricinus communis</i> L (photo prise au laboratoire)... | 23 |
| Figure n°32 : La préparation de l'extrait eau-acétone de <i>Ricinus communis</i> L (photos prise au laboratoire). A : Montage d'extraction à chaud sous reflux ; B : Extraction par décoction ; C : L'extrait brut eau-acétone récupéré ; D : Evaporation à sec au rotavapeur pour l'extrait eau-acétone. | 24 |
| Figure n°33 : Mécanisme réactionnel du test DPPH..... | 30 |

| | |
|--|----|
| Figure n°34 : Mécanisme réactionnel de pouvoir réducteur de fer (FRAP) en utilisant le ferricyanure de potassium. | 32 |
| Figure n°35 : Mécanisme d'hydrolyse de l'amidon par α -amylase et réduction du DNSA par les sucres réducteurs. | 35 |
| Figure n°36 : les résultats des tests phytochimiques. | 38 |
| Figure n°37 : Courbe étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux | 41 |
| Figure n°38 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux | 41 |
| Figure n°39 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins totaux. | 41 |
| Figure n°40 : Réduction du DPPH par l'acide ascorbique. | 43 |
| Figure n°41 : Effet de l'extrait aqueux des racines de <i>Ricinus communis</i> sur la réduction de DPPH. | 44 |
| Figure n°42 : Effet de l'extrait eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> sur la réduction de DPPH. | 44 |
| Figure n°43 : Les valeurs de IC ₅₀ déterminées pour l'acide ascorbique et les extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> sur la réduction du DPPH. | 44 |
| Figure n°44 : Pouvoir réducteur du fer du BHA. | 45 |
| Figure n°45 : Pouvoir réducteur du fer d'extrait aqueux des racines de <i>Ricinus communis</i> | 46 |
| Figure n°46 : Pouvoir réducteur du fer d'extrait eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> | 46 |
| Figure n°47 : Valeurs de EC ₅₀ de l'effet de BHA et des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> | 46 |
| Figure n°48 : Effet d'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase exprimé en pourcentage. | 47 |
| Figure n°49 : Effet de l'extrait aqueux des racines de <i>Ricinus communis</i> sur l'inhibition de l'activité l' α -amylase (%). | 48 |
| Figure n°50 : Effet de l'extrait eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase (%). | 48 |
| Figure n°51 : Valeurs de IC ₅₀ de l'effet de l'acarbose et des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> | 48 |

Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau n°1 : Les principales classes de composés phénoliques. | 5 |
| Tableau n°2 : Liste de quelques plantes médicinales indiennes ayant une activité antioxydantes..... | 17 |
| Tableau n°3 : Protocole du dosage des polyphénols..... | 27 |
| Tableau n°4 : Protocole du dosage des flavonoïdes..... | 28 |
| Tableau n°5 : Protocole du dosage de Tanins condensés. | 29 |
| Tableau n°6 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydante du DPPH..... | 31 |
| Tableau n°7 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydante du FRAP..... | 34 |
| Tableau n°8 : Protocole d'évaluation de l'effet d'extraits sur l'activité enzymatique de l' α amylase..... | 37 |
| Tableau n°9 : Caractéristiques et rendement des extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> | 38 |
| Tableau n° 10 : Résultats des tests phytochimiques de l'extraits aqueux..... | 39 |
| Tableau n°11 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait eau-acétone..... | 40 |
| Tableau n°12 : Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits des racines de <i>Ricinus communis</i> | 42 |
| Tableau n°13 : Effet antioxydant de l'acide ascorbique sur la réduction du DPPH (%)...... | 42 |
| Tableau n°14 : Effet antioxydant de l'extrait aqueux et eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> | 43 |
| Tableau n°15 : Effet du BHA sur la réduction du fer. | 4 |
| Tableau n°16 : Absorbances de l'effet des extraits aqueux et eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> | 45 |
| Tableau n°17 : Effet d'acarbose sur l'inhibition de l'activité de α -amylase (%). | 47 |
| Tableau n°18 : Effet des extraits aqueux et eau-acétone des racines de <i>Ricinus communis</i> sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase. (%). | 48 |

Introduction

La phytothérapie connaît de nos jours un regain d'intérêt tant dans le domaine des maladies internes qu'en dermatologie, en cosmétologie (savons, déodorants, shampoings), et en balnéothérapie (bains, compresses). Cette pratique est en relation étroite avec les récentes découvertes dans le domaine de la biochimie, la pharmacognosie, physiologie, et les substances isolées à partir de plantes connues pour leurs propriétés médicinales (**Marouf A et Reynaud J., 2007**).

À l'échelle mondiale, les plantes médicinales ont été utilisées comme source de médicaments dont 80 à 85 % des populations comptent sur ces plantes médicinales en utilisant les extraits ou leurs composants actifs comme médicament traditionnel pour répondre à leurs besoins de soins de santé primaires (**Elujoba AA et al., 2005**).

A cause de leur richesse en principes actifs qui sont des métabolites secondaires à propriétés thérapeutiques, l'usage des espèces végétales a suscité un grand intérêt dans le domaine de la recherche scientifique, elle s'intéresse à l'exploitation des plantes médicinales et le développement de nouvelles molécules bioactives d'origine végétale à intérêt thérapeutique pour traiter les maladies métaboliques, infectieuses, neurodégénératives, cancer et les maladies liées au stress oxydatif.

Plusieurs travaux scientifiques ont mis en valeur le pouvoir antioxydant, antidiabétique, anti-inflammatoire et antiinfectieux d'une centaine de plantes médicinales avec la caractérisation de leurs principes actifs thérapeutiques. *Taxus baccata* est à l'origine du taxol un alcaloïde anticancéreux, et la galéguine un antidiabétique isolé de *Galega officinalis*. Clous de girofle un puissant antibactérien et antioxydant. À l'échelle nationale *Asteriscus graveolens*, *Cymbopogon schoenanthus*, *Pituranthos scoparius* sont des plantes antioxydantes ; alors que *Anabasis articulata* et *Olea europaea* L sont des plantes antidiabétiques (**Hadouchi et al., 2016**) (**Belimi A et al., 2021**).

Dans cette étude nous sommes intéressés à l'étude des propriétés antioxydante et antidiabétique de *Ricinus communis* récoltée dans la région de Tlemcen. Notre travail expérimental regroupe deux parties, la partie phytochimique qui consiste à la préparation d'extraits aqueux et eau-acétone à partir des racines de *Ricinus communis* avec la détermination des composés phénoliques, la partie activités biologiques regroupe l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant des extraits et l'évaluation de l'activité antidiabétique en utilisant le test de l'activité de l' α -amylase.

Synthèse bibliographique

1 Les métabolites secondaires

Les espèces végétales grâce à des réactions chimiques ultérieures non liées directement à la photosynthèse produisent un nombre important de composés chimiques appelés les métabolites secondaires (Hopkins, 2003).

Ces métabolites sont des dérivés des métabolites primaires, et ils regroupent les polyphénols sont produits par la voie de l'acide shikimique et (acétate/malonate), les alcaloïdes qui dérivent des acides aminés, et les terpènes dérivés de la voie Isopenténylpyrophosphate IPP. La **figure n° 1** résume les voies de biosynthèse des métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires ne sont pas directement impliqués dans les processus vitaux de bases mais ils sont indispensables à la survie des plantes et leurs interactions avec l'environnement, car les plantes peuvent se défendre aux différentes attaques extérieures grâce à la production de ces métabolites (Anne-Geneviève Bagnères, 2017). La **figure n°2** présente fonctions des métabolites secondaires des plantes :

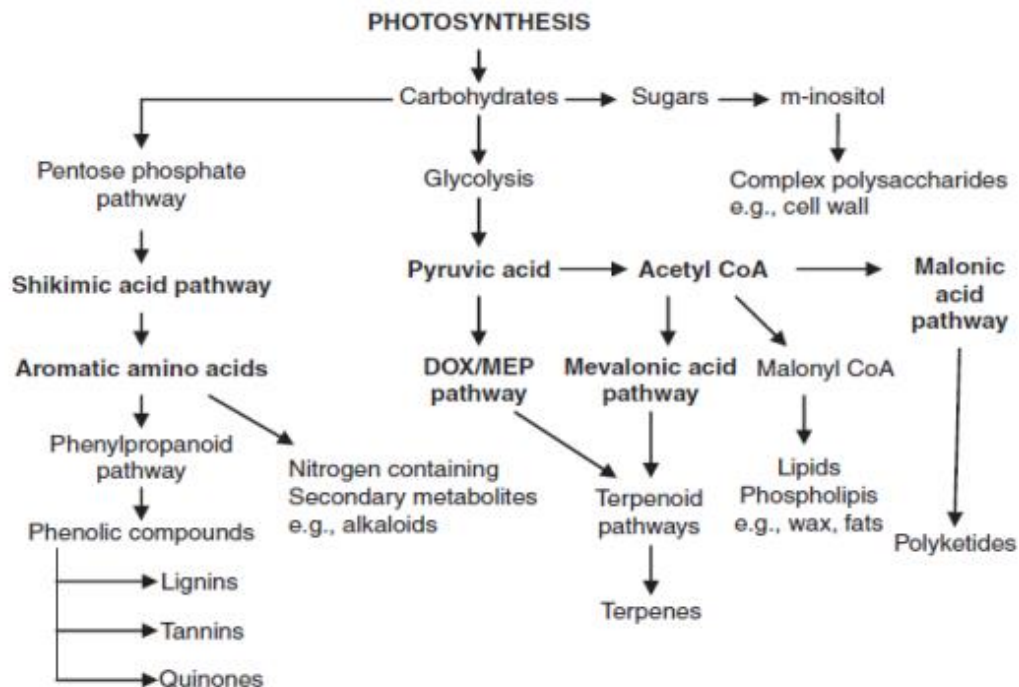


Figure n°1 : Principale voie de biosynthèse des métabolites secondaires (Ramawat, 2009).

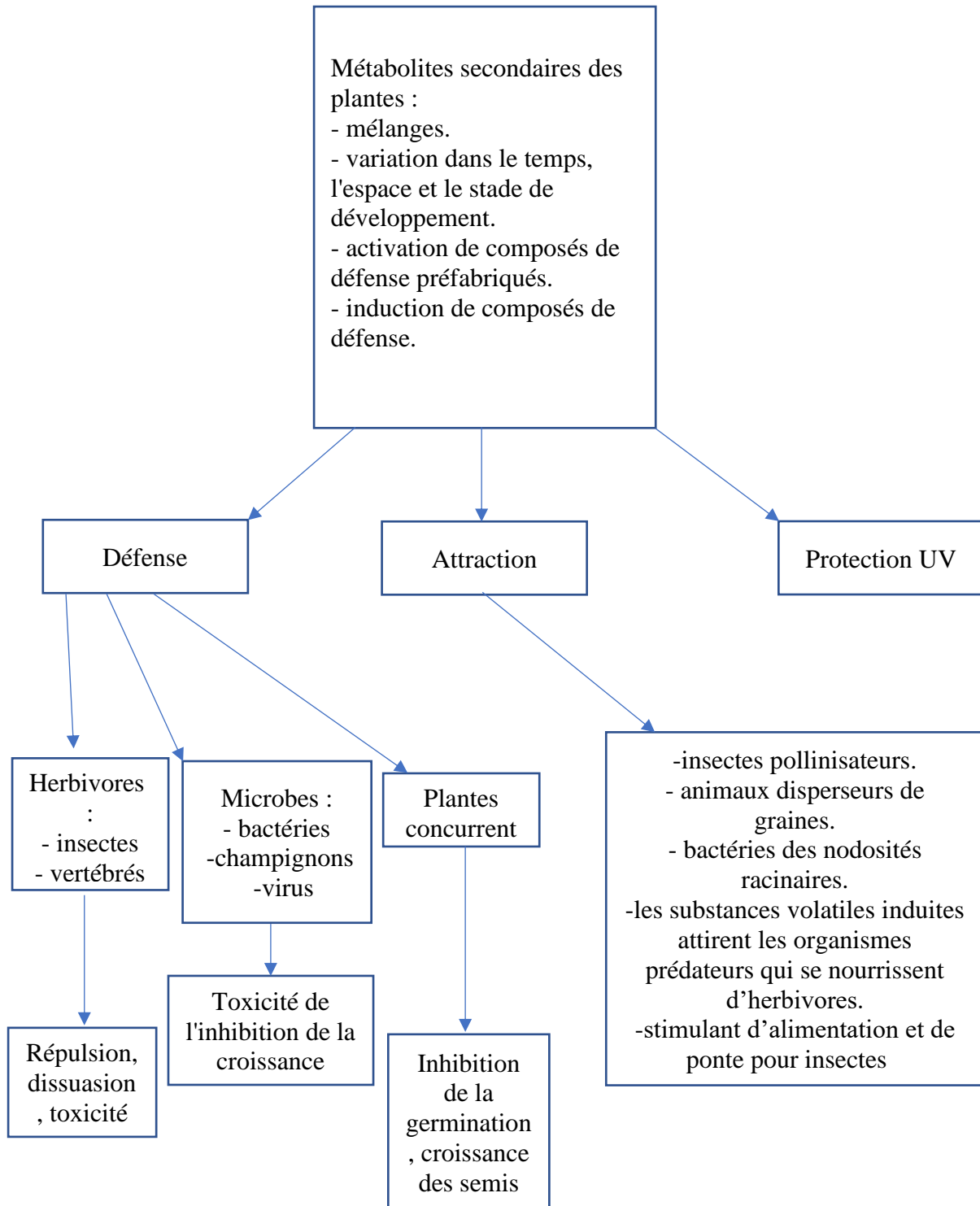


Figure n°2 : Fonctions des métabolites secondaires des plantes (Michael Wink, 1999)

On distingue classiquement trois grandes classes de métabolites secondaires chez les végétaux :

- Les composés phénoliques
- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés terpéniques

1.1 Les composés phénoliques

Ces composés sont retrouvés dans différentes parties de la plante, l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau aromatique benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle ; libre ou engagé dans une autre fonction : éther, hétéroside, ester (**Bruneton, Jean, 2009**).

Les substances phénoliques ont tendance à être solubles dans l'eau, car elles sont le plus souvent associées aux sucres sous forme de glycosides et elles sont généralement situées dans la vacuole cellulaire (**Harbome J, 1998**).

Les composés phénoliques issus de deux grandes voies. La voie shikimate est la plus courante conduit des oses aux amino-acides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acides benzoïques, coumarines, lignanes, lignines etc. Et la voie part de l'acétate et conduit à des poly β cétoesters de longueur variable (les polyacétates) qui engendrent par la réaction de Claisen ou la condensation aldolique (**Bruneton J, 2009**). Il existe des composés phénoliques d'origines mixtes telle que : les flavonoïdes, les tanins.

En se basant sur la structure carbonée de base, on peut résumer les principales classes de composés phénoliques comme suit dans le **Tableau n° 01**.

Tableau n°1 : Principales classes de composés phénoliques (Sarni-Manchado, 2006 ; Bruneton J, 2009).

| Squelette carboné | Classe | Exemple |
|--|---------------------------|----------------------------|
| C ₆ | Phénols simples | Hydroquinone |
| C ₆ -C ₁ | Acides hydroxy benzoïques | Acide parahydroxybenzoïque |
| C ₆ -C ₃ | Acides hydroxycinnamiques | Acide paracoumarique |
| | Coumarines | Ombelliférone |
| C ₆ -C ₄ | Naphtoquinones | Juglon |
| C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbénoides | Trans-resvératrol |
| | Flavonoïdes | Kaempférol |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | Isoflavonoïdes | daidzéine |
| | Anthocyanes | Dalphiniol |
| (C ₆ -C ₃) ₂ | Lignanes | Entérodiol |
| (C ₆ -C ₃) _n | Lignines | |
| (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n | Tanins condensés | Procyanidine |

1.1.1 Acides phénoliques

Le nom (acides phénoliques), en général décrit les phénols possédant une fonction carboxylique substitué sur un phénol, ils peuvent être divisés en deux groupes : les dérivés de l'acide cinnamique (**Figure n°3**) et benzoïque (**Figure n°4**), dans le premier groupe il y a entre autres l'acide férulique et caféique et sinapique, m-coumarique p-coumarique, o-coumarique, curcumine (dimer de l'acide férulique), et dans le deuxième groupe on trouve l'acides gallique, phydroxybenzoïque, vanillique, protocatéchique, salicylique, syringique, vétratrique, gentisique (**Thin Layer, 2008**).

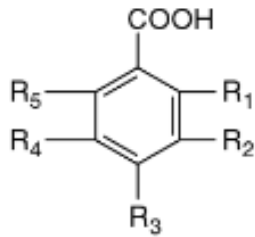


Figure n°3 : Structure chimique de l'acide cinnamique.

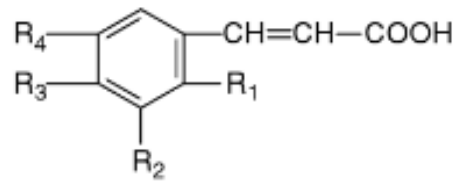


Figure n°4 : Structure chimique de l'acide benzoïque

Les composés phénoliques sont des composés non toxiques et se trouvent souvent dans de nombreuses plantes médicinales. Dans la bibliographie de nombreux travaux scientifiques ont confirmé le rôle protecteur des acides phénoliques dans les maladies dégénératives comme les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et l'inflammation, ils sont également caractérisés par leur pouvoir antioxydant (**Kumar N et al., 2018 ; Naresh Kumar et al., 2015 ; Hertog M. G et al., 1993 ; Scalbert A et al., 2005 ; Kumar N, 2016**).

1.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires formés d'un squelette à 15 atomes de carbones, partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones (C₆-C₃-C₆) (**Bruneton, Jean., 2009**). Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs sous-classes telles que : les flavonols qui existent principalement sous forme glycosylée et se caractérisent par un hétérocycle oxygéné relativement oxydé ; les flavones et les flavonoïdes, les tannins condensés, les prénylchalcones et les dihydrochalcones ainsi que les anthocyanes et les anthocyanidines (**Collin Sonia et al., 2011**).

Parmi les aliments riches en flavonoïdes on trouve le thé et le cacao, les flavanones sont des flavonoïdes spécifiquement présents, et en quantité importante dans les agrumes (**Morand C, 2014**). Les dernières découvertes sur les flavonoïdes naturels isolés de diverses écorces d'agrumes montrent que les flavonoïdes ayant un potentiel thérapeutique contre l'obésité ou le syndrome métabolique associé, ainsi que les mécanismes physiologiques et cellulaires sous-jacents (**Kaihui Lu et al., 2023**). Et le potentiel antioxydant de ces composés est plus important que la vitamine C et la vitamine E (**Prochazkova,D et al., 2011**).

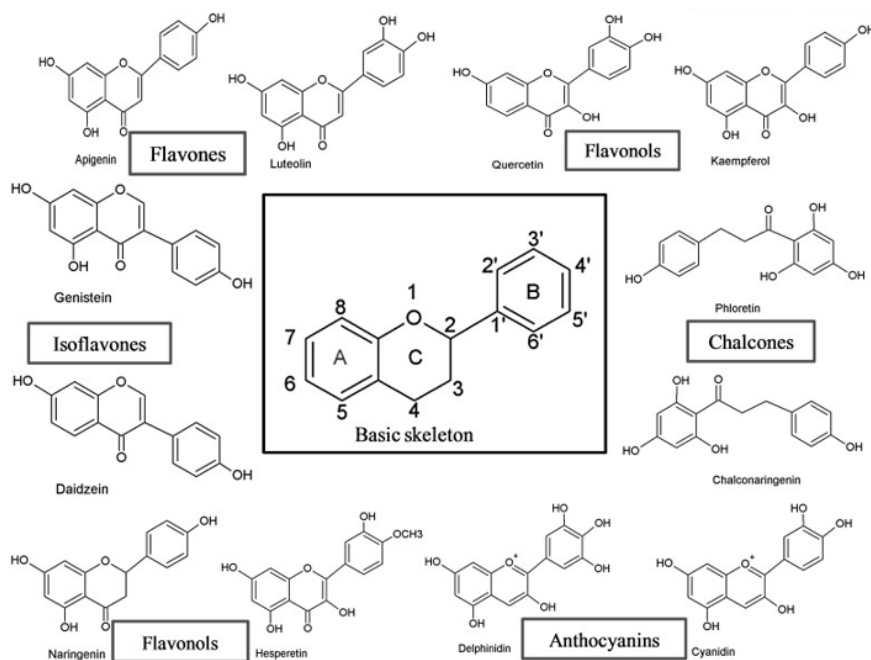


Figure n°5 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes (Panche AN et al., 2016).

1.1.3 Tanins

Ce sont des formes phénoliques condensées et qui sont capables de se lier et de faire précipiter les protéines solubles dans des solutions. Classiquement on distingue deux grands groupes des tanins différents : les tanins hydrolysables (**figure n°6**) et les tanins condensés (**figure n°7**) (Macheix ; Jean-Jacques et al., 2005).

Les tanins hydrolysables ou tanins galliques, sont des esters de glucose et d'acide gallique, ils sont constitués d'un noyau central, le glucose, et sur sa chaîne latérale (position 1,2,3,4 ou 6 sur le glucose) est fixé 1 à n monomère(s) d'acide gallique. Tandis que les tanins ellagiques sont des molécules plus rigides, de solubilité moindre, et caractérisés par la présence de l'acide hexa-hydroxy-diphénique (Jean-Louis, 2000).

D'une manière générale, les tanins hydrolysables se dissolvent plus ou moins dans l'eau (en fonction de leur poids moléculaire) en formant des solutions colloïdales à cause de leurs richesses en OH. Ils sont caractéristiques des dicotylédones, on les rencontre notamment chez les rosidae et ils sont distribués dans tous les organes : racines, tiges, feuilles, fruits avant maturité (Jean-Louis, 2000).

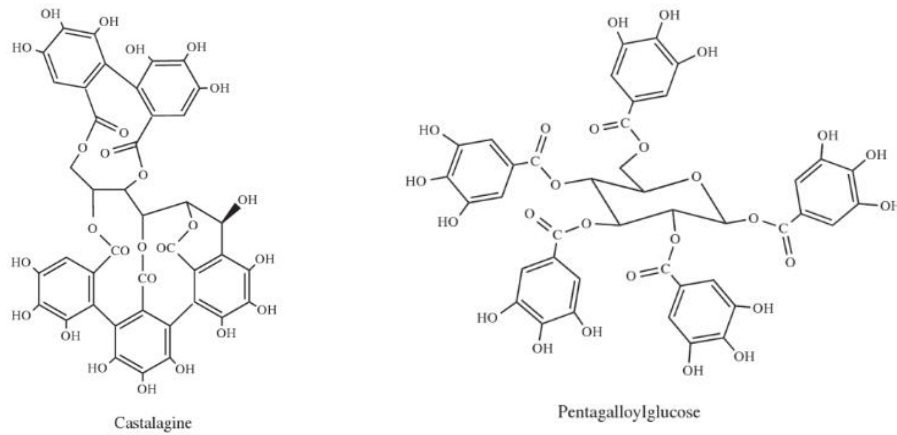


Figure n°6 : Deux exemples de tanins hydrolysables.

Les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+) -catéchine ou de ses nombreux isomères (Macheix ; Jean-Jacques et al., 2005).

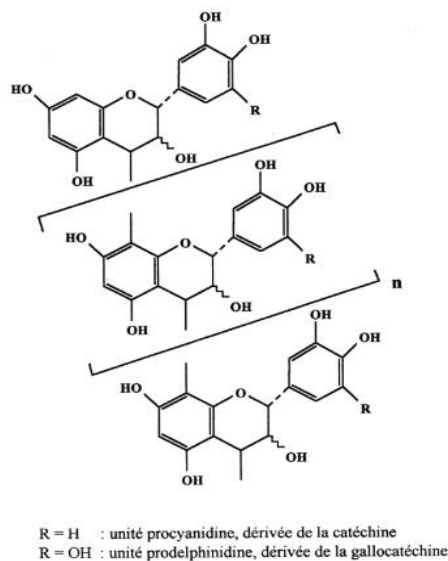


Figure n°7 : Structure chimique des tanins condensés

Les tanins condensés sont résistants à l'hydrolyse et seules les attaques chimiques fortes permettent de les dégrader contrairement aux tanins hydrolysables. Ces tanins sont répandus

dans certaines organes végétaux comme exemple dans les fruits (pomme, prune, fraise ...) et les boissons fermentées ou non fermentés (thé, vin ...) (**Macheix, Jean-Jacques et al., 2005**).

Généralement les tanins sont des inhibiteurs enzymatiques, ils sont caractérisés par plusieurs activités biologiques : antibactérien, antifongique, antiseptique etc. En application externe les tanins ont un effet vasoconstricteur en limitant la perte en fluide et en empêchant les agressions extérieures et favorisent la régénération des tissus en cas des blessures superficielle ou brulure. Particulièrement les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides induite par Acide désoxyribonucléique ADP et l'acide ascorbique sur les mitochondries hépatiques de rat *in vitro* (**Bruneton, Jean., 2009**).

1.2 Alcaloïdes

Les plantes forment de nombreux dérivés azotés particulier à une ou plusieurs espèces : polypeptides, bétalaïnes, bétaines ... parmi eux ; les alcaloïdes occupent une place particulière. Ils sont généralement salifiés par des acides organiques (malates, aconitates, tiglates...) ou combinés à des tanins (**Jean-Louis., 2000**). Les alcaloïdes contiennent un composé organique azoté (N). Il s'agit d'un groupe hétérogène de molécules organiques naturelles (**Xavier Gruffat., 2022**).

Il existe trois principaux types d'alcaloïdes : les vrais alcaloïdes, les proto-alcaloïdes, et les pseudo-alcaloïdes. Les alcaloïdes vrais et les proto-alcaloïdes sont des dérivés d'acides aminés, alors que les pseudo-alcaloïdes ne sont pas dérivés acides aminés (**Aniszewski T, 2007**).

Les alcaloïdes vrais dérivent d'acides aminés et partagent un cycle hétérocyclique contenant de l'azote, ce sont des substances qui ont une grande activité biologique et d'une nature hautement réactive, ils sont caractérisés par un goût amer à l'exception de la nicotine (**figure n°8**), qui est un liquide brun (**Aniszewski T, 2007**).

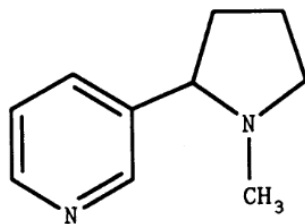


Figure n°8 : Un exemple des alcaloïdes vrais « nicotine ».

Les proto-alcaloïdes, ce type d'alcaloïdes contient un atome d'azote, qui est dérivé d'un acide aminé mais ne fait pas partie du système hétérocyclique. La yohimbine, la mescaline (**figure n°9**) et l'hordénine sont les principaux alcaloïdes de ce type. Ils sont utilisés pour traiter de nombreux problèmes de santé (**Chini C et al., 1992**).

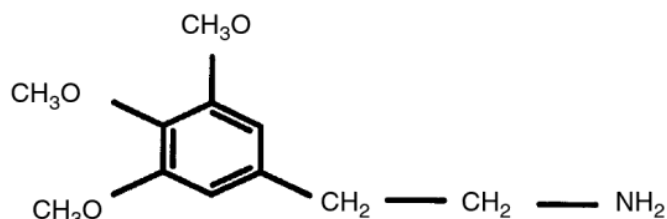


Figure n°9 : Un exemple des proto-alcaloïdes « mescaline ».

Les pseudo-alcaloïdes : Le squelette carboné de base des pseudo-alcaloïdes n'est pas directement dérivé des acides aminés, ils sont connectés aux voies des acides aminés proviennent à partir de précurseurs ou de post-curseurs d'acides aminés par une réaction d'amination ou de transamination (**Dewick PM et al., 2002 ; Jakubke H, 1994**). Ces alcaloïdes peuvent également être dérivés des autres précurseurs comme l'acétate et phénylalanine ou des terpénoïdes ainsi que des alcaloïdes stéroïdiens.

Des exemples des pseudo-alcaloïdes comprennent des composés tels que : la coniine, la capsaïcine, l'éphédrine, la solanidine, la caféine (**figure n°10**), théobromine et pinidine ... (**Aniszewski T, 2007**).

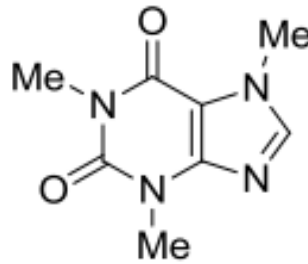


Figure n°10 : Un exemple des pseudo-alcaloïdes « la caféine ».

Les alcaloïdes peuvent avoir de précieuses propriétés en pharmacologie, ils sont considérés comme anti-cancéreux, antiparasitaires, antidouleurs etc. parmi les plantes médicinales riches en alcaloïdes : belladone jusquiame noire, petite pervenche, pavot, colchique d'automne (avec de la colchicine), coca (**Xavier G, 2022**). Les alcaloïdes importants tels que la boldine, la codéine, la narcéine et la morphine jouent un rôle important dans la thérapie clinique. La codéine est l'un des composés les plus populaires dans au moins 250 médicaments pharmaceutiques sur le marché (**Aniszewski T, 2007 ; Dräger B, 2008 ; Grzegorz G et al., 2008**).

1.3 Terpènes et stéroïdes

Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène (**figure n°11**) : ce sont des isoprénoïdes (**Jean-Louis, 2009**).

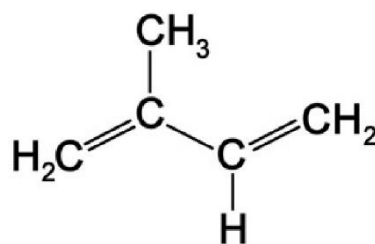


Figure n°11 : Structure d'isoprène.

Selon le nombre d'unités isopréniques on peut distinguer : les terpènes proprement dits ou monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀ (**figure n°12**), les triterpènes C₃₀ (**figure n°13**), les tétraterpènes C₄₀ (**figure n°14**), et les polyterpènes (4000).

Et les stéroïdes sont des triterpènes et les caroténoïdes sont des tétraterpènes (Jean-Louis, 2009).

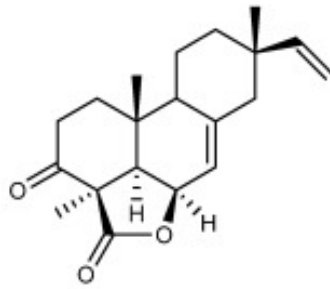


Figure n°12 : Un exemple des diterpènes « momilactone A »

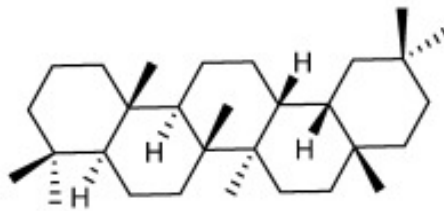


Figure n°13 : Un exemple des triterpènes « cucurbitacin I »

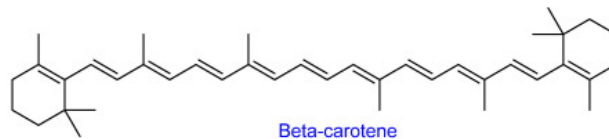


Figure n°14 : Un exemple des tetraterpènes « bêta-carotène ».

2 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est l'augmentation de la production des espèces réactive de l'oxygène (Jean Marie Reimund, 2002). C'est un déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant (Figure n°15) (Groussard, 2006), ce phénomène entraine une lésion biochimique au niveau des cellules de l'organisme et l'apparition des cassures au niveau de l'ADN (Papa Madièye Gueye, 2007).

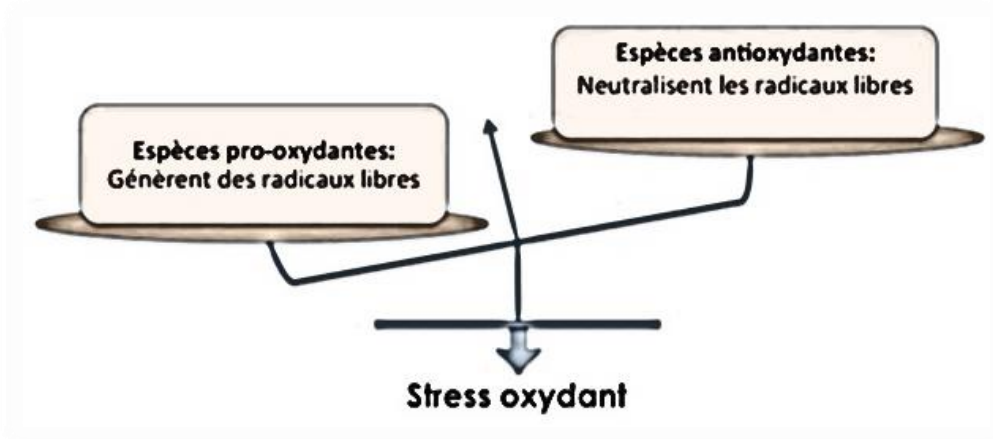


Figure n°15 : Balance radicaux libres /antioxydants (Baraka J, 2014).

2.1 Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique soit une molécule, soit un atome contenant un électron non apparié c'est-à-dire un seul électron sur l'orbital externe, cet électron célibataire offre une très grande réactivité chimique (Wolin et al., 2005 ; Jacques, Poortamans., 2009).

La figure n°16 présente les différents radicaux libres et leurs effets sur l'organisme.

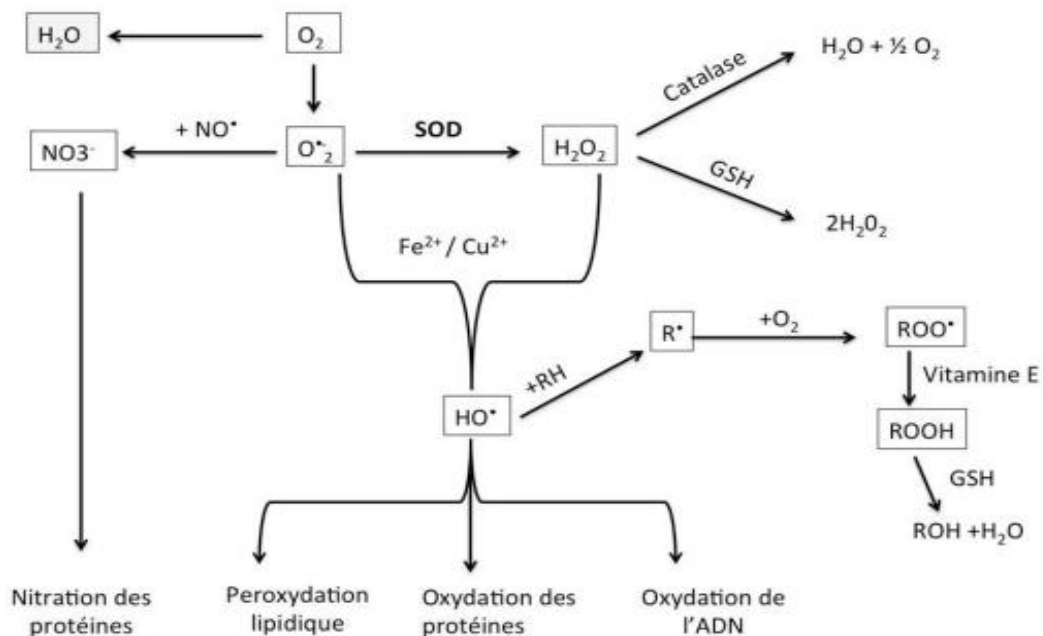


Figure n°16 : Origine des radicaux libres et leurs effets sur l'organisme (Favier, 2003).

2.2 Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules présentes à faible concentration par rapport au substrat oxydable (Arouma, 1996), sont des éliminateurs des radicaux libres, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés, et chélateurs des ions métalliques (Chew et al., 2009).

Pour se protéger des effets délétères des espèces oxygénées activées EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes, on distingue deux sources d'antioxydants : une source est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines E,C , caténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion etc. et l'autre source est endogène et se compose d'enzyme (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme exemple le sélénium ou le cuivre, le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng J et al., 2006). (Figure n°17) présente un exemple de composés phénoliques qui cède un atome H aux radicaux libres. Sa forme oxydée est stabilisée ensuite par résonance ou dimérisation (Odile P et al., 2005).

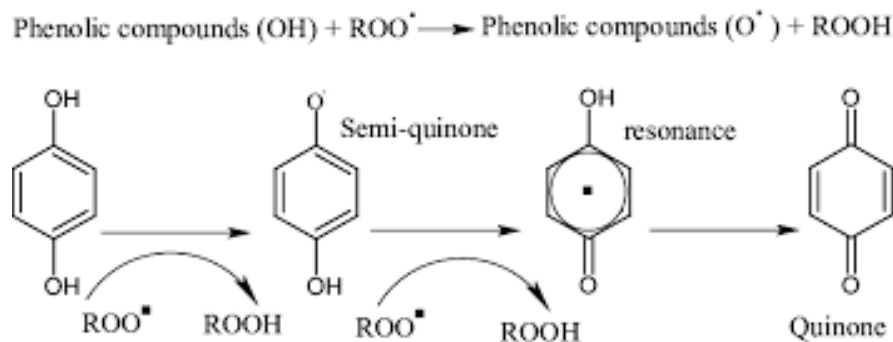


Figure n°17 : Activité principale des composés phénoliques : le piégeage de radicaux libres. (Odile P et al., 2005).

3 Les plantes antioxydantes

L'amélioration continue du niveau de vie est liée à des exigences plus élevées en matière de fraîcheur et de goût des aliments. On prend comme exemple les antioxydants phénoliques synthétiques (ASP) sont ajoutés aux graisses et aux aliments frits en tant qu'additifs

alimentaires pour minimiser le rancissement oxydatif des huiles et des graisses cependant les expériences sur des animaux ont montré que l'exposition à des doses élevées de (ASP) est toxique, ce qui peut entraîner des dommages et des inadéquations à l'ADN et le développement de tumeurs cancéreuses (Wanyi W et al., 2021). Pour cette raison un nombre croissant d'études soulignent l'importance des antioxydants naturels provenant d'un grand nombre de plantes qui pourraient être utilisés pour réduire les dommages oxydatifs, non seulement dans les aliments mais aussi dans le corps humain, cela pourrait fournir une protection contre les maladies chroniques, le cancer et les maladies cardiovasculaires.

Il existe de nombreuses plantes méditerranéennes qui se caractérisent par une activité antioxydante comme : *Arbutus unedo* (figure n°18), *Cynara scolymus* (figure n°19) : *Opuntia ficus-indica* (figure n°20), *Rosmarinus officinalis* (figure n°21), *Tragopogon porrifolius* (figure n°22), *Calendula arvensis* (figure n°23), *Thymus vulgaris* (figure n°24) etc.



Figure n°18 : *Arbutus unedo*
(Choucha S, Chabani D., 2016).



Figure n°19 : *Cynara scolymus*
(Genialvegetal, 2014).



Figure n°20 : *Opuntia ficus-indica* (FAO, 2018)



Figure n°22 :
Tragopogon porrifolius
(Genialvegetal, 2014).



Figure n°21 : *Rosmarinus officinalis* (Genialvegetal, 2014).



Figure n°23 : *Calendula arvensis* (Genialvegetal, 2014).



Figure n°24 : *Thymus vulgaris*
(Genialvegetal, 2014).

Le **tableau n°2** Résume quelques travaux sur l'effet antiradicalaire des extraits de quelques plantes médicinales antioxydantes.

Tableau n°2 : Quelques plantes médicinales ayant une activité antioxydante.

| Nom botanique | Nom commun | Préparation et solvant utilisé | Activité antioxydante | Référence |
|---|---------------|---|--|-----------------------------|
| <i>Aerva lanata</i> (L.) Schult | Pindi kura | Extrait éthanolique de la plante entière | DPPH | (Shirwaikar et al., 2004) |
| <i>Amaranthus viris</i> L | Chowlai | Extrait méthanolique de feuilles et de graines | DPPH | (Iqbal et al., 2012) |
| <i>Baliospermum montanum</i> (Willd.) Muell | Danti | Extrait méthanolique de feuilles | DPPH et ABTS | (Seethalaxmi et al., 2012) |
| <i>Coriandrum sativum</i> L | Coriander | Extrait méthanolique et aqueux de feuilles et de tiges | DPPH | (Wong et kitts., 2006) |
| <i>Cynodon dactylon</i> (L) Pers | Dhub grass | Extrait éthanolique et infusion d'eau de plante entière | Peroxydation des lipides et ABTS | (Auddy et al., 2003) |
| <i>Cyperus rotundus</i> L | Nut grass | Extrait d'acétate d'éthyle de plante entière | DPPH | (Kilani et al., 2005) |
| <i>Dendrocnide sinuata</i> (Blume) Chew | Fever nettle | Extrait méthanolique et aqueux de feuilles | DPPH | (Tanti et al., 2010) |
| <i>Desmodium gangeticum</i> (L) DC | Shalaparni | 50% extrait hydroalcoolique de partie aérienne | DPPH, oxyde nitrique, Peroxyde d'hydrogène (scavenging activity) | (Govindarajan et al., 2003) |
| <i>Evolvulus alsinoides</i> L | Morning glory | Extrait éthanolique et infusion d'eau de plante entière | Peroxydation des lipides et ABTS | (Auddy et al., 2003) |

4 Généralité sur la plante

4.1 Généralité sur *Ricinus communis* L

Ricinus communis est appelée en arabe kharouâa (Ghrabi, 2005). Le nom « *Ricinus* » signifie tique en latin : nommée la graine parce qu'elle a des marques et une bosse qui la fait ressembler à certaines tiques (Ramprasad, Bandopadhyay., 2010).

Ricinus communis fait partie de la famille des Euphorbiaceae, ce genre comprend 8100 espèces, cette plante est un arbre ou arbuste à grandes feuilles palmée (Malathi et al., 2006 ; Ladent, Mairesse., 2008) (Figure n°25).



Figure n°25 : Photo de *Ricinus communis* (Ghnimi, 2015).

4.2 Description botanique

Ricinus communis présente une forme d'une plante arbacée ou arborescente annuelle ou vivace suivant les conditions climatiques. Pouvant atteindre 7 m et plus de hauteur (Mario et Espirito., 2007). Cet arbuste est caractérisé par des feuilles grandes, palmatilobées avec 7 à 9 lobes, dentés, alternes, courbées, cylindriques, violacées (Manpre Rana et al., 2012), une tige : robuste dressé, cicatrice annulaire. Généralement glauque, rouge ou vert un peu fistuleux, lisse, ramifiée seulement dans le haut (Couplan et Styner., 1997). Les fleurs, sont monoïques, grandes, disposés sur le rachis épais d'un oblong, épineux panicule, fleurs mâles à courte tige (Manpre Rana et al., 2012) (figure n°26). Elle est également caractérisée par un fruit en forme de capsule à 3 coques hérissées, chacune contenant une graine ovale, marbrée. Ces capsules renferment 3 graines de couleur marron clair ou gris tachète de blanc (Coopman et al., 2009).

La graine est luisante, marbrée de rouge ou de brun, elle présente une ligne saillante sur la face ventrale, les graines contiennent entre 40 à 60% huile riche en triglycérides principalement la ricinoléine (Mario et al., 2007). Cette plante possède une racine pivotante, puissante à racines latérales marquées.



Figure n°26 : Représentation botanique de *Ricinus communis* (A : Les feuilles et les tiges, B : Les fruits, C : Les fleurs).

4.3 Répartition géographique

Elle est présente dans tous les continents africains du côté atlantique à la mer rouge et du sud de la Méditerranée à l'Afrique de sud (Maroyi, 2007). Ainsi que dans les îles de l'océan Indien (Tchoundjeu, 2007), il est développé en tant que plante ornementale, dans l'Asie, l'Amérique du Nord et l'Europe (Aslania et al., 2007). En Algérie, *Ricinus communis* poussé spontanément dans les lits d'oueds sur des hautes plateaux et atlas, même au Sahara (Trachain, 2016 ; Belharrane boumaza, 2014), sur le long des accotements, les champs en jachère et sur les bords de terres cultivées (Hammiche, 2013).

4.4 Classifications botanique (Anjani, 2005 ; Aslania *et al.*, 2007)

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphyte

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Euphorbiales

Famille : Euphorbiaceae

Genre : *Ricinus*

Espèce : *Ricinus Communis* L.

4.5 Composition chimique

La composition chimique des plantes appartenant au genre de *Ricinus* contiennent est riche et divers, elle contient les flavonoïdes qui sont présents au niveau des feuilles (**khafagy et al.,1979**), elle contient également des composés phénoliques comme l'acide gallique , l'acide gentisique , l'acide ellagique , et la quercétine (**Ghosh et al ., 2013**), les racines de cette espèce continent de l'acide indole-3-acétique (**Hall et Médlow ., 1975**).Les graines de Ricin contiennent 45% d'huile fixe, elles sont riche en glycosides , en acides ricinoléique, stéarique, en lipase et en alcaloïde notamment la ricinine (**khogali et al., 1992**). *R. communis* est caractérisée par la présence d'eau, des lipides et de 90% des protéines comme les pectines et l'albumines. La totalité de cette plante est toxique à cause de la présence de lectine glycoprotéique qui est connus sur le nom de ricine (**Garland et Bailey., 2006**).

4.6 Propriétés pharmacologiques de *Ricinus communis*

Ricinus communis ou plante de ricin est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle comme plante médicinale puissante (Jitendra, Ashish Kumar., 2012) à travers l'histoire l'anciennat égyptien de la guérison et précieusement conservé à la Bibliothèque de l'Université de Leipzig, est une description informative et unique datée du dernier quart du XVIe siècle av. En effet, il indique l'existence des expositions textuelles sur l'usage médical des plantes déjà à l'époque pharaonique., Le passage du texte (Eb 251) (colonne 47, ligne 15 - colonne 48, ligne 3) est souvent nommé "Livre Ricinus" et résume les applications curatives (figure n°27) de la plante ricin (voir le texte pour plus de détails). L'encre rouge est utilisée pour indiquer les en-têtes et les déclarations importantes ainsi que pour mettre en évidence les informations sur les quantités (image avec l'aimable autorisation de la bibliothèque de l'Université de Leipzig, collection Papyrus et Ostraka) (Franke et al., 2019).

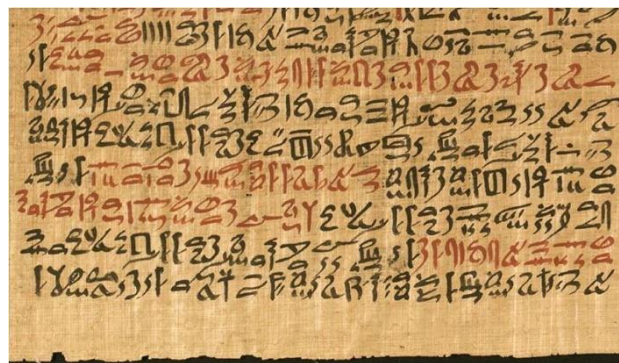


Figure n°27 : Le passage du texte (Eb 251) (colonne 47, ligne 15 - colonne 48, ligne 3) est souvent nommé "Livre Ricinus" et résume les applications curatives de la plante ricin (image reproduite avec l'aimable autorisation de la bibliothèque universitaire de Leipzig, collection Papyrus et Ostraka) (Franke et al., 2019).

Selon la bibliographie *Ricinus communis* est caractérisée par plusieurs propriétés pharmacologiques (Figure n°28), essentiellement son activité antimicrobienne contre une gamme des micro-organismes, comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus* (Abew et al., 2014). Elle est connue également par ces propriétés antiulcéreuses qui assure une activité cytoprotectrice et le renforcement de la muqueuse gastrique, ce qui aboutit finalement à l'amélioration de la défense muqueuse (Rachhadiya et al., 2011). L'activité anticancéreuse

de *R. communis* a été étudiée et rapportée par plusieurs chercheurs. Les premières études ont révélé l'effet cytotoxique des lectines du ricin sur trois lignées cellulaires différentes, les cellules HeLa, le sarcome 180 et les érythrocytes humains (Endo, Tsurugi., 1986). De même, il a été constaté que les extraits aqueux de *R. communis* présentaient des effets cytotoxiques sur les lignées cellulaires A375 (lignées cellulaires de cancer du mélanome humain) avec une valeur IC₅₀ de 48 µg/mL (Lin et al., 1986). L'huile végétale de ricin est un purgatif énergique (Couplan F, 1994).

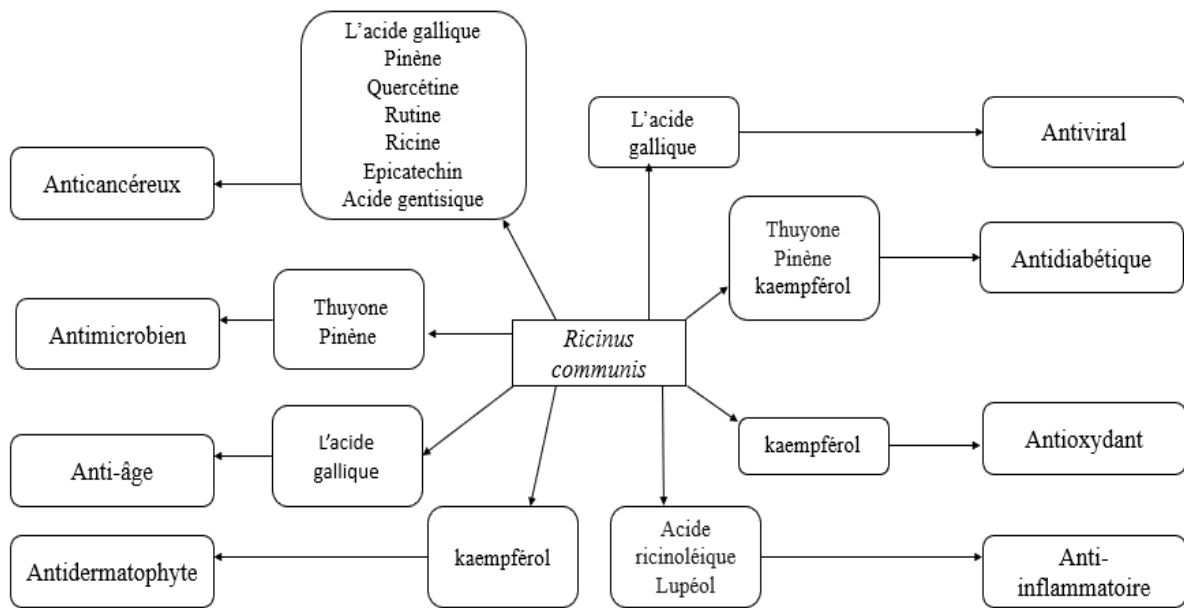


Figure n°28 : Les composés phytochimiques de *Ricinus communis* et leur activité pharmacologique (Abdul et al., 2018).

Matériel et méthodes

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche LAPSAB (Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique); au département de Biologie ; Faculté SNV-STU. ; Université Abou Bekr Belkaid ; Tlemcen.

Le protocole expérimental a été réalisé comme suit :

- ❖ Préparation des extraits des racines de *Ricinus communis* L, extrait aqueux et extrait eau-acétone.
- ❖ Screening phytochimique.
- ❖ Dosage des polyphénols totaux, de flavonoïdes, et des tannins condensés dans les extraits préparés.
- ❖ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits en utilisant le test de piégeage du radical libre DPPH, le test du FRAP.
- ❖ Evaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique des extraits préparés par le test d'inhibition de l'activité de α -amylase.

1 Etude phytochimique

1.1 Matériel végétal

Pour cette étude nous avons choisi les racines de *Ricinus communis* récoltées dans la région (Tounane Souahlia, wilaya de Tlemcen) (**figure n°29**), durant le mois de février 2023. Les racines récupérées ont été séchées à l'abri de la lumière pendant une semaine (**figure n° 30**). Dans la veille de la préparation des extraits le matériel végétal a été découpé en petites morceaux (**figure n° 31**).



Figure n°29 : Station de la récolte de *Ricinus communis* (Tounane, Souahlia).



Figure n°30 : Les racines récoltées de *Ricinus communis*.



Figure n°31 : Les racines découpées de *Ricinus communis* (photo prise au laboratoire).

1.2 Préparation de l'extrait aqueux de *Ricinus communis*

25 g du matériel végétal découpé est mélangé avec 300 ml de l'eau distillé dans un ballon d'extraction, ensuite l'ensemble est porté à une extraction par décoction (sous reflux et à chaud) à 100°C pendant 30 min. Après refroidissement, le décocté a été filtré. Le filtrat est séché dans étuve à 37°C, pendant 24 h. L'extrait est récupéré sous forme d'un produit sec.

1.3 Préparation de l'extrait eau-acétone des racines de *Ricinus communis*

25g du matériel végétal est mis en extraction par décoction dans 300 ml du mélange eau-acétone (V/V ; 30/70) dans un ballon (100°C) pendant 30 min. Après refroidissement ; le décocté a été filtré puis évaporé à sec au rotavapeur séché dans étuve à 37°C. L'extrait est récupéré sous forme de produit sec (**Figure n°32**).

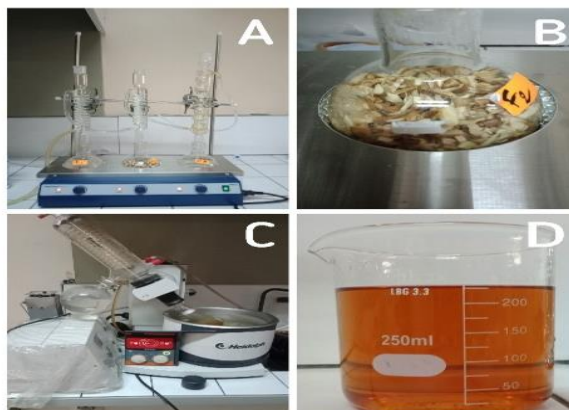


Figure n°32 : La préparation de l'extrait eau-acétone de *Ricinus communis* (photos prise au laboratoire). **A** : Montage d'extraction à chaud sous reflux ; **B** : Extraction par décoction ; **C** : L'extrait brut eau-acétone récupéré ; **D** : Evaporation à sec au rotavapeur pour l'extrait eau-acétone.

1.4 Screening phytochimique

Afin d'en mettre évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires, nous avons réalisé un screening phytochimique basé sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitations, utilisant les techniques méthodes décrites dans la littérature (**Harborne, 1998**).

a) Tanins

Dans un tube à essai, 1 ml de l'extrait à tester et ajouté 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1%). Le mélange est incubé pendant 5 min à température ambiante. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques, et la couleur bleu noirâtre indique la présence des tanins galliques.

b) Flavonoïdes

1ml de l'extrait est mélangé avec 1ml de l'acide chlorhydrique HCl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge, rose ou orange.

c) Saponosides

Test de mousse : Dans un tube à essai, 2 mL d'extrait mélangés avec 2 ml d'eau distillée, puis sont agités pendant 15 secondes. Laisser reposer pendant quelques minutes et mesurer la hauteur de la mousse produite dans le tube. Une hauteur de mousser, supérieur à 1 cm indique la présence des saponosides.

d) Alcaloïdes

Dans deux tubes, mélanger 0,5ml de l'extrait à tester avec quelques gouttes de HCl (1%), et ajouter 0,5ml de réactif de Mayer dans le premier tube, et 0,5ml réactif de Wagner dans le deuxième tube. L'apparition d'un précipité blanc (réactif Mayer) ou brun (réactif Wagner) révèle la présence des alcaloïdes.

e) Terpénoïdes

Test de Slakowski : Dans un tube à essai, introduire 1ml de l'extrait à tester, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique. La formation de deux phases et un couleur marron à l'interphase induire la présence des Terpénoïdes.

f) Quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait a testé et ajouter 0.1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui varie en jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

g) Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH_4OH (1%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

h) Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1ml d'extrait à tester et incuber l'ensemble 8 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

1.5 Calcul du rendement des extraites

Le rendement d'une extraction est la quantité du produit sec récupéré à partir de la quantité de départ du matériel végétal, il été exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

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

R : rendement exprime en %

m : La masse de l'extrait récupéré.

M : La masse de la matière végétale sèche initiale.

2 Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode de Folin-Ciocalteu. L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des substances phénoliques, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène de couleur bleu ayant une absorption maximale entre 750-760 nm, et proportionnelle à la quantité de composés phénoliques oxydés (**Benariba et al., 2013 ; Gheffour et al., 2015**).

Mode d'opération (Benariba et al., 2013)

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon le protocole suivant : 0,1 ml de chaque extrait préparé à 1mg/ml est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2%. Après incubation pendant 5min à température ambiante, on ajoute 100 μL du réactif de Folin-Ciocalteu (0,2N) au mélange. Les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min (**Tableau n°3**), ensuite l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un tube blanc.

En parallèle une gamme étalon a été réalisée dans les même conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations comme contrôle positif et (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 $\mu\text{g/ml}$).

Tableau n°3 : Protocole du dosage des polyphénols.

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|----------------|--------------|
| Concentration n acide gallique (µg/ml) | 50 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | 600 | 700 | 800 | 900 | 1000 | Extrait | Blanc |
| Acide gallique (ml) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | | |
| Extrait (ml) | | | | | | | | | | | | 0,1 | |
| Eau distillée (ml) | | | | | | | | | | | | | 0,1 |
| Na₂CO₃ (2%) (ml) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 1^{ère} incubation à température ambiante ; pendant 5min | | | | | | | | | | | | | |
| Folin- ciocalteu 0,2 N (ml) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | |
| 2^{ème} incubation à température ambiante ; à l'obscurité ; pendant 30 min | | | | | | | | | | | | | |
| Mesure de l'absorbance aux spectrophotométries à 700 nm | | | | | | | | | | | | | |

Les résultats obtenus exprimés en microgramme équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E) sont calculés selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a.f/C$$

a : concentration finale des polyphénols déterminée à partir de la courbe d'étalon (µg/ml).

f : facteur de dilution (22).

C : concentration de l'extrait (1 mg/ml).

3 Dosage des flavonoïdes

Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits a été estimée par une méthode colorimétrique en utilisant le chlorure d'aluminium (AlCl₃) et la d'hydroxyde de sodium (NaOH). En effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre, en présence du chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre se forme suite à la chélation de l'ion Al⁺, ce complexe est absorbé à 510 nm (Adjdir, 2022).

Mode opératoire (Benariba et al., 2013)

250 µl d'extrait préparé à une concentration de 1 mg/ml est mélangé avec 1ml d'eau distillé et 75 µl d'une solution de nitrate de sodium (NaNO₂ à 15%). Après incubation pendant 6 min à température ambiante, on ajoute 75 µl de chlorure d'aluminium (AlCl₃ à 10%), ensuite une deuxième incubation pendant 6 min à température ambiante, et on ajoute 1ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 4%). Le volume final est complété à 2500 µl par l'ajout de 100 µl d'eau distillé. Après agitation, les tubes sont incubés pendant 15 min à température ambiante et l'absorbance est mesurée à 510 nm contre un tube blanc (**Tableau n°4**).

Tableau n°4 : Protocole du dosage des flavonoïdes.

| Concentration catéchine (µg/ml) | 20 | 50 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | Extrait | Blanc |
|--|------|------|------|------|------|------|------|---------|-------|
| Catéchine (µl) | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | | |
| Extrait (µl) | | | | | | | | 250 | |
| Eau distillée(µl) | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| NaNO ₂ 15% (µl) | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 |
| 1^{ère} incubation pendant 6 min à température ambiante | | | | | | | | | |
| AlCl ₃ 10%(µl) | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 |
| 2^{ème} incubation pendant 6min à température ambiante | | | | | | | | | |
| NaOH 4%(µl) | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Ajuster le volume total à 2500 µl | | | | | | | | | |
| 3^{ème} incubation pendant 15 à température ambiante | | | | | | | | | |
| Lecture au spectrophotomètre à 510 nm | | | | | | | | | |

Une catéchine à différentes concentrations (20, 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/ml). La teneur en flavonoïdes présent dans les différents extraits exprimés en microgrammes équivalent de catéchine par milligrammes d'extrait (µg EC/mg E) est déterminée selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = a \cdot f/C$$

a : concentration de flavonoïdes déterminée à partir de la courbe étalon (µg/ml).

f : facteur de dilution (10).

C: concentration de l'extrait (1 mg/ml).

4 Dosage des tanins condensés

Principe

Les méthodes de dosage utilisées sont basées sur la réaction des tanins avec la vanilline. En effet, la vanilline réagit avec les flavan 3-ols (ou la catéchine) libres et les unités terminales des tanins condensés donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu ayant un maximum d'absorption à 500 nm (Schofield et al., 2001).

Mode d'opération (Benariba et al., 2013)

On mélange 50µl de chaque extrait préparé à 10 mg/ml avec 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4% ; P/V). Ensuite on ajoute 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré dans chaque tube. Après incubation des tubes pendant 20 min à température ambiante, on mesure l'absorbance à 550nm contre un tube blanc au spectrophotomètre (**Tableau n°5**).

Tableau n°5 : Protocole du dosage de Tanins condensés.

| Concentration catéchine (µg/ µL) | 50 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | 600 | 700 | 800 | 900 | 1000 | Extrait | Blanc |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------|-------|
| Catéchine (µl) | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | | |
| Extrait (µl) | | | | | | | | | | | | 50 | |
| Eau distillée (µl) | | | | | | | | | | | | | 50 |
| Vanilline (µl) | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 | 1500 |
| Agitation des tubes | | | | | | | | | | | | | |
| HCL (µl) | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 | 750 |
| Incubation à température ambiante pendant 20 min | | | | | | | | | | | | | |
| Mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à 500 nm | | | | | | | | | | | | | |

Un courbe étalon de catéchine a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à différentes concentrations (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 µg/ml). La teneur en tanins présent dans les différents extraits exprimés en

microgrammes équivalent de catéchine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EC/ mg E}$) est déterminée selon la formule suivante :

$$[\text{Tanins}] = \mathbf{a. f/C}$$

a : concentration finale des Tanin déterminée à partir de la courbe d'étalon ($\mu\text{g/ml}$).

f : facteur de dilution (46).

C : concentration de l'extrait (10 mg/ml).

5 Evaluation des activités biologiques

5.1 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits eau-acétone et aqueux de *Ricinus communis* L

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la mise en évidence de l'activité antioxydante des plantes médicinales *in vitro*. Dans notre étude nous avons évalué l'effet antioxydant des extraits aqueux et eau acétone de *Ricinus communis* par le test de piégeage du radical libre (DPPH) et le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP).

5.1.1 Test de piégeage du radical libre DPPH

Principe

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée par le test anti-radicalaire sur le DPPH (Benariba et al., 2013). Le principe de ce test est basé sur la réduction du radical DPPH de couleur violette en DPPH'H de couleur jaune en présence des composés antioxydants, mesurable à 515nm (Tanoh et al., 2019), (Figure n°33).

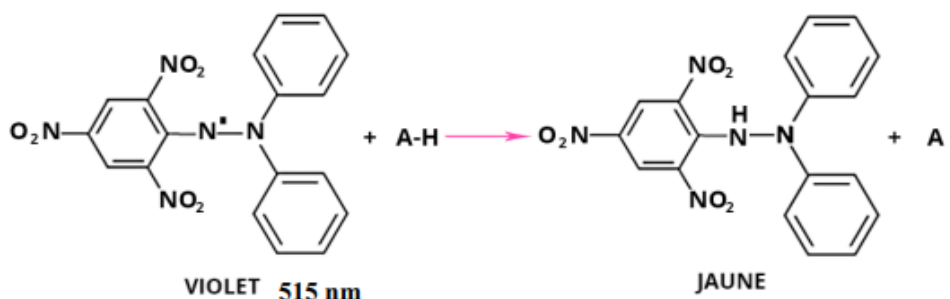


Figure n°33 : Mécanisme réactionnel du test DPPH (Adjdir S, 2022).

Mode opératoire

L'effet de chaque extrait sur le DPPH a été réalisé en triplicata selon le protocole suivant : (Benariba et al., 2013) (Tableau n°6).

- Préparation du DPPH à la concentration de 0,0025 mg/ml dans 100 ml de méthanol.
- Préparation des extraits à différentes concentrations (20, 40, 80, 100, 150, 250 µg/ml)
- A 1950 µl de la solution du DPPH ; on ajoute 50 µl de chaque extrait.
- Le tube blanc de chaque concentration d'extrait contient 1950 µl du méthanol et 50 µl de l'extrait correspondant.
- Le tube control négatif contient 50 µl du méthanol avec 1950 µl de la solution du DPPH.
- Le tube blanc contient 2 ml du méthanol.
- Incubation de l'ensemble des tubes à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min.
- Mesure de l'absorbance à 517 nm contre le tube blanc au spectrophotomètre.

Le contrôle positif utilisé dans ce test est l'acide ascorbique testés à différentes concentrations (20, 40, 80, 120, 160, 200 µg/ml).

Tableau n°6 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydante du DPPH.

| Concentration Acide ascorbique (µg/ml) | 20 | 40 | 80 | 120 | 160 | 200 | Extrait | Control négatif |
|--|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|----------------|------------------------|
| Acide ascorbique (µl) | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | | |
| Les extraits (µl) | | | | | | | 50 | |
| Méthanol (µl) | | | | | | | | 50 |
| DPPH(µl) | 1950 | 1950 | 1950 | 1950 | 1950 | 1950 | 1950 | 1950 |
| Incubation pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité | | | | | | | | |
| Mesure de l'absorbance à 517 nm | | | | | | | | |

Les résultats obtenus représentent la moyenne des trois essais pour chaque concentration testée de l'extrait, dont le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{DPPH}\% = ((\text{DO}_{\text{cont}} - \text{DO}_{\text{ext}}) / \text{DO}_{\text{cont}}) \times 100$$

DPPH% : Pourcentage de réduction du DPPH.

DO_{cont} : Absorbance du tube contrôle négatif.

DO_{ext} : Absorbance de l'extrait.

La valeur de IC₅₀ qui représente la concentration du substrat responsable de la réduction de 50% de la forme radicalaire du DPPH, a été déterminée à partir de l'équation de la régression logarithmique du *DPPH* (%) = *f*(C). Plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante de l'échantillon est élevée.

5.1.2 Test du pouvoir réducteur de Fer (FRAP : *Ferric reducing antioxidant power*)

Principe

Le pouvoir réducteur de fer des différents extraits a été réalisé par le test de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆. Ce test est basé sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présente dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). Cette réaction est révélée par l'addition du FeCl₃ dans le milieu qui forme avec le (Fe²⁺) un complexe de couleur bleu-vert appelé le complexe de bleu de prussien (**Figure n°34**), caractérisé par un maximum d'absorbance à 700 nm (**Bougandoura et al., 2013**).

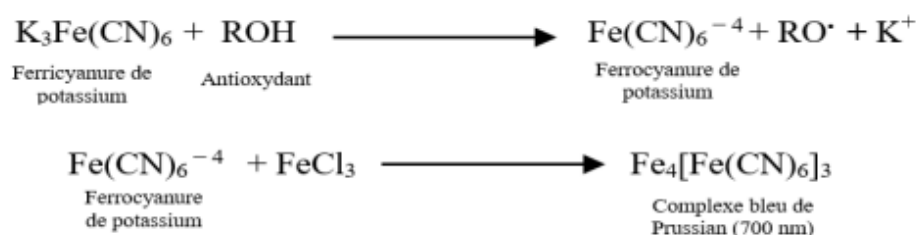


Figure n°34 : Mécanisme réactionnel de pouvoir réducteur de fer (FRAP) en utilisant le ferricyanure de potassium (**Apak et al., 2016 ; Sadeer et al., 2020**).

Mode opératoire

L'évaluation de l'activité antioxydante par la réduction du fer a été réalisée selon le protocole suivant (Karagozler et al., 2008) (Tableau n°7) :

- 100 μ l de l'extrait à différentes concentrations (20, 40, 80, 100, 150, 250 μ g/ml) est mélangé avec 250 μ l d'une solution tampon phosphate 0,2M (pH = 6,6) et 250 μ l d'une solution de $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- Incubation des tubes dans l'étuve à 50°C pendant 20 min.
- Après refroidissement des tubes à température ambiante, 250 μ l d'acide trichloracétique (10 %) ont été ajoutés pour arrêter la réaction ensuite, les tubes sont centrifugés à 2000 tours/minute pendant 10 minutes.
- 500 μ L du surnageant, est mélangé avec 500 μ l d'eau distillée et 100 μ l d'une solution de $(FeCl_3, 6H_2O)$ à 0,1%, ensuite on mesure les absorbances contre un tube blanc à 700 nm au spectrophotomètre.

Le BHA (Butyl-Hydroxy-Anisol) est utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations (20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 μ g/ml).

Tableau n°7 : Protocole d'évaluation de l'activité antioxydante du FRAP.

| Concentration BHA (µg/ml) | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 | 200 | it Extra | Blanc |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| BHA (ml) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | | |
| Extraits (ml) | | | | | | | | | | | 0,1 | |
| Eau distillée (ml) | | | | | | | | | | | | 0,1 |
| PBS (0,2 N ; pH= 6,6) (ml) | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 |
| K ₃ Fe (CN) ₆ 1% (ml) | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 |
| Incubation dans l'étuve pendant 20 min à 50°C | | | | | | | | | | | | |
| TCA 10% (ml) | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 | 0,2 5 |
| Centrifugation des tubes pendant 10min à 2000 tour/min | | | | | | | | | | | | |
| Surnageant (ml) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Eau distillée (ml) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| FeCl ₃ 0,1%(ml) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Mesure de l'absorbance à 700 nm | | | | | | | | | | | | |

La concentration efficace correspondante à 0,5 d'absorbance (EC₅₀) est déterminée à partir de l'équation de courbe de régression logarithmique ou linéaire d'absorbance en fonction des concentrations de l'extrait $A=f(C)$.

5.2 Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de *Ricinus communis*

L'évaluation de l'activité antidiabétique des extraits des plantes étudiées a été réalisée *in vitro* en utilisant le test d'inhibition de l'activité de α -amylase.

5.2.1 Evaluation de l'effet des extraits eau-acétone et aqueux sur l'activité de l' α -amylase

Principe

L'incubation de la solution d'enzyme α -amylase avec la solution de l'amidon permet l'hydrolyse du substrat et la libération des sucres réducteurs qui sont déterminée par la méthode de **Bernfeld (1955)**. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation des sucres réducteurs provoque la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA) de couleur jaune orange en acide 3-amino-5-nitrosalicylique de couleur rouge orange, le DNSA qui absorbe à 540 nm (**Adjdir, 2022**) (**Figure n°35**).

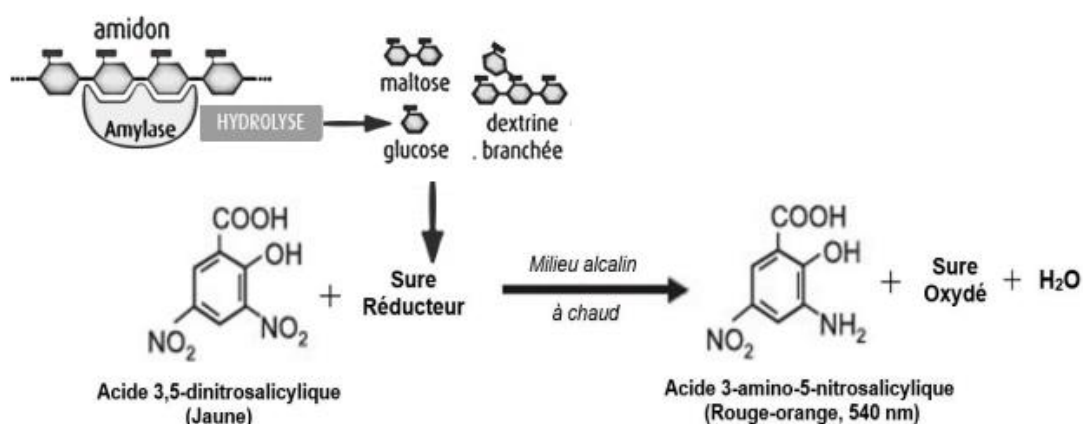


Figure n°35 : Mécanisme d'hydrolyse de l'amidon par α -amylase et réduction du DNSA par les sucres réducteurs (**Adjdir, 2022**).

Préparation des réactifs (**Benfeld, 1955**)

➤ Solution de l' α -amylase

L'enzyme utilisée est α -amylase (E.C.3.2.1.1) du pancréas du porc (PPA) sous forme lyophilisée, son poids moléculaire est de 13000 Da avec une activité spécifique de 13 UI/mg, conservée à +4°C. 3 mg de PPA sont solubilisés dans 10 ml de solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9). La solution obtenue contient une activité de 1,3 UI/ml. L'activité optimale de cette enzyme est à pH 6,9 et à 37 C°.

➤ **Solution du substrat**

Le substrat utilisé est l'amidon soluble. La solution d'amidon est préparée dans la solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9) à une concentration de 0,5%.

➤ **Réactif 3,5-Di Nitro Salicylique Acide (DNSA)**

1 g de DNSA est solubilisé dans 40 ml d'eau distillée préchauffé à 60°C, dans cette solution 30 g de tartrate double sodium-potassium est ajoutée sous agitation dans 20 ml de NaOH (2N) préalablement chauffé à 60°C. La solution obtenue est de couleur orange et le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à +4°.

➤ **Solution tampon phosphate (0,02 M ; pH=6,9)**

On prépare la solution tampon à partir de la solution monobasique (NaH_2PO_4) et la solution dibasique (Na_2HPO_4), dont 1,68 g de Na_2HPO_4 est solubilisé dans 700 ml d'eau distillée et 1,136 g de NaH_2PO_4 est solubilisé dans 400 ml d'eau distillée. Ensuite, 700 ml de Na_2HPO_4 est mélangé avec 400 ml de NaH_2PO_4 pour préparer le tampon phosphate à la concentration 0,02 M et au pH=6,9.

➤ **Solution d'acarbose**

L'acarbose est un pseudo-tétra-saccharide d'origine microbienne. Il est utilisé dans cette expérience comme contrôle positif, afin de comparer son activité vis-à-vis de l' α -amylase. Un comprimé de 50 mg de l'acarbose (Larimel) est solubilisé dans 50 ml du tampon phosphate sous agitation afin d'avoir la concentration 1mg/ml, à partir de cette solution mère on prépare des dilutions (20, 40, 80, 120, 160, 200 $\mu\text{g/ml}$).

➤ **Solution des extraits de *Ricinus communis***

Les concentrations d'extrait eau-acétone (0, 5, 1, 2, 4, 6, 10 $\mu\text{g/ml}$) et les concentrations d'extrait aqueux (6,10, 15, 20, 25, 30 $\mu\text{g/ml}$) a été préparées dans la solution tampon phosphate (0,02 M ; pH=6,9) afin d'évaluer leur effet sur l'activité de l' α -amylase.

Mode opératoire

On prépare une gamme de concentration des deux extraits aqueux et eau-acétone et ensuite on teste l'effet de chaque concentration sur l'activité enzymatique de l' α -amylase. Le **tableau n°8** résume le mode opératoire de ce test.

Tableau n°8 : Protocole d'évaluation de l'effet d'extraits sur l'activité enzymatique de l' α amylase.

| Tube extrait | Tube blanc extrait | Tube contrôle | Tube blanc contrôle |
|---|--|---------------------------------------|------------------------------------|
| 200 μ l extrait 200 μ l enzyme | 200 μ l extrait 200 μ l PBS | 200 μ l PBS 200 μ l enzyme | 200 μ l PBS 200 μ l PBS |
| Incubation pendant 10 min à 37°C dans l'étuve | | | |
| 200 μ l amidon | 200 μ l amidon | 200 μ l amidon | 200 μ l amidon |
| Incubation pendant 15 min à 37°C dans l'étuve | | | |
| 600 μ l DNSA | 600 μ l DNSA | 600 μ l DNSA | 600 μ l DNSA |
| Dénaturation de l'enzyme au bain marie pendant 8min à 100°C suivi par un choc thermique au bain de glace à 3 min | | | |
| 1000 μ l eau distillée | 1000 μ l eau distillée | 1000 μ l eau distillée | 1000 μ l eau distillée |
| Mesure l'absorbance à 540 nm | | | |

L'inhibition de l' α amylase est exprimée par un pourcentage d'inhibition calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de l}'\alpha\text{-amylase} = ((\text{DO}_{\text{contrl}} - \text{DO}_{\text{éch}}) / \text{DO}_{\text{contrl}}) * 100$$

(%) : Pourcentage d'activité d' α amylase.

DO_{contrl}: Densité optique du tube contrôle.

DO_{éch} : Densité optique de tube échantillon.

Les valeurs de IC₅₀ qui correspond à la concentration inhibitrice de 50% de l'activité enzymatique sont calculées à partir des équations de régressions linaires des courbes

représentants les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits α -*amylase* (%) = $f(C)$.

Résultats et Interprétations

1 Rendements des extraits des racines de *Ricinus communis*

Les extraits sont récupérés sous forme d'une poudre d'une couleur marronne et une odeur caractéristique, qui absorbe rapidement l'humidité et donne un aspect visqueux à l'extrait.

Les extraits sont solubles dans l'eau distillée et le mélange eau-acétone (70/30). Les résultats obtenus après l'évaporation dans l'étuve (40°C) montrent que l'extrait aqueux donne le meilleur rendement (13,78%) que l'extrait eau-acétone (8,88%). Les caractéristiques et les rendements des extraits préparés sont représentés dans le **tableau n°9**.

Tableau n°9 : Caractéristiques et rendement des extraits des racines de *Ricinus communis*

| L'extrait | Rendement (%) | Aspect | Couleur | Solubilité totale |
|---------------------|---------------|--------|---------|---------------------|
| Aqueux | 13,78 % | Poudre | Marron | Eau distillée |
| Eau-acétone (30/70) | 8,88 % | Poudre | Marron | Eau-acétone (70/30) |

2 Screening phytochimique des extraits de *Ricinus communis*

Les résultats du screening phytochimique des extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis* sont regroupés dans la **figure n°36** et le **tableau n°10 et 11**.

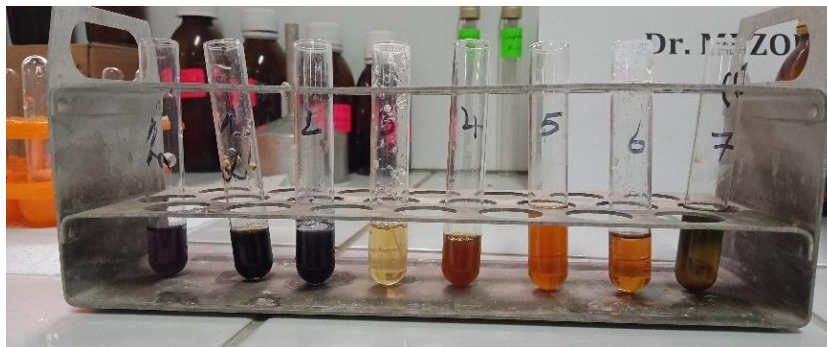


Figure n°36 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait aqueux.

Tableau n°10 : Résultats des tests phytochimiques de l'extraits aqueux.








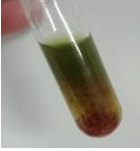



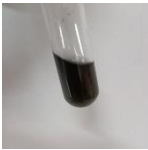



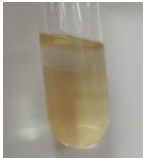


| Les composés testés | Résultats | | L'interprétation | |
|---|--|---|------------------|---|
| Alcaloïdes |  Mayer |  Wagner | (-) | Absence de précipité blanc aux niveaux des tubes ce qui indique l'absence des alcaloïdes dans l'extrait aqueux brut |
| Tanins |  | | (+ +) | Apparition d'une coloration bleu noirâtre dans le tube indique la présence des tanins galliques dans l'extrait aqueux |
| Flavonoïdes |  | | (+ +) | Apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavones. |
| Quinones libres |  | | (+) | Apparition d'une coloration qui vire au jaune indique la présence des quinones libres dans l'extrait aqueux |
| Anthraquinones |  | | (-) | Apparition d'une couleur orange ce qui signifie l'absence de l'anthraquinone au niveau de l'extrait aqueux |
| Terpénoïdes |  | | (+) | Apparition d'un couleur marron à l'interphase indique la présence des trapénoïdes. |
| Composés réducteurs |  | | (+ +) | Apparition d'un précipéte rouge brique indiquela présence des composés reducteurs dans l'extrait aqueux |
| Saponosides |  | | (+ +) | L'apparition d'une mousse de 4cm d'hauteur indique la richessede l'extrait aqueux en saponosides |
| (+ +) : fortement présent ; (+) : moyennement présent ; (-) : absence | | | | |

Tableau n°11 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait eau-acétone.

| Composés testés | Résultats | | Interprétation | |
|---|---|---|-----------------------|---|
| Alcaloïdes |  |  | (-) | Absence de précipité blanc aux niveaux des tubes, ceci indique l'absence des alcaloïdes dans l'extrait eau-acétone. |
| | Mayer | Wagner | | |
| Tanins |  | | (+ +) | Apparition d'une coloration bleu noirâtre dans le tube indique la présence des tanins galliques dans l'extrait eau-acétone. |
| Flavonoïdes |  | | (+ +) | Apparition d'une coloration jaune signifie la présence des flavones dans l'extrait eau-acétone. |
| Quinones libres |  | | (+ +) | Apparition d'une coloration qui vire au jaune indique la présence des quinones libres dans l'extrait eau-acétone. |
| Anthraquinones |  | | (-) | Apparition d'une coloration orange révèle l'absence de l'anthraquinone au niveau de l'extrait eau-acétone. |
| Terpénoïdes |  | | (+) | La formation d'une interphase indique la présence des terpénoïdes dans l'extrait eau-acétone. |
| Composés réducteurs |  | | (+ +) | Apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs dans l'extrait eau-acétone. |
| Saponosides |  | | (-) | Absence de la formation d'une mousse ce qui montre l'absence des saponosides dans l'extrait eau-acétone. |
| (+ +) : fortement présent ; (+) : moyennement présent ; (-) : absence | | | | |

3 Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés dans les extraits des racines de *Ricinus communis*

Le taux de polyphénols, de flavonoïdes et des tanins dans les différents extraits a été déterminé à partir des équations de la régression linéaire des courbes étalon en utilisant l'acide gallique **Figure n°37** et la catéchine **figure n°38, 39** :

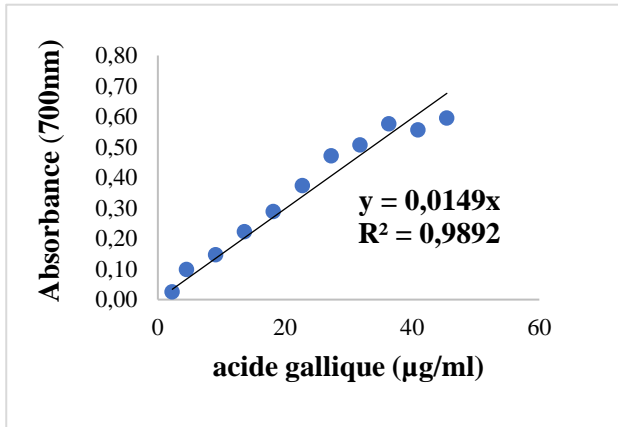


Figure n°37 : : Courbe étalon de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

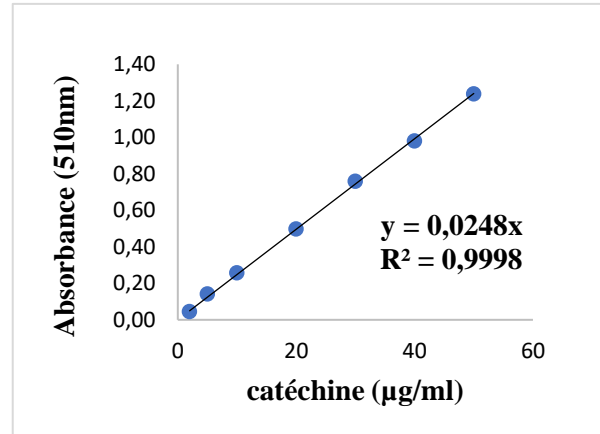


Figure n°38 : Courbe étalon de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

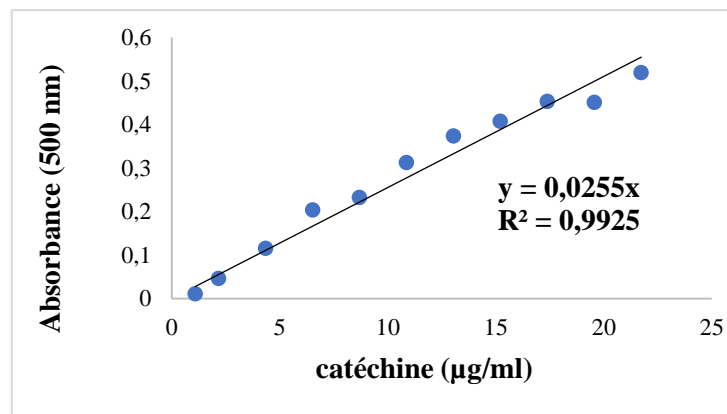


Figure n°39 : Courbe étalon de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Les résultats obtenus concernant le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins sont représentés dans **le tableau n°12**. On remarque que l'extrait eau-acétone des racines de *Ricinus communis* présente une teneur élevée en ces composants par rapport à l'extrait aqueux. Le taux le plus élevé en polyphénols arrive à 499,55 µg EAG/mg E dans l'extrait eau-acétone suivi par 418,69µg EAG/mg E déterminé dans l'extrait aqueux. En ce qui concerne

les flavonoïdes la teneur la plus élevée est de 28,21 µg EAG/mg E dans l'extrait eau-acétone suivi par 13,37 µg EAG/mg E dans l'extrait aqueux. Le taux des tanins reste faible et variable entre 6,31 µg EAG/mg E et 7,96 µg EAG/mg E.

Tableau n°12 : Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits des racines de *Ricinus communis*

| | Polyphénols (µg EAG/mg E) | Flavonoïdes (µg EC/mg E) | Tanins (µg EC/mg E) |
|--------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| Aqueux | 418,69 ± 0,05 | 13,37± 0,01 | 6,31± 0,01 |
| Eau-acétone | 499,55±0,02 | 28,21± 0,01 | 7,96 ± 0,03 |

4 Effet antioxydant des extraits des racines de *Ricinus communis* sur la réduction de DPPH

Les résultats obtenus de l'effet de l'acide ascorbique et les extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis* sur le piégeage du radical libre DPPH sont représentés dans les **tableaux n°15, 16** et les **figures n°40, 41, 42** respectivement.

Dans le **tableau n°13**. Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'inhibition augmentent proportionnellement à la concentration de l'acide ascorbique, la plus faible concentration de 0,5 µg/ml arrive à réduire 13,92% du DPPH, tandis que la concentration 5 µg/ml atteint la réduction de 87,22 % du DPPH avec une IC₅₀ de 2,47 µg/ml.

Tableau n°13 : Effet antioxydant de l'acide ascorbique sur la réduction du DPPH (%).

| | Acide ascorbique (µg/ml) | | | | | | IC₅₀ (µg/ml) |
|---------------------|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------------------------|
| | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| DPPH (%) | 13,92 ±0,02 | 24,16 ±0,01 | 58,55 ±0,01 | 66,11 ±0,01 | 83,08 ±0,01 | 87,22 ±0,05 | 2,47 ±0,01 |

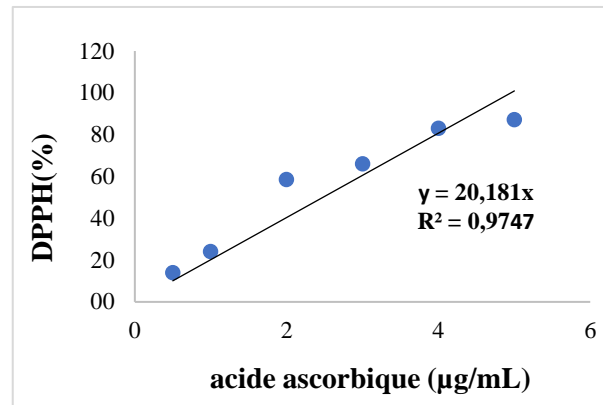


Figure n°40 : Réduction du DPPH par l'acide ascorbique

Le tableau n°14 et les figures n°41, 42 représentent l'effet des extraits aqueux et eau-acétone sur la réduction du DPPH. On remarque que l'extrait aqueux présente le meilleur effet par rapport à l'extrait eau-acétone. Cet extrait (3,75µg/ml) arrive à 62,68% de réduction de DPPH contre 53,92% pour l'extrait eau-acétone. Les deux extraits présentent des valeurs de IC₅₀ intéressantes qui sont nettement inférieures à celle de l'acide ascorbique (2,47µg/ml), l'extrait eau-acétone présente une IC₅₀ de 2,01µg/ml tandis que l'extrait aqueux présente une faible valeur qui est de l'ordre de 1,46µg/ml (figure n°43).

Tableau n°14 : Effet antioxydant de l'extrait aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis*.

| | Extraits (µg/ml) | | | | IC ₅₀ (µg/ml) |
|------------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------------|
| | 0,5 | 1 | 2,5 | 3,75 | |
| Aqueux (%) | 38,44 ±0,01 | 40,99 ±0,04 | 58,08 ±0,16 | 62,68 ±0,17 | 1,46 ±0,1 |
| | Extraits (µg/ml) | | | | |
| Eau-acétone (%) | 43,06 ±0,01 | 43,26 ±0,01 | 51,93 ±0,01 | 53,92 ±0,01 | 2,01 ±0,01 |

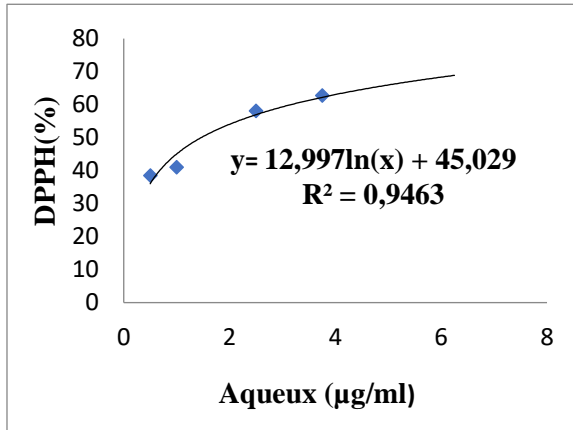


Figure n°41 : Effet de l'extrait aqueux des racines de *Ricinus communis* sur la réduction de DPPH.

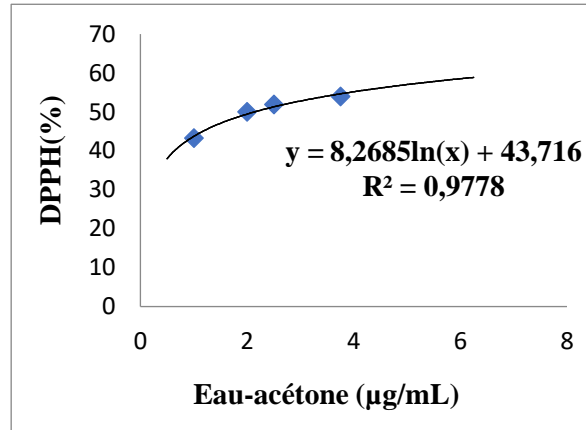


Figure n°42 : Effet de l'extrait eau-acétone des racines de *Ricinus communis* sur la réduction du DPPH.

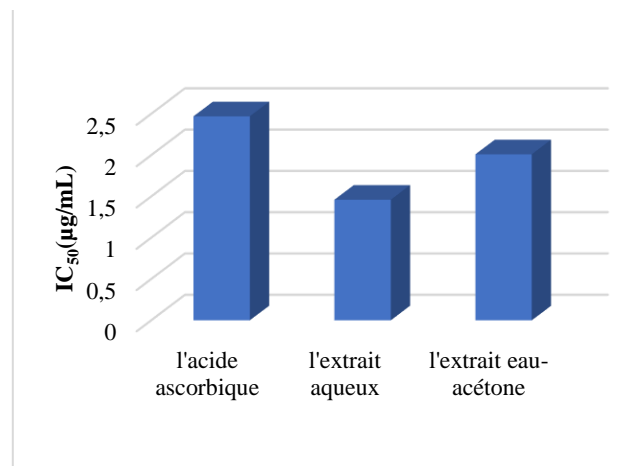


Figure n°43 : Les valeurs d'IC₅₀ déterminées pour l'acide ascorbique et les extraits des racines de *Ricinus communis* sur la réduction du DPPH.

5 Effet antioxydant des extraits des racines de *Ricinus communis* sur le pouvoir réducteur du Fer (FRAP)

Les résultats du potentiel antioxydant des extraits des racines de *Ricinus communis* sur la réduction de fer sont mentionnés dans le **tableau n°15** et **la figure n°44**.

Le BHA présente un pouvoir réducteur du fer proportionnel à la concentration, dont sa concentration efficace moyenne (EC₅₀), qui représente une absorbance égale à 0,5 correspond à la concentration 17,98 µg/ml du BHA.

Tableau n°15 : Effet du BHA sur la réduction du fer.

| | BHA (µg/mL) | | | | | | EC ₅₀ (µg/mL) |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------------|
| | 10 | 13,33 | 16,67 | 20 | 23,33 | 26,67 | |
| A | 0,36 ±0,01 | 0,39 ±0,03 | 0,50 ±0,01 | 0,55 ±0,01 | 0,63 ±0,02 | 0,69 ±0,01 | 17,98 ±0,01 |

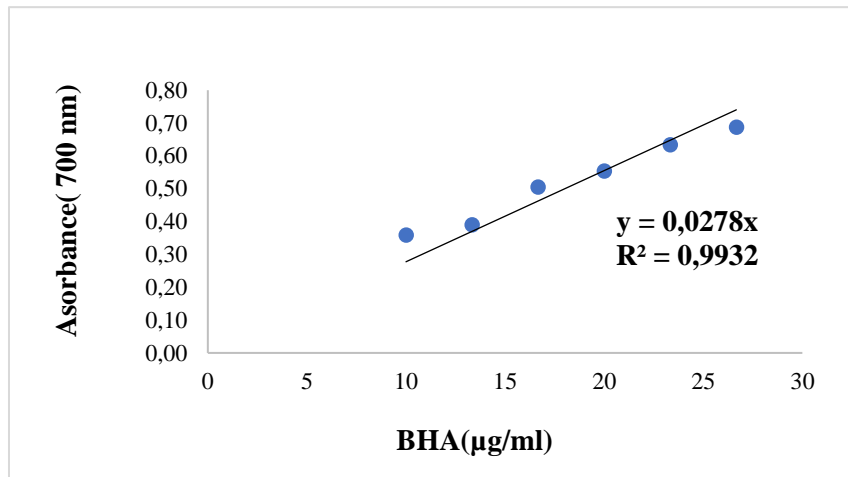


Figure n°44 : Pouvoir réducteur du fer du BHA.

L'effet des extraits des racines de *Ricinus communis* sur le pouvoir réducteur du fer est représenté dans le **tableau n°16** et les **figures n°45, 46** :

A partir de ces résultats, on observe qu'il y'a un potentiel élevé sur la réduction du fer dans l'extrait aqueux EC₅₀=20,49 µg/ml, par rapport à l'extrait eau-acétone EC₅₀=41,32µg/ml.

On remarque que l'extrait aqueux présente le potentiel réducteur de fer le plus élevé exprimé par une faible valeur de EC₅₀=20,49 µg/ml qui est proche de celle de control positif le BHA (17,98 µg/ml) et inferieur à celle de l'extrait eau-acétone (41,32 µg/ml) (**figure n°47**).

Tableau n°16 : Absorbances de l'effet des extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis*

| | Extrait (µg/ml) | | | | | EC ₅₀ (µg/ml) |
|--------------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------------|
| | 3,33 | 6,67 | 16,67 | 25 | 41,67 | |
| Aqueux | 0,05 ±0,02 | 0,24 ±0,16 | 0,34 ±0,01 | 0,53 ±0,01 | 0,76 ±0,03 | 20,49 ±0,01 |
| | Extrait (µg/ml) | | | | | EC ₅₀ (µg/ml) |
| | 6,67 | 13,33 | 16,67 | 25 | 41,67 | |
| Eau-acétone | 0,06 ±0,02 | 0,13 ±0,01 | 0,18 ±0,01 | 0,33 ±0,01 | 0,51 ±0,01 | 41,32 ±0,01 |

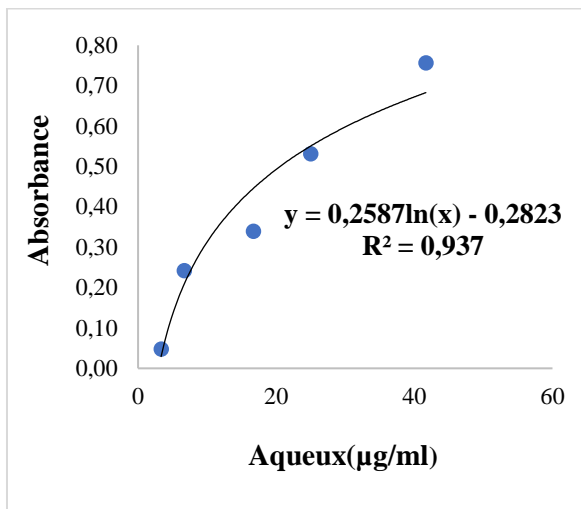


Figure n°45 : Pouvoir réducteur du fer d'extrait aqueux des racines de *Ricinus communis*.

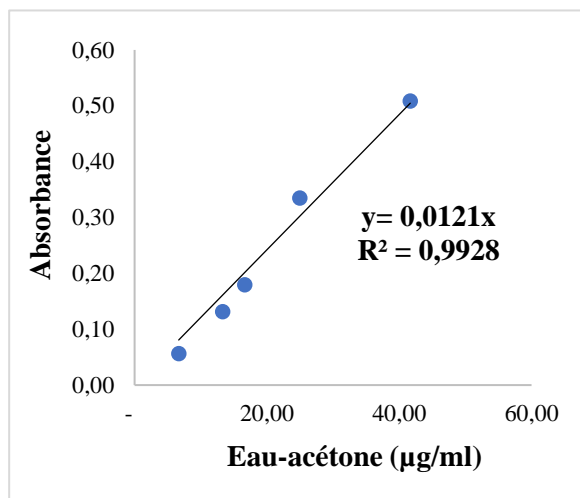


Figure n°46 : Pouvoir réducteur du fer d'extrait eau-acétone des racines de *Ricinus communis*

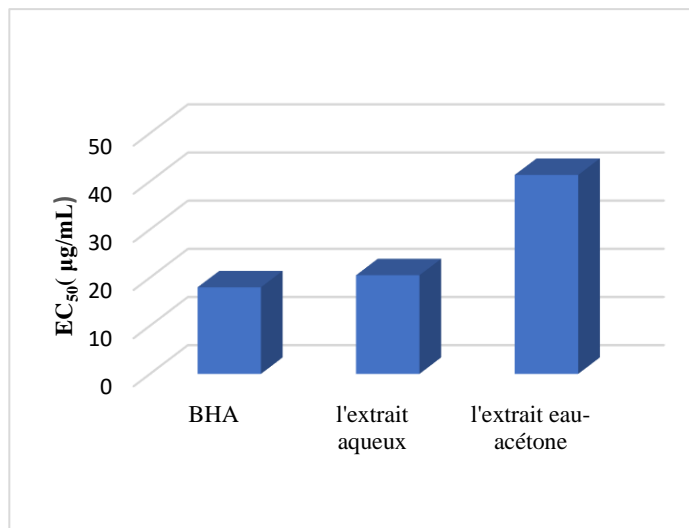


Figure n°47 : Valeurs de EC₅₀ de l'effet de BHA et des extraits des racines de *Ricinus communis*.

6 Effet antidiabétique des extraits des racines de *Ricinus communis* sur l'activité de l' α -amylase

Tableau n°17 : Effet d'acarbose sur l'inhibition de l'activité de α -amylase (%).

| | Acarbose ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--|
| | 3,33 | 6,67 | 13,33 | 53,33 | 106,67 | |
| Pourcentage d'inhibition (%) | 14,98 $\pm 0,04$ | 34,25 $\pm 0,01$ | 45,87 $\pm 0,03$ | 81,65 $\pm 0,03$ | 90,83 $\pm 0,03$ | 15,01 $\pm 0,03$ |

Les résultats obtenus dans le **tableau n°17** et la **figure n°48** montrent que les pourcentages d'inhibition augmentent proportionnellement à la concentration de l'acarbose. La concentration la plus élevée 106,67 $\mu\text{g/ml}$ inhibe à 90,83% l'activité de α -amylase avec une IC₅₀ déterminé de 15,01 $\mu\text{g/ml}$.

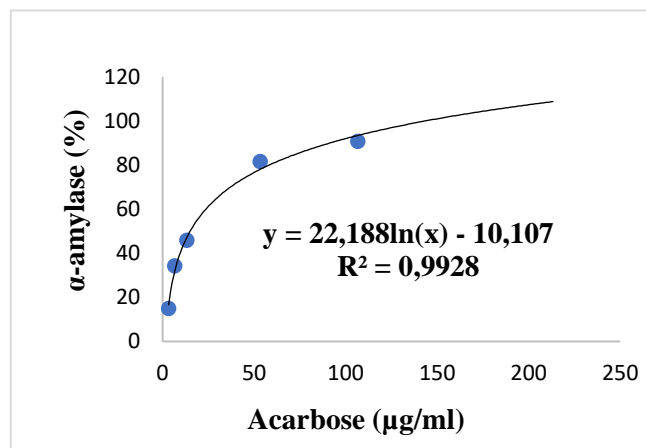


Figure n°48 : Effet de l'acarbose sur l'inhibition de l'activité de l' α -amylase (%).

Les résultats de l'effet des extraits des racines de *Ricinus communis* sur l'activité de l' α -amylase exprimés en pourcentage, d'inhibition sont représenté dans le **tableau n°18** et les **figures n°49,50**.

On observe que le pourcentage d'inhibition augmente en fonction de l'augmentation de la concentration des extraits. Le pourcentage d'inhibition arrive à 54,62% à la concentration 10 mg/ml de l'extrait aqueux, tandis que l'extrait eau-acétone à la concentration 3,33mg/ml arrive à inhiber 73% de l'activité enzymatique.

Les deux extraits présentent des valeurs du IC₅₀ supérieures à la valeur déterminée pour l'acarbose (15,01µg/ml), cette valeur est de 1,03 mg/ml pour l'extrait eau acétone et de 9,56 mg/ml pour l'extrait aqueux (**figure n°51**)

Tableau n°18 : Effet des extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis* sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase. (%).

| | Extrait (mg/ml) | | | | | | IC ₅₀ (mg/ml) |
|------------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1,33 | 3,33 | 5 | 6,67 | 8,33 | 10 | |
| Aqueux (%) | 23,33 ±0,01 | 27,17 ±0,02 | 33,33 ±0,02 | 36,79 ±0,02 | 44,54 ±0,04 | 54,62 ±0,05 | 9,56 ±0,045 |
| | Extrait (mg/ml) | | | | | IC ₅₀ (mg/ml) | |
| | 0,17 | 0,33 | 1,33 | 2 | 3,33 | | |
| Eau-acétone (%) | 20 ±0,01 | 30 ±0,01 | 50 ±0,01 | 62 ±0,02 | 73 ±0,02 | 1,03 ± 0,01 | |

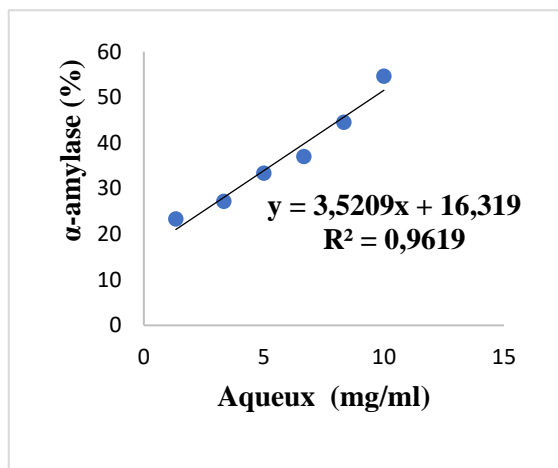


Figure n°49 : Effet de l'extrait aqueux des racines de *Ricinus communis* sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase (%).

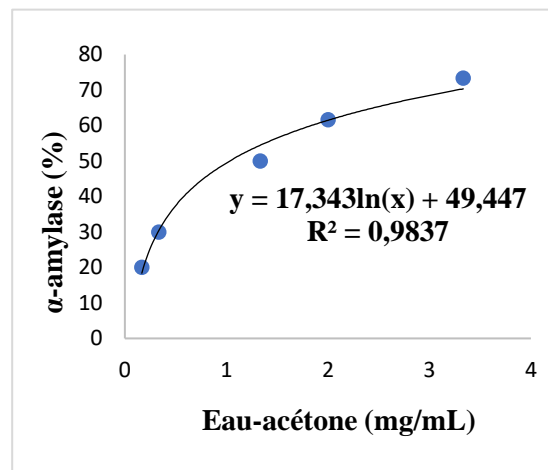


Figure n°50 : Effet de l'extrait eau-acétone des racines de *Ricinus communis* sur l'inhibition de l'activité de l'α-amylase (%).

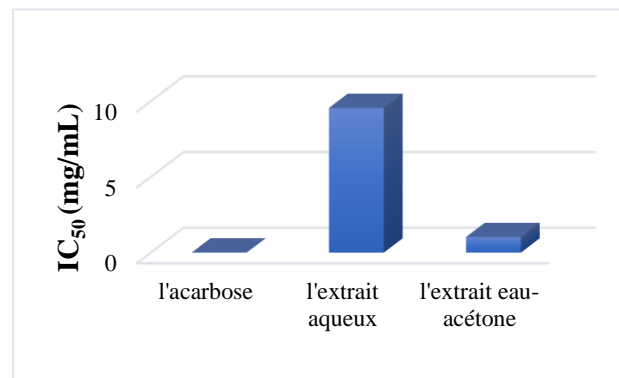


Figure n°51 : Valeurs de IC₅₀ de l'effet de l'acarbose et des extraits des racines de *Ricinus communis*.

Discussion

Dans ce travail nous avons réalisé une étude phytochimique et une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante en utilisant le test du DPPH et du FRAP, ainsi que l'activité antidiabétique en utilisant le test sur l'activité du α -amylase de l'extrait aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis*, récoltée dans la région de Tounane Souahlia Wilaya de Tlemcen.

Les extraits préparés ont montré un rendement considérable variable entre 8,88% et 13,78%. Selon la bibliographie, ce rendement reste inférieur au rendement déterminé par **Saraka A et al., (2018)** dans l'extrait brut aqueux (27,16%) et l'extrait éthanolique (32,36%) des feuilles de cette espèce. De même l'étude réalisée par **Hadj Benrezig M, (2016)** sur l'extrait méthanol des feuilles a révélé un rendement de 36%. Tandis que le rendement de l'extrait méthanolique des graines présente un faible rendement 0,043% (**Gabani S et al., 2019**). De cette faite on constate que les feuilles présentent un meilleur rendement par rapport aux racines et par rapport aux graines. Le screening phytochimique a révélé la richesse des racines de *Ricinus communis* en composés phénoliques, en quinones libres, en terpénoïdes, saponosides, et en composés réducteurs ; et l'absence des alcaloïdes et des anthraquinones. Le même résultat a été obtenus dans l'extrait eau-acétone à l'exception les saponosides qui sont absents. Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Gabani S et al., (2019)** qui ont montré dans l'extrait méthanolique des graines la présence des tanins, flavonoïdes, terpénoïdes et composés réducteurs, ainsi que l'absence des quinones libres, alcaloïdes et saponosides. Par contre les résultats obtenus par **Saraka A et al., (2018)** dans l'extrait aqueux des feuilles ont révélé la présence des saponines, et l'absence des alcaloïdes et des composés phénoliques.

La détermination du taux des composés phénoliques dans nos extraits a montré la richesse de l'extrait eau-acétone par rapport à l'extrait aqueux en polyphénols qui sont variables entre 418,69 et 499,55 $\mu\text{g EAG/mg E}$, en flavonoïdes qui varie entre 13,37 et 28,21 $\mu\text{g EC/mg E}$, et en tanins condensées 6,31 - 7,95 $\mu\text{g EC/mg E}$. L'étude de **Ghnimi W, (2015)** réalisée sur l'extrait eau-méthanol des racines de trois échantillons de *Ricinus communis* récoltés en Tunisie, (Hammamet, Nabeul et Nefza), a déterminé un taux comparable en polyphénols à nos extraits (502,28 mg EAG/g) dans l'échantillon de la région de Hammamet tandis que les polyphénols dans l'échantillons Nefza et Nabeul sont inférieurs 218,66 mg EAG/g et 72,56 mg EAG/g respectivement. En ce qui concerne le taux des flavonoïdes cette étude à déterminé un taux supérieur par rapport à nos résultats, Hammamet (178,53 mg EC/g), Nefza (96,35 mg

EC/g), Nabeul (44,28 mg EC/g). Par contre nos extraits présentent des taux relativement élevés en tannins condensés par rapport aux racines de la région de Hammamet (1,34 mg EC/g MS), Nefza (1,04 mg EC/g MS) et Nabeul (0,44 mg EC/g MS).

Cette différence au niveau des résultats du taux des composés phénoliques, est probablement liée à plusieurs facteurs qui peuvent influencer le taux de ces composés, comme le choix de la partie de matériel végétal (fleurs, feuilles, tiges, racines, ...), la région et la période de la récolte, le choix du solvant ainsi que la méthode d'extraction.

L'extrait aqueux et eau-acétone présentent de très faibles valeurs de IC_{50} 1,46 $\mu\text{g/ml}$ et 2,01 $\mu\text{g/mL}$ respectivement sur la réduction de DPPH, ces valeurs sont supérieures à celle de l'acide ascorbique. Ceci explique le potentiel anti-radicalaire des racines de *Ricinus communis*. Nos résultats sont nettement meilleurs et intéressants que les résultats obtenus par **Ravishankar K et Indira N., (2012)** qui ont déterminé une $IC_{50}= 37,32 \mu\text{g/ml}$ dans l'extrait éthanolique des feuilles ; de plus **Kadri et al., (2011)** ont obtenues un effet anti-radicalaire des huiles essentielles de *Ricinus communis* sur le DPPH avec une IC_{50} de 307 $\mu\text{g/ml}$. L'étude réalisée par **Ghnimi W, (2015)** sur l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique des racines des populations de *R.communis* a montré que les échantillons récoltés dans la région de Hammamet et Nefza présentent des valeurs comparables à nos résultats $IC_{50}= 1,03\mu\text{g/ml}$ et $IC_{50}= 3,2 \mu\text{g/ml}$, respectivement.

Aucun travail scientifique n'a été réalisé sur l'effet antioxydant des extraits des racines de *R.communis* en utilisant la méthode de FRAP. Pour ce test nos extraits ont révélé un pouvoir réducteur de fer prometteur notamment dans l'extrait aqueux qui présente une EC_{50} de 20,49 $\mu\text{g/ml}$ et qui proche de celle de control positif le BHA (17,98 $\mu\text{g/ml}$).

L'activité antioxydante des extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis* est probablement lié à leurs teneurs élevées en composés phénoliques notamment en polyphénols. Ces derniers, par leurs structures chimiques caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques sur lequel se greffe un ou plusieurs groupements hydroxyles (-OH) ont la capacité d'inhiber la production de radicaux libres, et de réduire le taux d'oxydation en inhibant la formation ou en désactivant les espèces actives et les précurseurs des radicaux libres. Ce processus d'inhibition est assuré par l'échange de proton des polyphénols qui cèdent son électron à un radical libre donc neutraliser les radicaux et arrêter

les réactions en chaîne, les polyphénols deviennent eux-mêmes des radicaux stables moins réactifs (**Adjdir S, 2022**).

A propos de l'activité antidiabétique nous avons testé *in vitro* l'effet des deux extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis* sur l'activité de α amylase. Les deux extraits ont montré un effet modéré sur l'activité de α amylase avec une valeur de IC_{50} variable entre 1,03 mg/ml et 9,56 mg/ml. La valeur de IC_{50} pour le control positif acarbose est de 15,01 μ g/ml.

Aucun travail scientifique n'a été réalisé sur l'effet antidiabétique des extraits des racines de *R.communis* en mesurant l'effet sur l'inhibition de l'activité de α amylase.

Poonam S et al., (2008) ont réalisé une étude *in vivo* sur l'activité antidiabétique de l'extrait éthanolique à (50% V/V) des racines de *R.communis*, cet extrait a montré un effet hypoglycémiant significatif chez les rats normaux et une activité anti-hyperglycémiant chez les rats diabétiques. Selon ces résultats on peut constater que les extraits des racines de *R.communis* ont une activité antidiabétique *in vivo* et *in vitro*.

Selon la bibliographie les composés phénoliques notamment les flavonoïdes sont les meilleurs inhibiteurs des enzymes digestifs. La structure chimique des flavonoïdes, le nombre de cycles, et la position de leur groupes hydroxyles dans la molécule inhibe ces enzymes par la formation des liaisons non covalente hydrogènes et hydrophobes avec les polymères glucidiques (**Adjdir S, 2022**).

Conclusion

La présente étude est une contribution à l'étude phytochimique et à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits aqueux et eau-acétone des racines de *Ricinus communis*, récoltée dans la région de Tounane Souahlia, wilaya de Tlemcen.

La mise en évidence par des tests qualitatifs des principaux métabolites secondaires dans cette plante a révélé la présence des polyphénols, de flavonoïdes, des tanins galliques, des sucres réducteurs, et des saponosides. L'analyse quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins a montré la richesse de cette plante en composés phénoliques qui peuvent être responsable de son potentiel antioxydant, ainsi que son activité antidiabétique.

A la lumière de ces résultats préliminaires, il serait souhaitable d'approfondir cette étude par des recherches qui s'intéressent à :

- L'utilisation d'autres méthodes et d'autres solvants d'extraction, en choisissant d'autres partie de la plante (feuilles, graines, tiges).
- L'utilisation d'autres tests pour l'évaluation de l'activité antioxydante comme le test ABTS (Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), et test de blanchiment du β -carotène
- Tester l'effet de ces extraits *in vivo* chez des rats rendus diabétiques par la streptozocine.
- Rechercher d'autres activités biologiques comme l'activité antibactérienne, anti-inflammatoire, anticancéreuse, ...

Références bibliographique

- 1- **Abdul Waseem Mohammed, Hajrah Nahid H et al. (2018)**. Therapeutic role of *Ricinus communis* L. and its bioactive compounds in disease prevention and treatment. *asian pacific journal of tropical medicine* Volume: 11 | Issue Number: 3 | Page: 177-185 DOI: 10.4103/1995-7645.228431
- 2- **Abew B, Sahile S, Moges F (2014)**. *In vitro* antibacterial activity of leaf extracts of *Zehneria scabra* and *Ricinus communis* against *Escherichia coli* and methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *AsianPac J Trop Biomed*; 4(10): 816-820.
- 3- **Adjdir S. (2022)**. Etude phytochimique et recherche de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits de *Ziziphus jujuba* Mill. Et de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
- 4- **Agner Dias Raimundo, Renner Philipe Rodrigues Carvalho, Mariana Machado-Neves, Eduardo de Almeida Marques-da-Silva**, Effects of terpenes in the treatment of visceral leishmaniasis: A systematic review of preclinical evidence, *Pharmacological Research*, Volume 177, 2022, 106117, ISSN 1043-6618.
- 5- **Aniszewski, T. (2007)**. *Alkaloids - Secrets of Life : Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*. Pays-Bas : Elsevier Science.
- 6- **Anjani, K., (2005)**. Purple-coloured castor (*Ricinus communis* L.)-A rare multiple resistant morphotype. *Curr. sci.* 88(2) : 215-216.
- 7- **Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016)**. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>.
- 8- **Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N., Munoz A., Murcia A., Butler J. et Halliwell, B. 1996**.- An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herb, *Food and Chemical Toxicology*, 34 (5) : 449-456.
- 9- **Aslania M.R., Malekib M., Mohria M., Sharifia K., Najjar V. N., Afshari E., (2007)**. Castor bean (*Ricinus communis*) toxicosis in a sheep flock. *Toxicon*. 49: 400–406

- 10- **Auddy, B., Ferreira, M., Blasina, F., Lafon, L., Arredondo, F., Dajas, F., Tripathi, P.C., Seal, T. and Mukherjee, B. (2003)** Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. *Journal Ethnopharmacology* 84, 131-138.
- 11- **Belharrane-Boumaza (2014)** ; Contribution à l'étude du cortège floristique de *Ricinus communis*(Famille des Euphorbiacées) dans la région de Tlemcen. Thèse de mémoire en écologie végétale. Université de Tlemcen, Algérie. 94 pp
- 12- **BELIMI, A., & LAMOUDI, S. (2021)**. Etude de l'impact d'extrait de feuilles d'olivier algérien sur le diabète type II.
- 13- **Benariba N, Djaziri R, Bellakhdar W, Belkacem N, Kadiata M, Malaisse WJ, Sener A ; 2013**. Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* 3(1):35-40
- 14- **Benfeled, P (1955)**, Amylase, and. *Meth. Enzymology*; 1: 149-158.
- 15- **Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020)**. The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety-Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(8), 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>.
- 16- **Blouin J., Llorca L., Montreau F.R., Dufour J.H., (1972)**. Etude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *Connaissance de la vigne et du vin*, 6, 405-413
- 17- **BOUDET A. M. 2007.-** Evolution and current status of research in phenolic Compounds, *Phytochemistry*, 68(22-24): 2722-2735
- 18- **Bougandoura, N., Bendimerad, N. (2013)**. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* _ ssp. *Nepeta* (L) priq. *Nature & Technology*, (9), 14.
- 19- **Bravo, L. (1998)**. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333
- 20- **Bruneton, J. (2009)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). France : Lavoisier.
- 21- **Chini, C., Bilia, A. R., Keita, A., & Morelli, I. (1992)**. Protoalkaloids from *Boscia angustifolia*. *Planta medica*, 58(5), 476. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961522>.
- 22- **Choucha S & Chabani D (2016)**. Contribution à l'étude de la répartition et la variabilité des polyphénols en fonction de l'âge des différents organes chez l'arbousier

- (*Arbutus unedo*) dans la forêt d'Ait Ghobri (wilaya de TiziOuzou) Mémoire de Master II. Université Mouloud Mammeri -TIZI OUZOU –
- 23- Collin Sonia, Crouzet Jean (2011)** Polyphénols et procédés. France : Lavoisier.
- 24- Coopman, V., Marc, D. L., Cordonnier, J., Werner, J. (2009).** Suicidal death after injection of a castor bean extract (*Ricinus communis* L.). *Forensic Sci. Internatl.* 189: e13
- 25- Couplan, F., Styner, E. (1994).** Guides des plantes sauvages : comestibles et toxiques(1994),Paris,pp367-368.
- Khafagy, S.M., Mahmoud, Z.F., Salam, N.E.A., (1979).** Coumarins and flavonoids of *Ricinus communis* growing in Egypt. *Planta Med.*, 37, p 191.
- 26- Couplan, F. (1994).** Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Suisse : Delachaux et Niestlé.e20.
- 27- Dewick, P. M. (2002).** Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. Allemagne : Wiley.
- 28- Dräger B. (2008)** Biotechnology of *Solanaceae* alkaloids: a model or an industrial perspective? In : Kayser O., Quax W.J., editors. *Medicinal Plant Biotechnology: From Basic Research to Industrial Applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; pp. 237–265.
- 29- Elujoba A.A., Odeleye O., Ogunyemi C. (2005)**Traditional medicine development for medical and dental primary health care delivery system in Africa. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternatives Medicine* Vol 2 no 1DOI : 10.4314/ajtcam.v2i1.31103
- 30- Endo Y, Tsurugi K. (1986)** Mechanism of action of ricin and related toxic lectins on eukaryotic ribosomes. *Nucleic Acids Symp Ser*; **17**: 187-190
- 31- Evrard, C., Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. Belgique : De Boeck Supérieur.
- 32- FAO, (2007).** Food and Agriculture Organization of the United Nations - for a world without hunger, p67.
- 33- Favier A. (2003).** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique : 108-115.

- 34- Franke, H., Scholl, R. & Aigner, A. (2019). Ricin and *Ricinus communis* in pharmacology and toxicology-from ancient use and “Papyrus Ebers” to modern perspectives and “poisonous plant of the year 2018”. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 392, 1181–1208 <https://doi.org/10.1007/s00210-019-01691-6>
- 35- Garland, T., Bailey, E.M (2006) : Toxins of concern to animals and people. *Rev. Sci. Tech. OFF. int. Epiz.* 25(3) :341-351.
- 36- Génial végétal (2014), les plantes antioxydantes. genialvegetal.net. 05/06/2023
- 37- Ghnimi, W. (2015). Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase (Doctoral dissertation).
- 38- Ghrabi Z., (2005). A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN Center of Mediter-ranean Cooperation, *Malaga, Spain*, p. 199
- 39- Govindarajan, R., Rastogi, S., Vijayakumar, M., Shirwaikar, A., Rawat, A.K.S, Mehrotra, S. and Pushpangadan, (2003) Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 26, 1424-1427.
- 40- Groussarde C. (2006). Stress oxydantif et exercice anaérobie. *Science et sport* ;21 :62-67
- 41- Grzegorz G., Gadzikowska M. (2008) Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. *Pharmacol. Rep.* 2008 ;60 :439.
- 42- Guignard, J., Potier, P. (2000). *Biochimie végétale*. France : Dunod.
- 43- Haddouchi, F., Chaouche, T.M., & Halla, N. (2018). Screening phytochimique, activités antioxydante et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 16(S1), S254-s
- 44- Hall, S.M., Medlow, G.C., (1975). Identification of IAA in phloem and roots pressure saps of *Ricinus communis* by mass spectrometry. *Plant physiol.*, 56, p 177.
- 45- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., (2013). Plantes toxiques à usage medicinal du pourtour méditerranéen. *Phytothérapie Pratique*. Springer, 43-46.
- 46- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Allemagne : Springer Netherlands.
- 47- Hertog, M. G., Feskens, E. J., Hollman, P. C., Katan, M. B., & Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet (London, England)*, 342(8878), 1007–1011. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92876-u](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92876-u)

- 48- Hossaert-McKey, M., Bagnères, A. (2017).** Ecologie chimique. Royaume-Uni : ISTE editions.
- 49- Iqbal, M.J., Hanif, S., Mahmood, Z., Anwar, F. and Jamil, A. (2012)** Antioxidant and antimicrobial activities of chowlai (*Amaranthus viridis* L.) leaf and seed extracts. *Journal of medicinal Plants Research* 6,4450 -4455.
- 50- Jacques R. Poortmans.(2009) .** Biochimie des activités physique et sportives, Edition De Boeck université ; pp : 501-510
- 51- Jakubke H.-D., Jeschkeit H. Trans. Rev. Mary Eagleson (1994)** Concise Encyclopedia Chemistry. Walter de Gruyter, Berlin, New York
- 52- Jean –Marie Reimund . (2002).** Stress oxydant au cours de syndromes inflammatoires chroniques. *oxidative stress in chronic inflammatory syndromes .Nutrition chimique et métabolisme Edition scientifique e médicales Elsevier SAS ;16 :275-287*
- 53- Jitendra J, Ashish kumar G. (2012).** RICINUS COMMUNIS LINN: A PHYTOPHARMACOLOGICAL REVIEW. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* Vol 4,0975-1491, Issue 4
- 54- Justine, Odile, Carole PASTRE (2005),** INTERÊT DE LA SUPPLEMENTATION EN ANTIOXYDANTS DANS L'ALIMENTATION DES CARNIVORES DOMESTIQUES, l'Université Paul-Sabatier, TOULOUSE.
- 55- Karagozler, A., Erdag, B., Calmaz- Emek, Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, (111):
- 56- Khacheba, I., (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante et étude du pouvoir d'inhibition sur l' α - amylase et l' α – glucosidase des extraits naturels de la plante *Genista*. (Doctoral dissertation, L'École Normale Supérieure de Kouba-Alger ; 255)
- 57- Khogali, A., Barakat, S., Abou-Zeid, H., (1992).** Isolation and identification of the phenolics from *Ricinus communis* L. *Delta J. Sci.*, 16, pp 198-211
- 58- Kilani, S., Abdelwahed, A., Chraief, I., Ammar, R.B., Hayder, N., Hammami, M., Ghedira, K. and Chekir Ghedira, L. (2005)** Chemical composition, antibacterial and antimutagenic activities of essential oil from Tunisian) *Cyperus rotundus*. *Journal of Essential Oil Research* 17, 695-700.
- 59- Kumar N., Kumar S., Abbat S., Nikhil K., Sondhi S.M., Bharatam P.V., Roy P., Pruthi V. (2016)** Ferulic acid amide derivatives as anticancer and antioxidant agents: synthesis, thermal, biological and computational studies. *Med. Chem.* DOI :10.1007/s00044-016-1562-6

- 60- Kumar, N., Gupta, S., Chand Yadav, T., Pruthi, V., Kumar Varadwaj, P., & Goel, N. (2019).** Extrapolation of phenolic compounds as multi-target agents against cancer and inflammation. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 37(9), 2355–2369. <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1481457>
- 61- Lendent C., Mairesse M., (2008).** Rural allergy. *Rev. Franç. Allergol. Immunol. Clin.* 48(2) :109-110.
- 62- Lin JY, Liu SY. (1986)** Studies on the antitumor lectins isolated from the seeds of *Ricinus communis* (castor bean). *Toxicon* 24(8): 757-765.
- 63- Lu, Kaihui, and Yew Mun Yip. 2023.** "Therapeutic Potential of Bioactive Flavonoids from Citrus Fruit Peels toward Obesity and Diabetes Mellitus" *Future Pharmacology* 3, no. 1 : 14-37 <https://doi.org/10.3390/futurepharmacol3010002>
- 64- Macheix, J., Fleuriot, A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Presses polytechniques et universitaires romandes.
- 65- Majhenic L., kergel M.S., Knez Z. . (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104, 1258–1268.
- 66- Malathi B., Ramesh S., Venkateswara K. R., Dashavantha V. R., (2006).** *Agrobacterium* mediated genetic transformation and production of semiooper resistant transgenic castor (*Ricinus communis* L.). *Euphytica*. 147: 441–449.
- 67- Manpreet Rana, Hitesh Dhamija, Bharat Prashar , Shivani Sharma.,(2012) .** Department of Pharmacy, Manav Bharti University, Solan H.P. 173229, India.
- 68- Mario M., Esp.rito S., (2007).** Secondary seed dispersal of *Ricinus communis* Linnaeus (Euphorbiaceae) by ants in secondary growth vegetation minas gerais. R. *Árvore Viçosa- MG*.31 (6) :1013-1018.
- 69- Maroyi A. (2007).** *Ricinus communis* L. In: van der Vossen, H.A.M. & Mkamilo, G.S.(Editeurs). PROTA 14: Vegetable oils/Oleagineux. PROTA, Wageningen, Pays Bas
- 70- Michael Wink (1999).** Functions of Plant Secondary Metabolites and Their Exploitation in Biotechnology Royaume-Uni: Sheffield Academic Press.
- 71- Morand, C. (2014)** intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le maintien de la santé cardio-métabolique Interest of flavonoid-rich foods to maintain cardiometabolic health *Médecine des Maladies Métaboliques* Volume 8, Issue 5, Pages 477-482 Doi : 10.1016/S1957-2557(14)70860-0

- 72- Naresh Kumar, Vikas Pruthi, Nidhi Goel, (2015)** Structural, thermal and quantum chemical studies of p-coumaric and caffeic acids, *Journal of Molecular Structure*, Volume 1085, Pages 242-248, ISSN 0022-2860
- 73- P. Schofield, D.M. Mbugua, and A.N. Pell (2001)** Analysis of condensed tannins : à review. Department of Animal Science, 325 Morrison Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.
- 74- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- 75- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids : an overview. *Journal of nutritional science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- 76- Papa Madièye GUEYE.(2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge . Thèse de Docteur de l'Université Louis Pasteur .
- 77- Pascale Sarni-Manchado, Véronique Cheynier (2006)** Les polyphénols en agroalimentaire. États-Unis : Éditions Tec & Doc.
- 78- PRIOR, R.L., WU, X., SCHAICH, K. 2005.-** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290-4302.
- 79- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011).** Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4),513–523. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>
- 80- Rachhadiya RM, Prasad KM, Shete RV. (2011)** Evaluation of antiulcer activity of castor oil in rats. *Int J Res Ayur Pharm*; 2(4): 1349-1353
- 81- Ramawat, K.G. (2009)** Herbal Drugs : Ethnomedicine to Modern Medicine; Springer: New York, NY, USA; p. 414.
- 82- Ramprasad R., Bandopadhyay R., (2010).** Future of *Ricinus communis* after completion of the draft genome sequence. *Curr. sci.* 99(10): 1316-1318
- 83- Reynaud, J., Marouf, A. (2007).** La botanique de A à Z : 1 662 définitions. France : Dunod.
- 84- Roussel, T. N. G ., Laure, N . J., & Enyong, O. J.(2020) .** Antioxidant and Glucose Lowering Effects of Hydroethanolic Extract of *Baillonella toxisperma* Pulp. *Journal of Food Research*,9(2).
- 85- Saenz, C., Berger, H., Rodríguez-Félix, A., Galletti, L., Corrales García, J., Sepúlveda, E., Teresa Varnero, M., García de Cortázar, V., Cuevas García, R.,**

- Arias, E., Mondragón, C., Higuera, I., Rosell, C. (2013). Agro-industrial utilization of cactus pear . Rome, Italie : Food & Agriculture Org (FAO). 31-57p.
- 86- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>
- 87- Seethalaxmi, M.S., Shubharani, R., Nagananda, G.S. and Sivaram, V. (2012) Phytochemical analysis and free radical scavenging potential of *Baliospermum montanum* (Willd.) Muell. Leaf. *Asian Journal of ceutical and Clinical Research* 5, 135-137.
- 88- Shimizu, H. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study, *Stroke*, 35 (9): 2072-2077.
- 89- Shirwaikar, A., Issac, D .and Malini, S.(2004). Effet of *Aerva lanata* on cisplatin and gentamicin models of acute renal failure. *Journal of Ethnopharmacology* 90,81-86.
- 90- Tanoh, S. K., N'Gaman-Kouassi, C., Boa, D., Mamyrbekova-Békro, J. A., & Békro, Y. A. (2019). Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales. *Nature & Technology*, (21), 28-34.
- 91- Tanti, B., Burgaudain, A.K., Gurung, L., Kakati, D., Das, A.K. and Borah, S.P. (2010) Assessment of antimicro bial and antioxidant activities of *Dendrocnide sinuata* (Blume) Chew leaves a medicinal plant used by ethnic communities of North East India *Indian Journal of Natural Products and Resources* 1. 17–21.
- 92- Thin Layer (2008). *Chromatography in Phytochemistry*. États-Unis : CRC Press.
- 93- Trochain J., 2016. Le Ricin (suite). In : *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 10^e année, bulletin n°107, 2016. pp. 578-589
- 94- Victoria Hmiche, Rachida Merad, Mohamed Azzouz (2013). Plante toxique a usage médicinale du pourtour méditerranéen.
- 95- Wang, S. & Wu, J., Shi, S., Wang, H., (2016). Mechanisms underlying the effect of polysaccharides in the treatment of type 2 diabetes: A review. *Carbohydrate polymers*, 144, 474-494.
- 96- Wang, W., Xiong, P., Zhang, H., Zhu, Q., Liao, C., & Jiang, G. (2021). Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxydants : A review. *Environmental research*, 201, 111531. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111531400-407>.

- 97- Wolin, M.S.Ahmed , M .Gupte ,S.A. (2005) .** Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current conteroversise , and potential importance of cytosolic NADPH .Am J Physisol Lung cell Mol physiol .Vol .289 : 159-173
- 98- Wong, P.Y.Y. and Kitts, D.D. (2006)** Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. Food Chemistry 97, 505-515
- 99- Xavier Gruffat (pharmacien), 17.03.2022, Creapharma.ch,21/04/2023.**