

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID DE TLEMCCEN



*Faculté des Sciences, de la nature et de la vie et
sciences de la terre et de l'univers
Département de biologie*



MÉMOIRE DE MASTER EN BIOLOGIE

OPTION : Biochimie: Molécules Bioactives

***Étude de l'activité antioxydante de l'extrait hydroacétonique des
racines de l'Arbutus unedo de la région de Tlemcen***

Présenté par:

M^{me} MEDJAOUI BELKHATIR AMEL

Devant le jury:

Présidente: M^{elle} BENARIBA N.

M.C.A Tlemcen

Examineur: M^r RAHMOUNE N.

M.C.A Tlemcen

Encadreur : M^{me} BELAID MEDJDOUB H.

M.C.B Tlemcen

Année universitaire: 2016-2017



Dédicaces

*Je dédie ce travail à :
Mes très chers parents*

*Mes chères soeurs :
Souad, Rabia, Khuira*

Mon époux: Sid Ahmed

Mon enfant: Abd djalil wanis

Toute ma famille : Belkhatir et Medjaoui

Toutes mes amies





Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) de l'Université Abou -Bekr Belkaïd de Tlemcen,

Je tiens à remercier aussi et chaleureusement mon encadreur M^{me} BELAID MEDJDOUB Houria, maître de conférences B, université de Tlemcen, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Mes remerciements vont également à Melle BENARIBA N., maître de conférences A, université de Tlemcen de m'avoir honoré en présidant le jury de ma soutenance.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à Mr RAHMOUNE N., maître de conférences A, université de Tlemcen d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier vivement le directeur et les membres du laboratoire LASNABIO particulièrement, Mme MEHYAOUI K., ingénieur de laboratoire, pour son aide si précieuse.

J'adresse enfin une pensée spéciale à mon époux et mes parents pour leur soutien dans mes choix et leur attention sans faille, ainsi qu'à ma belle-mère, dont les encouragements et l'amour inconditionnel m'accompagnent depuis toujours et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

المخلص

القطلب البري هي شجيرة تنتمي إلى عائلة Ericacées. تُعد من بين النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي في الجزائر لعلاج الأمراض المختلفة مثل مشاكل الكلى و السكري. في هذا العمل عرضنا جذور هذه النبتة إلى الاستخلاص بالحرارة في محلول ماء-أستون (30/70) (V/V)

الهدف الرئيسي من ه ذا البحث هو دراسة القوة المضادة للأكسدة من مستخلص م ماء- أستون و أجزاءه (المائية و خللات الإيثيل). و قد تم استخدام التقنيات التالية: إختبار DPPH إرجاع الحديد FRAP وفي الاخير تقنية تبييض β كارو تين. لقد أظهر مستخلص ماء- أستون ($IC_{50} = 0.0014 \text{ mg/ml}$) و هو نشاط عالي مقارنة مع الأجزاء المائية و خللات الإيثيل في تقنية DPPH . و كذلك بالنسبة لتقنية FRAP .

بالنسبة لتقنية تبييض β كارو تين الجزء المائي له أحسن نشاط مقارنة مع جزء خللات الإيثيل و مستخلص ماء-أستون. في الختام نلاحظ أن مستخلص الجذور ماء-أستون يظهر نشاط ملحوظ مضاد للأكسدة و هذا يقودنا إلى مواصلة هذا البحث مستقبلا.

الكلمات المفتاحية: القطلب البري، مستخلص ماء-أستون، القوة المضادة للأكسدة إرجاع الحديدFRAP، اختبار DPPH, تبييض β كارو تين

Résumé

L'Arbutus unedo est un arbuste qui appartient à la famille des Ericacées. C'est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie pour traiter diverses maladies telle que le diabète les problèmes rénaux. Les racines de la plante ont été soumises à une extraction sous reflux dans eau-acétone (30/70) (V/V).

Cette plante miraculeuse, a fait l'objet de notre travail dont l'objectif est d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait eau-acétone des racines de cette arbuste ainsi ses fonctions, aqueuse et acétate. Du fait, l'extrait est préparé par décoction sous reflux dans l'eau-acétone (30/70) suivi d'un fractionnement liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

Trois techniques d'évaluation du pouvoir antioxydant appliquées. Piégeage du radical DPPH, réducteur du fer (FRAP) et le blanchissement du β - carotène.

L'extrait eau-acétone a montré une activité très élevée dans la technique de piégeage du radical DPPH avec une IC_{50} de 0,0014mg/ml par rapport à ceux des fractions aqueuse et acétate d'éthyle. La même constatation pour la réduction du fer.

Pour la technique de blanchissement du β -carotène la fraction aqueuse présente une meilleure activité avec une IC_{50} de 0,061mg/ml par rapport au témoin BHT avec une IC_{50} de 0,098mg/ml puis la l'extrait eau-acétone et la fraction d'acétate d'éthyle.

En conclusion, les racines *d'Arbutus unedo* présentent une activité antioxydante remarquable surtout pour l'extrait eau-acétone. Cela nous amène à poursuivre ce travail ultérieurement.

Mots clés : *Arbutus unedo*, extrait eau-acétone, Activité antioxydante, Réduction de fer, piégeage du DPPH, β -carotène

Abstract

Arbutus unedo is a shrub which belongs to the family Ericaceae. It is a medicinal herb used in Algerian traditional medicine to treat various diseases such as the diabetes and the renal problems. The roots of the plant were subjected to an extraction by refluxing with water-acetone (30/70) (V/V).

This miraculous plant was the object of our work whose objective is to evaluate the antioxydant power of the roots water-acetone extract and its fractions, aqueous and ethyl acetate. Therefore, the extract is prepared by decoction under backward flow in water-acetone (30/70) followed by a fractionation liquid-liquid by the ethyl acetate.

Three tests of evaluation of the antioxydant power are applied. Scavenging of the radical DPPH, iron reducing power (FRAP) and the bleaching of the β - carotene.

The water-acetone extract showed a very high activity in scavenging DPPH with an EC50 of 0,0014mg/ml compared to the aqueous and ethyl acetate fractions. The same result was obtained for the iron reducing.

For the bleaching of β -carotene test, the aqueous fraction presents a better activity with an EC50 of 0,061mg/ml compared to the positive control BHT with an EC50 of 0,098mg/ml, then the water-acetone extract and the ethyl acetate fraction.

In conclusion, the roots of *Arbutus unedo* present a remarkable antioxydant activity for the extract water-acetone. That leads us to continue this work later on.

Keywords: *Arbutus unedo*, water-acetone extract, antioxidant activity, iron reduction, radical scavenging of DPPH, bleaching of β -carotene

Liste des abréviations

·OH : radical hydroxyle

¹O₂ : Oxygène singulet

AC : fraction d'acétate d'éthyle

ADN : l'acide désoxyribonucléique

AGPI : Acide gras polyinsaturé

AQ : fraction aqueuse

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

DO : densité oblique

DPPH : Radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl

EC : l'extrait eau-acétone

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe²⁺ : Ions ferreux

Fe³⁺ : Ions ferriques

FeCl₃ : Chlorure de fer

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

GPX : Glutathion peroxydase

GR : La glutathion réductase

GSSG : glutathion disulfide

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

HO• : Le radical hydroxyle

K₃Fe(CN)₆ : ferricyanure de potassium

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH

LDL : lipoprotéines de basse densité

NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

NO: Oxyde d'azote

NO•: Monoxyde d'azote

O₂•- : Le radical superoxyde

O₂⁻ : Radicalaire anion superoxyde

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ONOO• : Peroxynitrite

RO• : Radical alkoxyde

RO₂• : Radical peroxyde

RO₂H : hydroperoxyde

ROO• : radicaux peroxydes

Rpm : Rotation par minute

SOD : Superoxyde dismutase.

UV : Ultra- violet.

Liste des figures

Figure 01. Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées	4
Figure02 : Inflorescence(A) et infrutescence (B) de <i>l'Arbutus unedo</i>	12
Figure03 : Répartition mondial de <i>l'Arbutus unedo</i>	13
Figure04 : la structure de l'arbutine	14
Figure05 : Montage de la décoction sous le reflux	15
Figure06 : Evaporation de l'extrait eau-acétone par le rotavapeur	16
Figure07: Protocole d'extraction des racines d' <i>Arbutus unedo</i>	17
Figure08 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.	21
Figure09: Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait l'eau-acétone.	22
Figure10: Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de fraction aqueuse.	22
Figure11 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de fraction d'acétate éthyle.	23
Figure12 : pouvoir réducteur des extraits eau-acétone, aqueuse, et d'acétate des racines d' <i>Arbutus unedo</i> testé par la méthode de FRAP	24
Figure13: Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de BHT	25
Figure14 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de l'extrait eau-acétone.	26
Figure15 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de fraction aqueuse	26

Figure16 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de fraction d'acétate éthyle. 27

Liste des tableaux

Tableau01 : valeur des IC ₅₀ des extraits d' <i>Arbutus unedo</i> et l'acide ascorbique	23
Tableau02 : valeur des IC ₅₀ des extraits d' <i>Arbutus unedo</i> et de BHT	27

Table de matière

Introduction	1
---------------------------	---

1^{er} partie : la synthèse bibliographique

Chapitre I

Le stress oxydant

1-Définition	3
2-Les radicaux libres	3
3-Les cibles biologiques des EOA	4
3.1- L'acide désoxyribonucléique ou ADN	4
3.2-les protéines	5
3.3-Les lipides	5
4-Les systèmes antioxydants	5
4.1-Systèmes de défense enzymatique	6
a-La superoxyde dismutase (SOD)	6
b-Les glutathions peroxydases(GPxS)	6
c-La catalase	7
4.2-les systèmes non enzymatiques.....	7
4.2-1-Les antioxydants naturels	7
a-La vitamine E	7
b- La vitamine C.....	8
c-β-carotène	8
d-Le coenzyme Q10	8
e-Les polyphénols	8

4.2-2Les antioxydants synthétiques	9
4.2-3Les oligo-éléments	9
1-Le sélénium.....	9
2-le zinc	9
3-le cuivre.....	10

Chapitre II

L'espèce végétale(*Arbutus unedo*)

Introduction	11
1-La description botanique.....	12
2. Classification classique	12
3-Répartition.....	13
4-Composition.....	14
5-Propriétés et utilisation	14

2^{ème} partie : Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1-Le matériel végétal.....	15
2-L'extraction	15
2.1-la préparation d'extrait eau-acétone (EC)	15
2.2-préparation des fractions aqueuses (AQ) et l'acétate(AC).....	16
3-L'activité antioxydante	18
3.1- Test au DPPH	18

a-Principe	18
b- mode opératoire	18
c-Calcul des IC ₅₀	18
3.2- Réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)	19
a- Principe	19
b-Mode opératoire	19
3.3- Test de blanchissement du β - carotène	19
a-Principe	20
b-mode opératoire	20
c-Expression des résultats	20

Résultats et interprétation

1-Activité antioxydante	21
1-1 Pouvoir antiradicalaire des extraits de l' <i>Arbutus unedo</i> sur le DPPH	21
1-2 Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)	24
1-3-Test de blanchissement du β - carotène	25
Discussion	28
Conclusion	31
Référence bibliographique	32

Introduction générale

Au travers des temps, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (Bensabeur, 2009).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobien, antiseptiques, diurétiques, Mais essentiellement antioxydant qui défendent contre le stress oxydatif (Bourgaud *et al.*, 2001; Kar, 2007).

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (Suhaj, 2006 ; Tadhani *et al.*, 2007). En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (Koechlin, 2006). Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (Vârban *et al.*, 2009). Ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Des recherches scientifiques ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir des différentes sources telles que les cultures agricoles et horticoles ou les plantes médicinales (Huang et Prior, 2005 ; Sanchez, 2002).

Dans notre travail, nous allons évaluer l'activité antioxydante des extraits d'une plante de la région de Tlemcen, reconnues pour leurs vertus médicinales: *l'Arbutus unedo*. Cette plante est connue par ses propriétés antiseptiques et désinfectantes des voies urinaires, antispasmodiques et astringentes ; reconnue également dans d'autres pays, comme la Turquie, comme diurétique ou le Maroc comme remède naturel pour l'hypertension et le diabète (Boullard, 2001 ; El Houari, 2007).

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de la plante se fait en se basant sur trois techniques :

- La réduction du fer « Ferric reducing-antioxidant power (FRAP) »
- Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)
- Le blanchiment de la β -carotène

Donnée bibliographique

Chapitre I

Le stress oxydant

1-Définition :

L'oxygène est la molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisque vers le milieu des années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà évoqué la toxicité de l'oxygène et la «free radical theory» pour expliquer le processus de vieillissement (Haleng *et al.*, 2007). EOA ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme anormal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologie (Migdal *et al.*, 2011). En effet, des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous effet des rayons UV, des radiation ionisantes et des métaux de transitions (Ekoumou,2003 ; Bhuiyan *et al.*, 2009).

Le stress oxydant est communément définie comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Barouki, 2006) c'est à dire un déséquilibre entre des taux élevés de dérivés réactifs de l'oxygène (EOA) et une activité antioxydante réduite. Une augmentation du stress oxydant peut entraîner des destructions tissulaires et provoquer des lésions au niveau des structures cellulaires. . l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (Pincemail *et al.*,2002).

2-Les radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur ses orbitales électroniques externes. La présence d'un électron célibataire confère souvent à ces molécules, une grande instabilité, elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés dans des processus le plus souvent non spécifiques, et que, donc, leur durée de vie en solution est très courte (Halliwell, 1990). Ce caractère chimique rend les radicaux libres fortement réactifs. La réactivité varie d'un radical libre à un autre et dépend de l'environnement où ils sont présents. Consommation d'oxygène par les mitochondries, elle provoque une augmentation de la formation de radicaux libres dans le cas d'un exercice (Benbrook, 2005). La génération de EOA est également le résultat de la mort cellulaire *via* l'apoptose ou la nécrose (Rondeau, 2009).

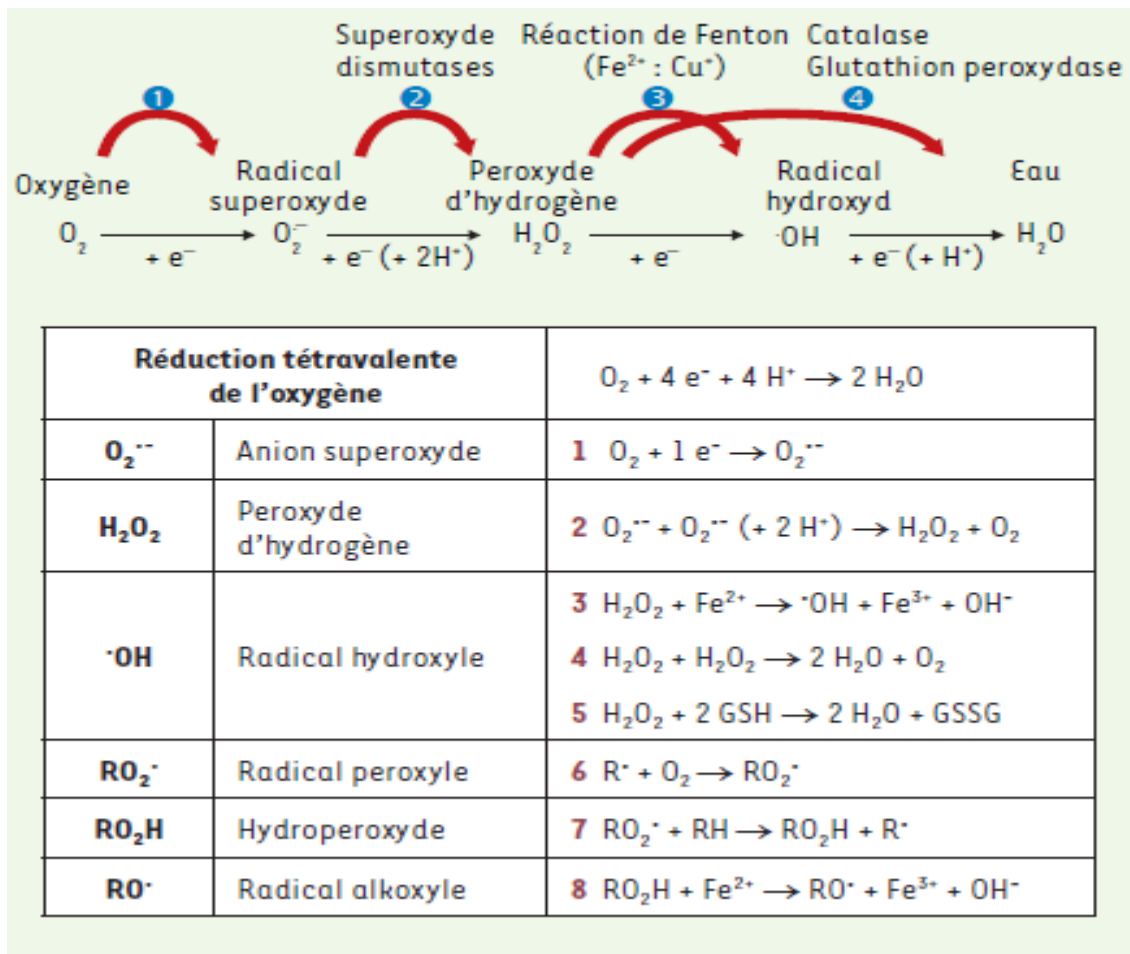


Figure 01. Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits sont détaillées (Migdal et Serres, 2011).

3-Les cibles biologiques des EOA :

3.1- L'acide désoxyribonucléique ou ADN :

L'ADN est une cible privilégiée pour les EOA. La guanine, par exemple, peut réagir avec $\cdot OH$ pour former la 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng *et al.*, 2007), les altérations du matériel génétique s'accumuleront au sein de l'ADN représentant ainsi la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (Mitchell *et al.*, 2002 ; Favier, 2006 ; Valko *et al.*, 2007).

3.2-les protéines :

Les chaînes latérales de tous les acides aminés sont des cibles potentielles pour les EOA (Stadtman, 2004 ; Baudin, 2006). Cependant les produits d'oxydations ne sont pas toujours clairement identifiés. Dans les conditions physiologiques, les cibles majeures sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine). Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng *et al.*, 2007 ; Grimsrud *et al.*, 2008)

3.3-Les lipides :

L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation des LDL oxydées, qui sont captées par des macrophages formant le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (Durand et Beaudeau, 2011)

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxy (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction, il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (Haleng *et al.*, 2007 ; Brenna, 2016 ; Cillard, 2006). La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes.

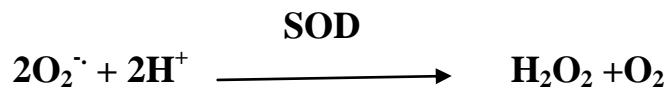
4-Les systèmes antioxydants :

L'organisme a développé des systèmes de défense très efficaces contre la production des EOA. Les molécules contrôlant cette production sont appelés les antioxydants que désignent « toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat »

(Halliwell et Gutteridge, 1990). Les antioxydants non nutritionnels comprennent des produits naturels extraits de plantes, utilisés tels quels ou après modifications chimiques, des produits extraits d'animaux terrestres ou marins (enzymes ou protéines antioxydantes), des produits de synthèse imitant les enzymes, chélatant le fer ou piégeant les radicaux (Favier ,2003).

4.1-Systèmes de défense enzymatique :

a-La superoxyde dismutase (SOD) :



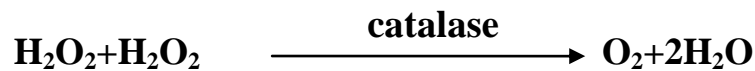
Les superoxyde dismutases (SOD) sont des métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Gardner *et al.*,2002 ; Fridovich, 2000). Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Afonso *et al.*, 2007). La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Haleng *et al.* , 2007 ; Favier,2003 ; Bourg, 2005). Le rôle des SOD et des peroxydases est complémentaire car une bonne protection ne peut être obtenue par les superoxydes dismutases seules (Favier, 2003).

b-Les glutathions peroxydases(GPx) :

La GPX est une enzyme séléno-dépendante, dont il existe plusieurs isoformes, réparties différemment dans la cellule, qui jouent un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH)(Sorg, 2004 ; Souchard *et al.*, 2002). Elle catalyse la réaction de transformation des H_2O_2 . Cette réaction met en jeu une molécule antioxydante non enzymatique, le glutathion, sous sa forme réduite GSH. En réalité, 2 molécules de GSH sont nécessaires pour donner la forme oxydée du glutathion à savoir le glutathion

disulfide (GSSG). La glutathion réductase (GR) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons (Marfak, 2003). La GR est chargée de réduire le glutathion qui a été oxydé par les nombreux processus cellulaires. Elle utilise l'oxydation du NADPH en NADP⁺ pour réduire le GSSG.

c-La catalase :



C'est un enzyme héminique joue un rôle important dans les voies de défense antioxydants, elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau (Forsberg et al., 2001). Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes, formées de quatre sous unités. Chaque sous unité comporte un groupement ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe³⁺ (Ko *et al.*, 2000).

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème-oxygénase, la glutathion transférase, les thiorédoxines réductases ou les thiorédoxines peroxydases (Favier, 2003).

4-2-les systèmes non enzymatiques :

4.2-1-Les antioxydants naturels :

Parmi les antioxydants naturels on trouve la Vitamine E, Vitamine C, le β-carotène, coenzyme Q10, et les composés phénoliques exemple les flavonoïdes.....

a-La vitamine E :

Le terme générique de vitamine E désigne en fait la famille constituée des tocophérols, la forme la plus active étant l'alpha-tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme. Elle empêche ou réduit l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL). Cette oxydation des LDL est associée à l'apparition de l'athérosclérose et donc aux maladies cardiovasculaires (Delattre *et al.*, 2005) et elle est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène (O₂) en s'oxydant en quinone. D'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle (OH), mais son principale rôle biologique est de prévenir la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes (ROO[•]) (Rondeau, 2009).

Elle est présente dans les huiles végétales (huiles d'arachide, de soja, de chardon, de tournesol et d'olive pressées à froid) ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs, et les légumes à feuilles vertes (Bossokpi, 2002).

b- La vitamine C :

L'acide ascorbique ou la vitamine C est un antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, des radicaux hydroxyles et peroxydes, et de l'oxygène. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes (Mak *et al.*, 2002). Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Bossokpi, 2002).

c-β-carotène :

Le β-carotène est un type de caroténoïdes et précurseur de la vitamine A. Leur rôle protecteur dans les systèmes biologiques implique la désactivation des EOA telle que ROO[·], qui peuvent faire des dommages oxydatifs (Stahl et Sies, 2002). Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards... (Boss, 2002).

d-Le coenzyme Q10 :

Le coenzyme Q10 forme prédominante d'ubiquinone chez l'homme et l'animal, peut agir comme un antioxydant liposoluble, en complément de son rôle dans le métabolisme énergétique. Sa fonction serait de stimuler un recyclage efficace de la vitamine E, plutôt que d'agir directement sur les radicaux libres (Beyer, 1992).

e-Les polyphénols :

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et le vin rouge, sous forme de flavonoïdes dans les agrumes, l'huile de lin et sous forme d'épicatéchine dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes. Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (Haleng *et al.*, 2007).

4.2-2 Les antioxydants synthétiques :

Ils sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments. Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Ils sont utilisés en cosmétique et dans les huiles végétaux, comme par exemple : le butylhydroxyanisole (BHA), le gallate de propyle (PG), l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA)... (**Guo et al., 2006**), malgré leur grand pouvoir antioxydant, l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique (**Williams, 1994**).

4.2-3 Les oligo-éléments :

1-Le sélénium :

Le sélénium n'est pas un antioxydant en tant que tel, car il ne peut piéger les radicaux libres, mais il joue un rôle primordial comme cofacteur de la GPx (Burk, 2002 ; Rayman, 2002). Dans l'alimentation, on retrouvera essentiellement du sélénium organique, lié à un acide aminé, la cystéine. Le sélénium organique est mieux absorbé, il subit une métabolisation hépatique qui conduit à des intermédiaires nécessaires à la synthèse de dérivés physiologiquement actifs comme la GPx. La dose journalière recommandée est de 50-70 µg/jour. Les aliments riches en sélénium sont, notamment, les noix de Brésil, l'ail, viande... (**Halleng et al., 2007**).

L'activité antioxydante maintient l'intégrité membranaire et réduit la probabilité de propagation de lésions oxydatives à des biomolécules telles que les lipides, les lipoprotéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN). Les sélénoprotéines assurent, en synergie avec d'autres molécules de nature enzymatique (superoxyde dismutase, catalase) ou non (vitamine E, C, caroténoïdes, groupes thiols, poly phénols, coenzyme Q10) l'équilibre intra- et extracellulaire de la balance pro et antioxydants (**Roussel et al., 2002 ; Brahim, 2015**)

2-le zinc

Le zinc est un oligo-élément indispensable à la vie de tous les organismes vivants, y compris l'homme (Herber, 1994). Le zinc est l'élément de trace le plus répandu dans l'organisme après le fer. On le trouve dans les produits de la mer, les viandes et le jaune d'œuf. L'organisme adulte en contient 2 à 3 g en moyenne et n'est pas stocké par l'organisme.

La majorité du zinc est concentrée dans le squelette, la peau, le cheveu, la prostate et l'œil (Halsted, 1974). Les besoins quotidiens en zinc varient de 4 à 20 mg selon l'âge et le sexe (Seve et favir , 2002).

Le zinc est présent dans toutes les cellules et est essentiel pour le fonctionnement normal des tissus et organes du corps (Pories, 1976). Il entre dans la composition de nombreuses enzymes et joue un rôle dans la synthèse des protéines. Le zinc stimule les défenses immunitaires ainsi que le renouvellement cellulaire. Le zinc intervient dans l'activité des enzymes, dans l'expression des gènes, dans la stabilisation des structures nucléiques, protéiques et hormonales.

3-le cuivre :

A concentration physiologique, le cuivre est le cofacteur d'enzymes comme la SOD, la cytochrome C oxydase, la dopamine β -hydroxylase. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de réactions de production d'EOA (réactions de Fenton) et peut – lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau, ... (Halleng *et al.*,2007).

Chapitre II
L'espèce végétale
Arbutus unedo

Introduction :

Les plantes médicinales forment un créneau en plein essor au niveau mondial (Vann, 1998) ; l'Organisation Mondiale de la Santé estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaires de 80% de la population des pays en voie de développement (Vines, 2004). Les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions médicales et dans la vie des habitants au Maghreb, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne (Bellakhdar, 2006 ; Touafek, 2010).

Les plantes médicinales connue par des activités pharmacologiques et utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale. Elle est utilisée de différentes manières (décoction, macération, infusion...) et une ou plusieurs de ses parties peuvent être utilisées (racine, rhizome, feuilles, fleurs...) pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Lefahal, 2014 ; Dutertre, 2011).

Au cours des derniers années on avoir une augmentation de l'utilisation des plantes grâce a leurs pouvoirs antioxydants comme par exemples : *Trichilia prieuriana*, *Chrysophyllum perpulchrum* , *Disthemonanthus benthamianu* (Bidié et al.,2011).

1-Description botanique :

Arbutus unedo est un arbuste inférieure à 4m de hauteur à feuilles persistantes dentées, à écorce rougeâtre, à fleurs blanches ou rosées en forme de clochette pendant grappes et apparaissent en septembre-octobre en même temps que la floraison (Celikel *et al.*, 2008). et à fruits arrondis, verruqueux et rouges ressemblant à des fraises (Iserin *et al.*, 2008).



Figure02 : Inflorescence(A) et infrutescence (B) de l'*Arbutus unedo* (Takrouni et Boussaid, 2010).

2. Classification classique :

Règne: Plantes

Embranchement: Spermatophytes

Classe: Magnoliopsidées

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Ericales

Famille : Ericacées

Genre : *Arbutus*

Espèce: *Arbutus unedo* L (Mendes, 2010)

3-Répartition :

L'arbousier est présent dans l'ensemble du pourtour méditerranéen occidental, presque exclusivement sur sols siliceux, parfois sur des calcaires non actifs ou dolomitiques. Il est le compagnon du chêne-liège (*Quercus suber*) sur sol acide. Dans le Midi de la France, il prospère particulièrement dans certaines régions des Pyrénées-Orientales, le Var (Maures et Esterel) et en Corse où il peuple abondamment le maquis ; dans le Sud-ouest, il est très répandu le long de la côte landaise sur les sols sablonneux compris entre Bordeaux et l'océan, et remonte au nord jusqu'au littoral de la Loire-Atlantique (Ayaz *et al.*, 2000).

L'arbousier est une espèce assez rustique, et son aire de répartition remonte le long des côtes atlantiques jusqu'en Bretagne et même jusqu'au Sud de l'Irlande, où il trouve un climat tempéré (gelées rares et faibles) (Quevedo *et al.*, 2015) .

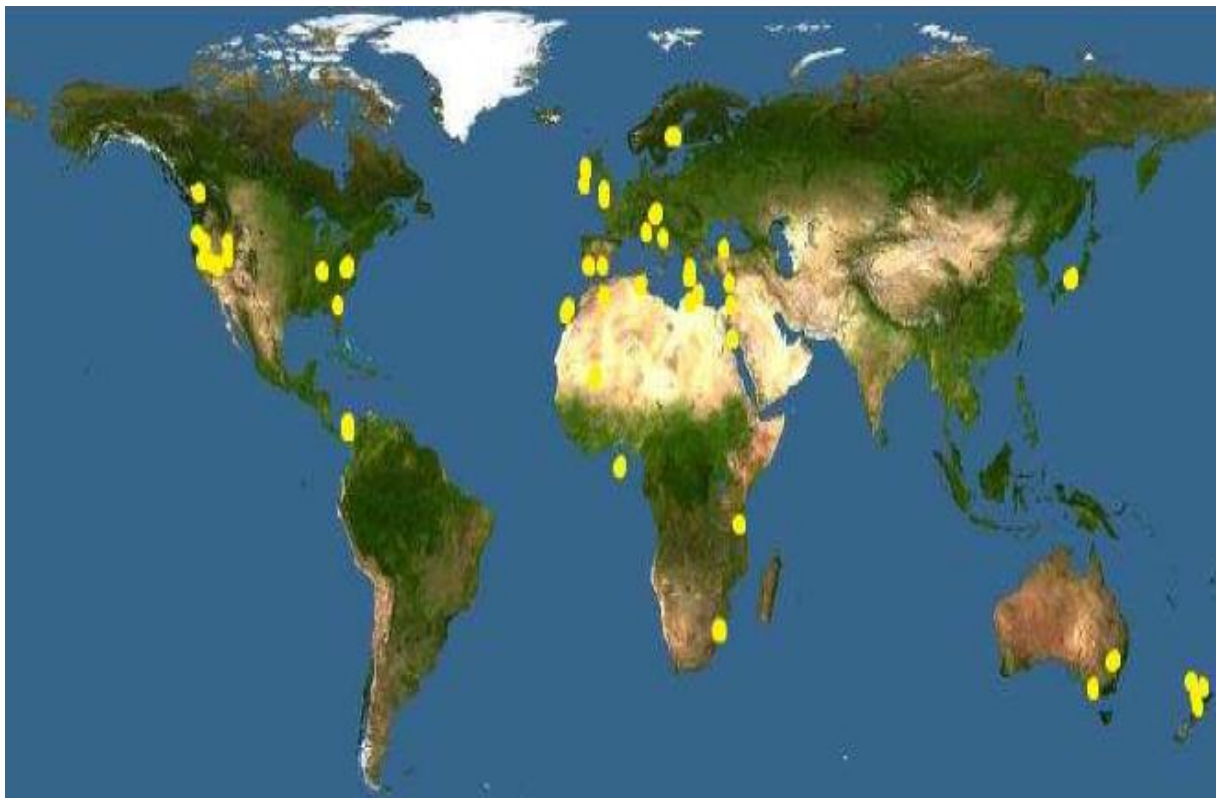


Figure03 :Répartition mondiale de *l'Arbutus unedo* «  » (Aksil, 2015)

4-Composition :

L'arbousier commun contient 2,7 % d'arbutine, et d'autres hydroquinones, un principe amer et des tanins (plante riche en tanins). L'arbutine est un puissant antiseptique de l'appareil urinaire. Les composés phénoliques (des anthocyanines, des dérivés d'acide gallique, flavan-3-ols, catéchine, procyanidines et des tanins), la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes.

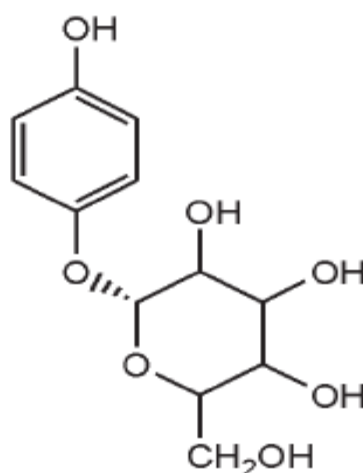


Figure04 : la structure de l'arbutine (Nowak et *al.*, 2009)

5-Propriétés et utilisation :

En décoction, sa racine est utilisée contre l'hypertension. On lui attribue des propriétés anti-inflammatoires, il est également efficace contre les rhumatismes, les feuilles ont des propriétés anti-diarrhéiques et dépuratives des voies urinaires (Bnouham et *al.*,2007). Avec ses applications traditionnelles, la large gamme d'antioxydants en *A.unedo* dans les fruits, tels que des composés phénoliques (par exemple, des anthocyanines, des dérivés d'acide gallique, flavan-3-ols, catéchine, procyanidines et des tanins), la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes (Barros et *al.*, 2010; Guimarães et *al.*, 2014) sont utilisés comme un antiseptiques, et contre l'effet diurétiques et laxatifs (Albuquerque *et al.*, 2017). Cela, attribue au fruit une valeur potentiellement élevée en tant que «nourriture favorisant la santé» (Pawlowska et *al.*, 2006 ; Pallauf et *al.*, 2008 ; Alarcao *et al.*, 2001). L'*A. unedo* est fréquemment utilisé dans la médecine traditionnelle au Maroc Orientale comme un remède naturel pour l'hypertension et le diabète (El houari, 2007).Le fruit est déconseillé pendant la grossesse et en cas d'affection rénale.

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1-Le matériel végétal :

Dans le présent travail on s'intéresse à l'étude des racines de l'*Arbutus unedo*, récoltées en mois de janvier 2017 dans le village de Tizi, commune de Ain Fezza, wilaya de Tlemcen. Au laboratoire, les racines sont séchées à l'ombre et à température ambiante parce qu'il est conseillé pour obtenir une meilleure extraction, puis broyées par un mortier pour servir à la préparation des extraits.

2-L'extraction :

Dans un premier temps, un extrait brut (eau-acétone) a été préparé. Ce dernier subit une extraction liquide / liquide par l'acétate éthyle selon la méthode de (Bekkara *et al.*, 1998) comme suite :

2.1-la préparation d'extrait eau-acétone (EC) :

- 10g de matière végétale sèche et broyée sont mélangés au 100ml de solvant eau-acétone 30:70 (V/V). Le mélange est porté à ébullition sous le reflux pendant 30min (l'extraction par décoction)
- Filtration de la solution du décocté après refroidissement
- Evaporation à sec du filtrat à l'aide d'un rota-vapeur, afin de concentrer l'extrait
- Séchage à l'étuve à 50°C pendant 24h
- Récupération de produit sous forme de poudre



Figure05 : Montage de la décoction sous le reflux.

2.2-préparation des fractions aqueuses (AQ) et l'acétate(AC):

- Les deux fractions sont obtenues à partir de l'extrait eau-acétone respectivement après extraction et concentration au rotavapeur, et extraction par l'acétate d'éthyle
- On ajoute d'acétate éthylique à l'extrait eau-acétone
- Décantation et séparation des deux phases. Cette opération est répétée trois fois
- Evaporation à sec de la phase organique d'acétate d'éthyle à 40°C
- Séchage à sec de la fraction aqueuse



Figure06 : Evaporation de l'extrait eau-acétone par le rotavapeur

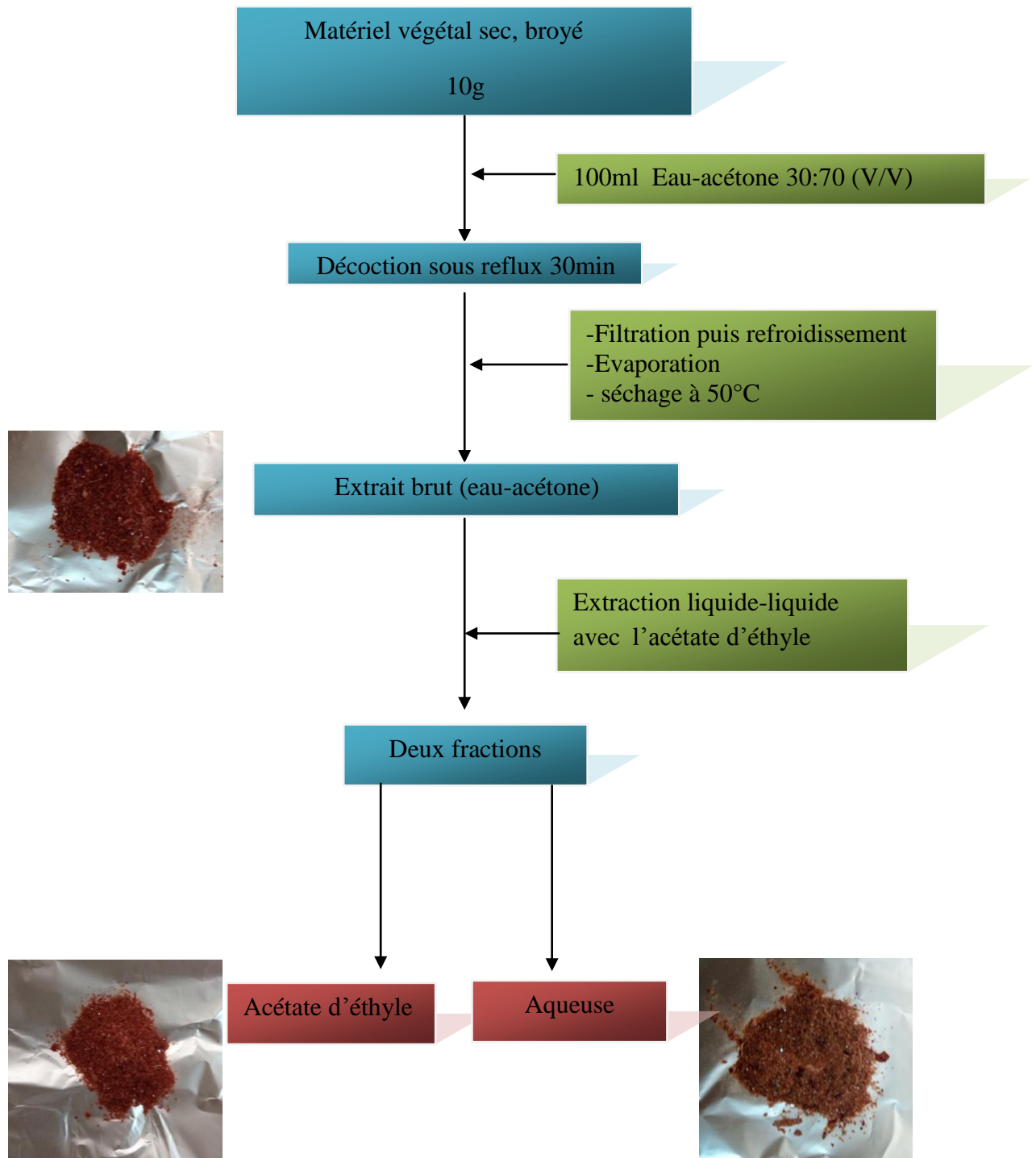


Figure07: Protocole d'extraction à partir des racines d'*Arbutus unedo*

3-Activité antioxydante :

3.1- Test au DPPH :

a-Principe :

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrazyle ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration des antioxydants présents dans le milieu (Adida *et al.*, 2016). Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (Popovici *et al.*, 2009).

b- mode opératoire :

cette mesure a été mesurée selon le protocole décrit par (Athamena *et al.*, 2010). 1ml de chaque solution hydro-cétonique des extraits à différentes concentrations (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0.1mg/ml) sont ajoutés à 1 ml de la solution méthanoïque du DPPH (0,012g dans 100ml). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (Bougandoura, 2013).

Le pourcentage de réduction du DPPH est donné par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction DPPH} = \left[\frac{(\text{DO cont} - \text{DO ech})}{\text{DO cont}} \right] * 100$$

DO cont : densité optique du DPPH sans antioxydant.

DO ech : densité optique de l'extrait en présence d'extrait.

c-Calcul des IC₅₀ :

La IC₅₀ est la concentration de l'acide ascorbique ou de l'extrait qui peut réduire 50% du DPPH, cette dernière est déterminée graphiquement (par les formules des pourcentages

d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées à l'aide de logiciel Origine 50 (Samarth *et al.*, 2008).

3.2- Réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

a- Principe :

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique Fe^{3+} au fer ferreux coloré par le bleu Fe^{2+} .

b-Mode opératoire:

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 2,5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; l'acide ascorbique et l'acide gallique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Zovko Končić *et al.*, 2010).

3.3- Test de blanchissement du β - carotène

a-Principe :

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui vont oxyder le β -carotène au niveau des doubles liaisons (Cheufa et Allem, 2016). Le β -carotène non oxydé est de couleur rouge et qui perd cette coloration après oxydation, on parle de blanchiment du β -carotène. Un pouvoir antioxydant est la capacité d'empêcher cette oxydation par une molécule de référence ou par les extraits végétaux (Tepe *et al.*, 2005 ; Kouamé *et al.*, 2009).

b-mode opératoire :

Brièvement 2 mg de β -carotène ont été dissous dans 10 ml de chloroforme. 1ml de la solution obtenue a été introduit dans un ballon contenant 20 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme, 50 ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés avec agitation vigoureuse 2 ml de la solution obtenu est mélangée avec 100 μ l de chaque extrait (1g/ml) et du témoin BHT. L'absorbance a été immédiatement mesurée pour le BHT à 470 nm. Les autres lectures sont mesurées après 2h d'incubation à 50°C (Tepe et al., 2005).

Les étapes de test de β -carotène :

- Préparation des 1 extraits (AQ-AC-EC) (1g/ml)
- La dilution des extraits
- Préparation de blanc (20mg acide linoléique ; 200mg tween 40 ; 50ml l'eau distillé)
- Préparation de l'émulsion
- Préparation du mélange extrait / émulsion
- La DO de contrôle au temps T0min
- Les tubes couverts sont placés dans un bain marie réglé à 50°C pendant 120min
- les DO sont lues à T120 min pour tous les tubes

c-Expression des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la décoloration du β -carotène en employant la formule suivante:

Pourcentage d'inhibition = $[(A_t - C_t / C_0 - C_t)] \times 100$ (Wannes et Marzouk, 2016).

A_t et C_t: Absorbance de l'échantillon et de control après incubation de 120 minutes.

C₀: Absorbance du contrôle négatif à t0.

C_t; Absorbance du contrôle négatif après incubation de 60 minutes.

Résultats et interprétation

1-Activité antioxydante :

1-1 Pouvoir antiradicalaire des extraits de l'*Arbutus unedo* sur le DPPH :

Nous avons étudié le pouvoir des extraits de l'*Arbutus unedo* sur le piégeage de radical libre DPPH. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de graphes de pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits ou de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence.

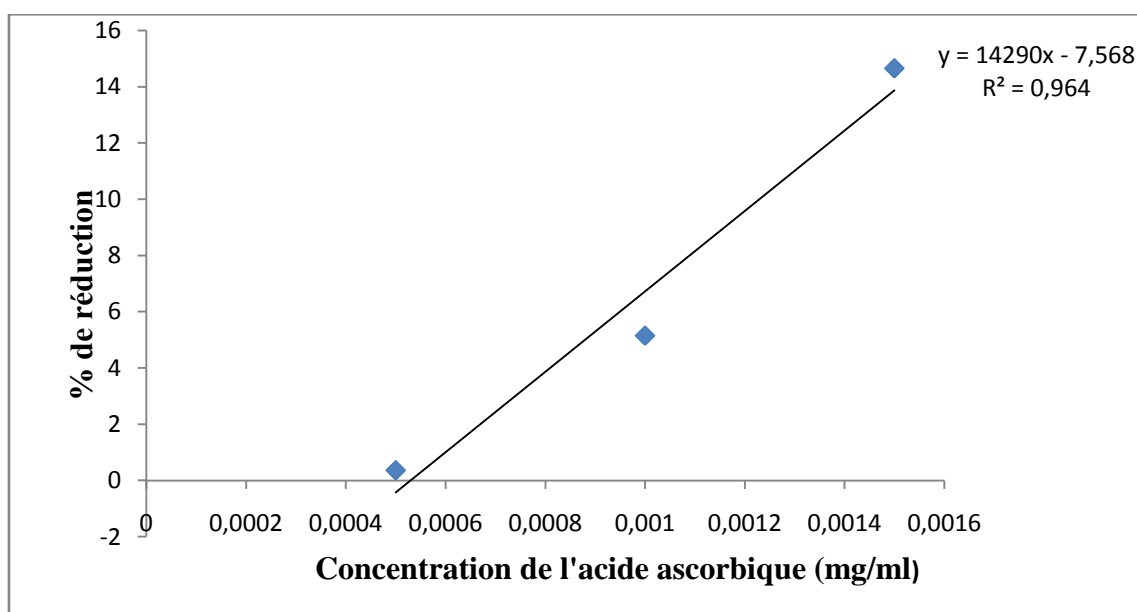


Figure08 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

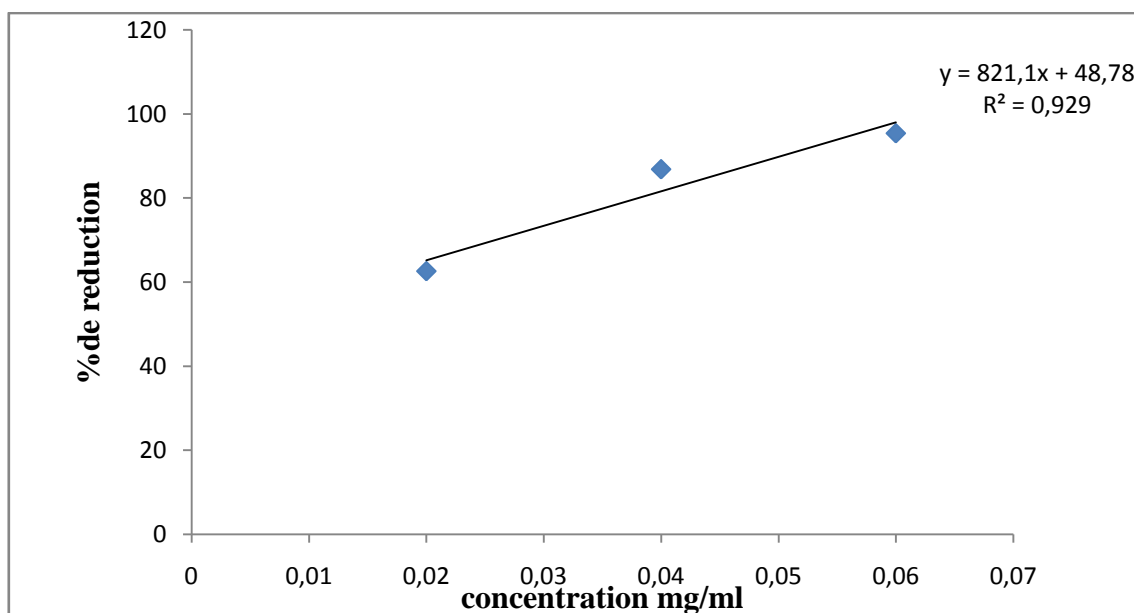


Figure09 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait l'eau-acétone.

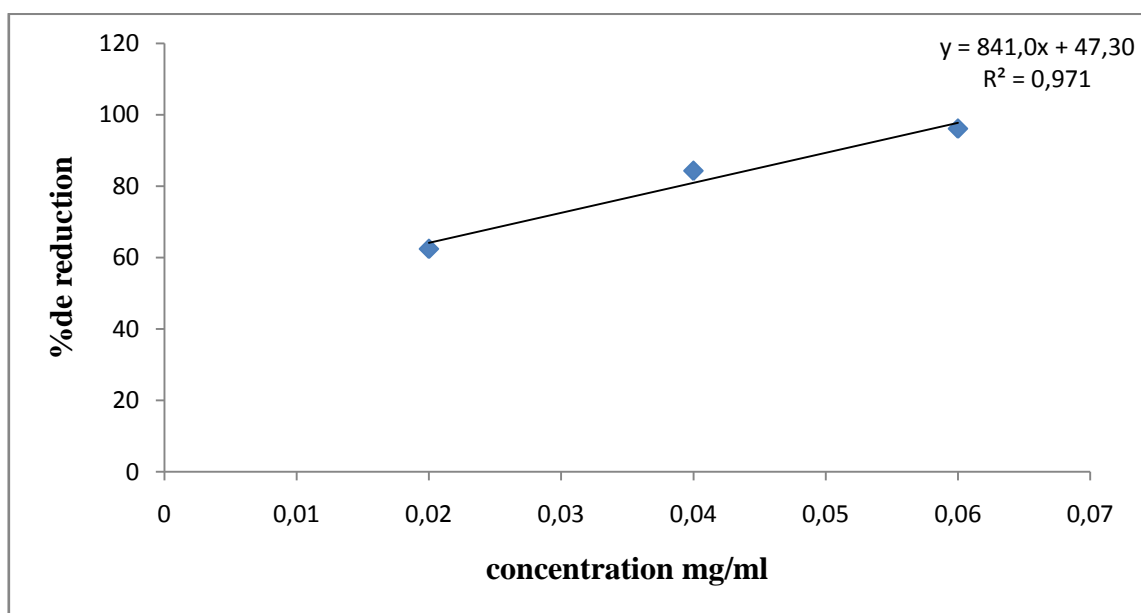


Figure10 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de fraction aqueuse.

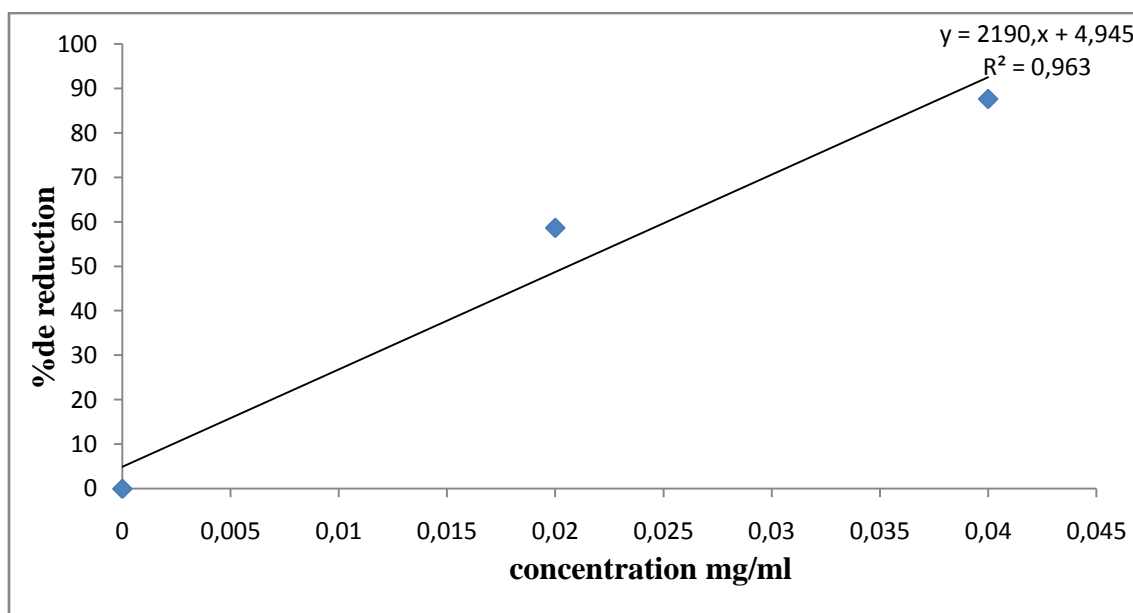


Figure11 : Pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations de fraction d'acétate éthyle.

L'extrait eau-acétone a montré l'activité la plus élevée. Pour 20 μ g/ml, l'extrait eau-acétone a atteint un pourcentage d'inhibition de 62,56%. A cette même concentration, la fraction aqueuse produit un pourcentage d'inhibition de 60,44%, alors que la fraction d'acétate a présente le plus faible pourcentage de réduction de 50,64%.

Tableau01 : valeur des IC₅₀ des extraits d'*Arbutus unedo* et l'acide ascorbique :

Extraits	Acide ascorbique	Eau - acétone	Fraction aqueuse	Fraction d'acétate d'éthyle
IC50(mg /ml)	0,004	0,0014	0,0032	0,023

Les valeurs IC₅₀ déterminées en mg/ml exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH. Les valeurs inférieures de IC₅₀ indiquent l'efficacité de l'extrait et donc le pouvoir antioxydant plus fort. D'après les IC₅₀ obtenus, on ne constate que l'extrait eau-acétone présente la IC₅₀ plus faible de (0,0014 mg/ml) par rapport à celle de l'acide ascorbique (0,004 mg/ml), et donc une activité antioxydante importante ; suivi par la fraction aqueuse qui reste encore plus efficace que le témoin et la fraction d'acétate d'éthyle.

1-2-Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power) :

L'analyse du pouvoir réducteur consiste en la mesure de l'augmentation de l'absorbance des ions ferriques (Fe^{2+}) formés.

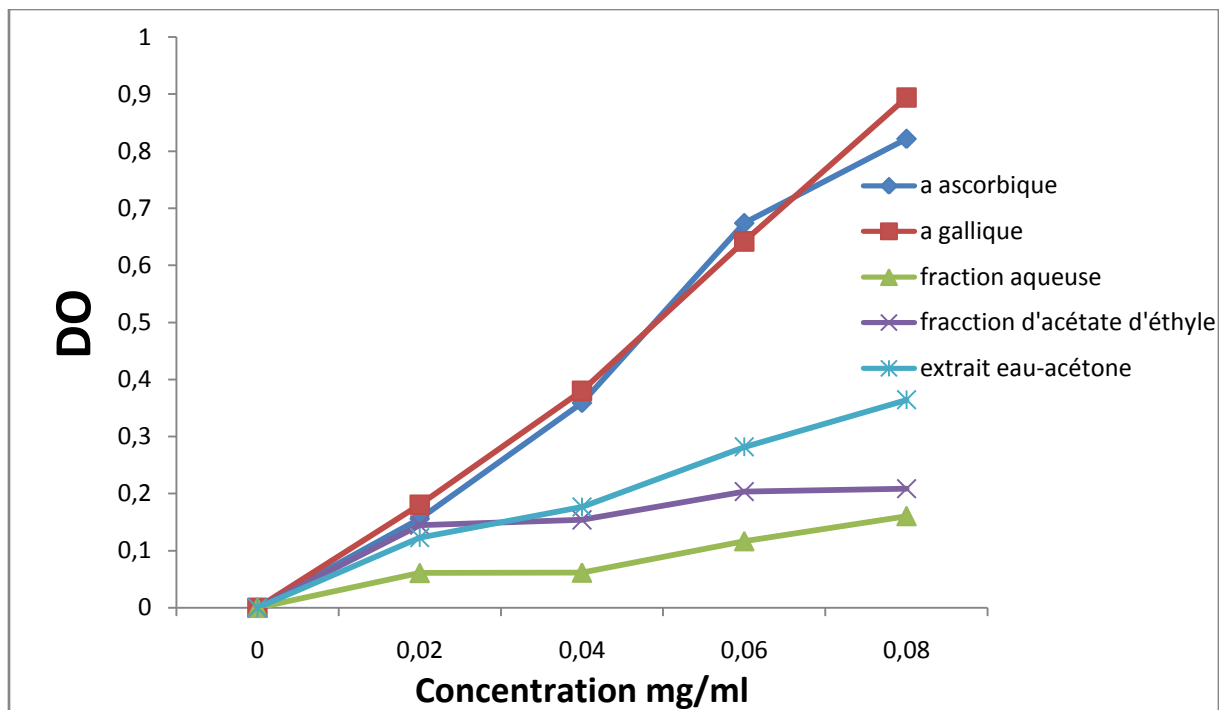


Figure12 : pouvoir réducteur des extraits eau-acétone, aqueuse, et d'acétate des racines *d'Arbutus unedo* testé par la méthode de FRAP

D'après les graphes, nous constatons que l'extrait eau-acétone présente une activité importante réduisant le fer suivi de la fraction d'acétate d'éthyle, alors que la fraction aqueuse a présente un pouvoir réducteur inférieur par rapport à ces deux extraits.

L'extrait eau-acétone à présent l'activité la plus élevée pour réduire le fer avec un densité optique(DO) de 0,176 puis fraction d'acétate d'éthyle avec un DO de 0,156 et en fin la fraction aqueuse avec un DO de 0,061 pour la concentration 0,04mg /ml. L'acide ascorbique et l'acide gallique qui sont employés dans cette méthode comme de contrôles positifs, sont montrées un pouvoir réducteur plus élevés (DO égale 0,38 et 0,35 respectivement) pour des concentrations égales.

Aussi, nous remarquons que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits des racines de *l'A.unedo*.

1-3-Test de blanchissement du β - carotène :

Dans la méthode de blanchissement de la β -carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui attaque la double liaison de β -carotène et donc sa décoloration.

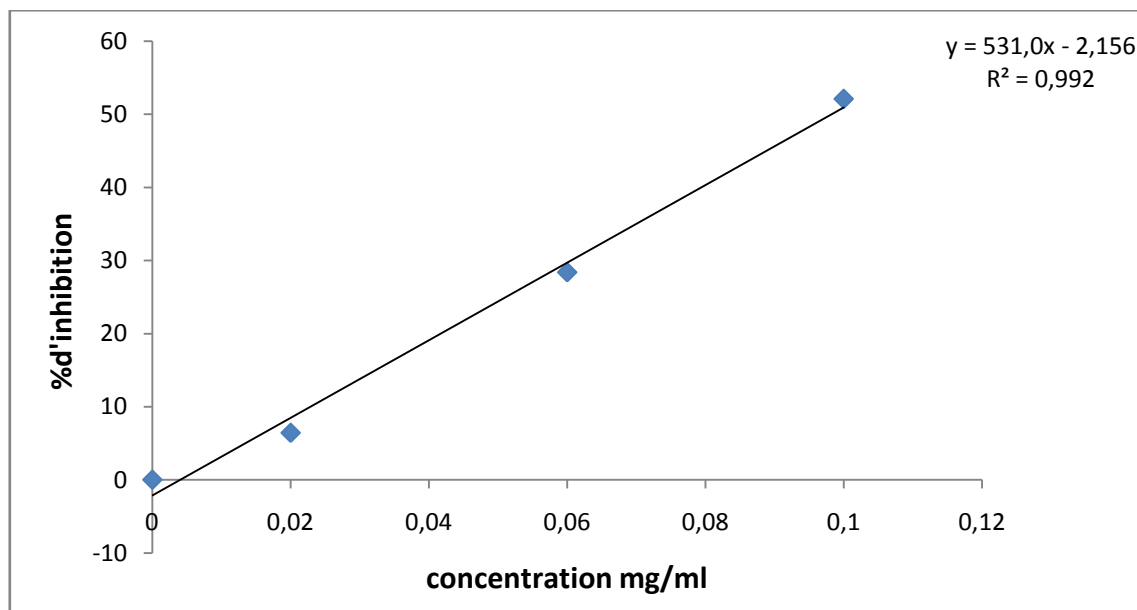


Figure13 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de BHT

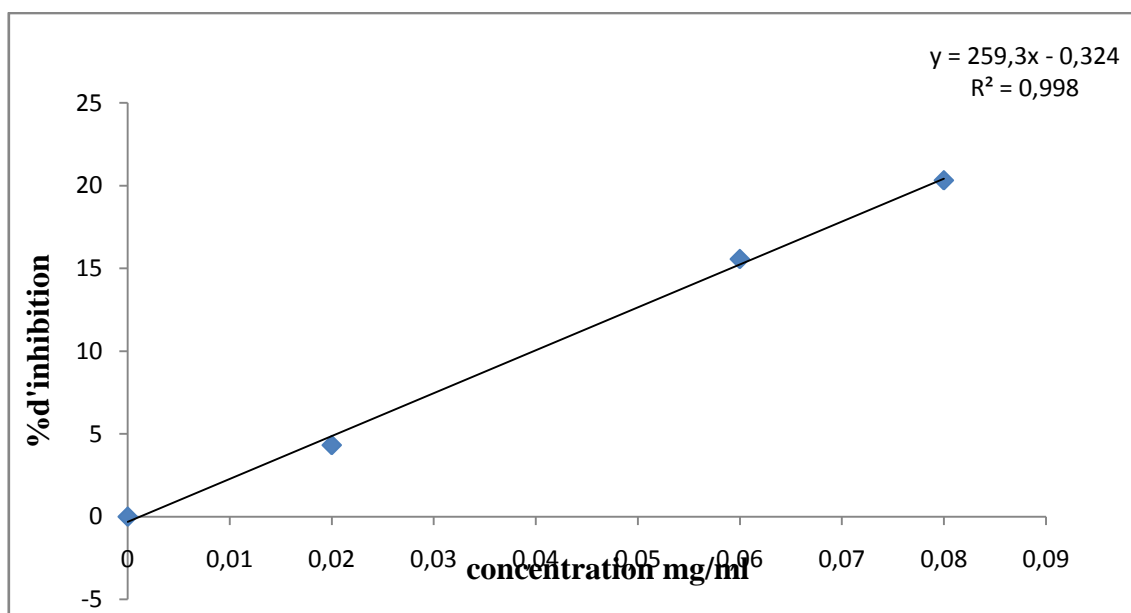


Figure14 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de l'extrait eau-acétone.

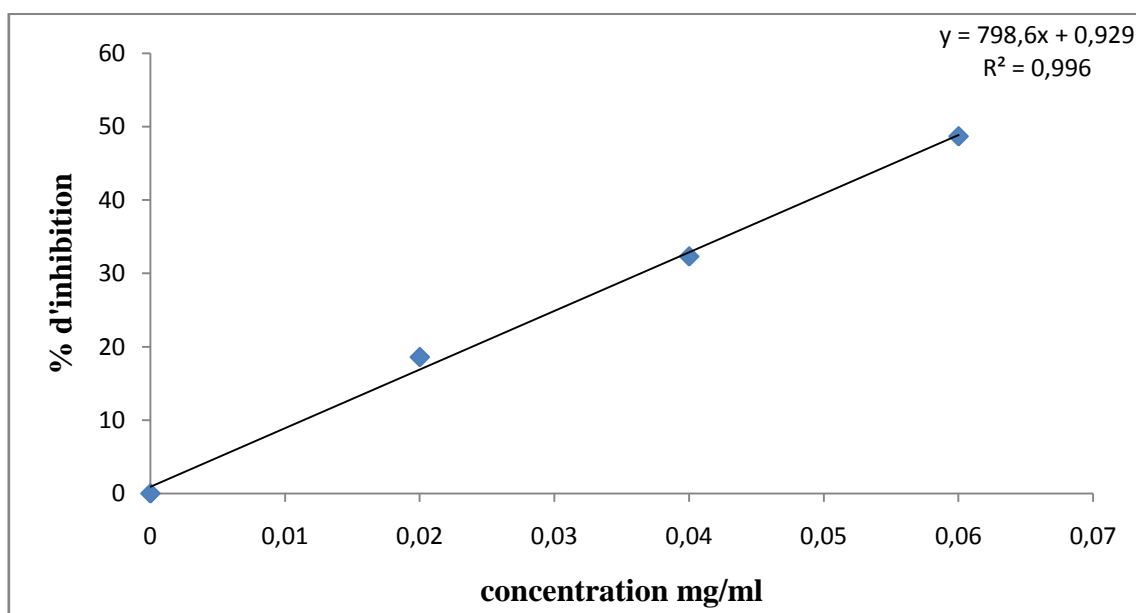


Figure15 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de fraction aqueuse.

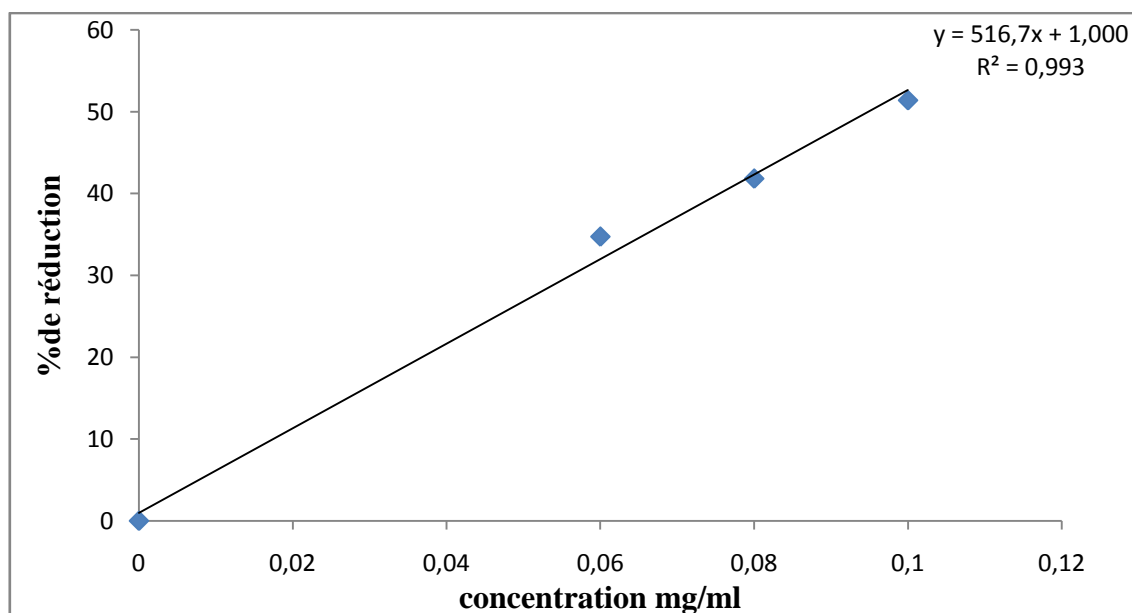


Figure16 : Pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β carotène en fonction des concentrations de fraction d'acétate éthyle.

Tableau02 : valeur des IC_{50} des extraits d'*Arbutus unedo* et de BHT :

Extraits	BHT	Eau - acétone	Fraction aqueuse	Fraction d'acétate d'éthyle
IC₅₀ (mg /ml)	0,098	0,19	0,061	0,094

Le potentiel antioxydant de l'extrait eau-acétone et ses fractions est évalués par la détermination de la capacité d'inhibition de l'oxydation du β -carotène. Les courbes montrent l'oxydation (blanchissement) du β -carotène dans un temps de 120min. La diminution de l'absorbance est due à l'oxydation du β -carotène par l'acide linoléique. L'ajout de substance antioxydante, joue un rôle protecteur et inhibe ou ralentit cette oxydation. Cet effet protecteur est mesuré par le taux d'inhibition du blanchissement du β -carotène à la fin de la durée d'incubation. Les résultats obtenus montrent que la fraction aqueuse présente une meilleure activité ($IC_{50} = 0,061\text{mg/ml}$) par rapport au témoin positif BHT ($IC_{50}=0,098\text{mg/ml}$), puis fraction acétate éthyle ($IC_{50}=0,094$) et l'extrait eau-acétone ($IC_{50}=0,19$).

Discussion

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (Sanchez, 2002 ; Huang et Prior, 2005).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène, l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydrox phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) (Bartosz, 2003).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes $\text{ROO}\cdot$ par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) (Ricardo *et al.*, 1991). Les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) (Benzie et Strain, 1996) ; ou les radicaux $\text{ABTS}\cdot$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (Re *et al.*, 1999) ainsi que la méthode utilisant le radical libre $\text{DPPH}\cdot$ (diphényl-picrylhydrazyle) et la méthode de décoloration du bêta-carotène (Sharma et Bhat, 2009).

D'après les résultats de la technique du piégeage du radical de $\text{DPPH}\cdot$, notre plante a montré une bonne activité avec les trois extraits des racines de *l'Arbutus unedo*, en particulier l'extrait eau-acétone qui a présenté l'activité la plus élevée avec une IC_{50} de 0,0014mg/ml par rapport à l'acide ascorbique avec 0,004mg/ml, alors que la fraction aqueuse présente une IC_{50} de 0,0032mg/ml et la fraction d'acétate avec une IC_{50} de 0,023mg/ml. Cette différence pourrait être attribuée à divers composés extraits par des solvants de polarité différente (Lafka *et al.*, 2013).

Djabou et al.,(2013) ont étudié l'activité antioxydante des racines fraîches d'*A. unedo* ont été recueillies dans la forêt de Terni (à environ 20 km au sud de Tlemcen) ou les résultats de la méthode du piégeage du radical de $\text{DPPH}\cdot$ a montré une activité très élevée pour l'extrait d'acétate d'éthyle des racines de *l'Arbutus unedo* suivi par l'extrait méthanolique.

Moualek *et al.*, (2016), ont réalisé une étude sur l'activité antioxydante (DPPH) de l'extrait aqueux des feuilles de *l'Arbutus unedo*. Ils ont montré que cette extrait a une IC₅₀ de (7,956 ±0,278) mg / ml.

Selon Barros *et al.*,(2010), les résultats de la méthode de DPPH a montré une activité très élevée pour l'extrait de fruits des *A.unedo* avec une IC₅₀ de 0.81mg/ml.

En traitant ces données bibliographiques, on peut facilement remarquer que la partie racine reste efficace vis-à-vis de l'activité antioxydante selon la méthode du radical DPPH.

D'après les résultats obtenus de la technique de la réduction du fer (FRAP), nous avons remarqué une augmentation de la réduction du fer qui est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits des racines de *l'Arbutus unedo*. Ainsi nous pouvons remarquer que l'extrait eau-acétone et les deux fractions aqueuse, et d'acétate présentent un pouvoir réducteur inférieur à celui de l'acide ascorbique et l'acide gallique, par rapport au l'extrait eau-acétone a présent le plus d'activité pour réduire le fer que fractions aqueuse et d'acétate avec des densités optiques de 0,176, 0,154, 0,06 respectivement à la concentration de 0,04mg/ml.

Selon Djabou *et al.*,(2013) les résultats de la méthode de FRAP ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle des racines d' *A.unedo* présent le pouvoir réducteur le plus élevé.

De même pour Moualek *et al.*, (2016) dont les résultats de la réduction du fer (RFAP) ont montré une activité très élevée pour l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo*.

Pour prouver le potentiel antioxydant des racines d'*Arbutus unedo*, nous avons réalisé aussi le test de β-carotène. Les résultats de ce test montrent que la fraction aqueuse présente la meilleure activité inhibitrice de l'oxydation de β-carotène avec une IC₅₀ de 0,061 mg/ml par rapport au témoin BHT avec une IC₅₀ de 0,098mg/ml, puis la fraction d'acétate d'éthyle avec une IC₅₀ de 0,094mg/ml proche à celle de BHT. Par contre l'extrait eau-acétone présente une IC₅₀ de 0.19mg/ml supérieur à celle de BHT.

D'après Barros *et al.*, (2009), les fruits de *l'Arbutus unedo* par le test de blanchissement de β-carotène à produit une IC₅₀ de 0,77mg/ml pour l'extrait méthanolique.

Selon Moualek *et al.*, (2016), les résultats de l'inhibition de l'oxydation de β-carotène montré une activité très élevée pour l'extrait aqueux des feuilles d'*Arbutus unedo*.

Selon Dib *et al.*, (2013), l'étude photochimique montre la présence de divers composés dans l'*A.unedo* tels que les quinones, les anthraquinones, les composés réducteurs, les anthocyanines, les flavonoïdes et les tanins. Cependant, les alcaloïdes, les saponines et les coumarines n'ont pas été détectés.

D'après Medjdoub *et al.*, (2014), les racines d'*A. unedo* sont très riches en flavonoïdes, tanins, saponosides, acides aminés et alcaloïdes. Cela se contredit avec les résultats trouvés par Dib *et al.*, (2013) où ils montrent l'absence des alcaloïdes et des saponosides.

La bibliographie confirme l'efficacité antioxydante des racines de la plante étudiée par rapport aux feuilles. Nos résultats sont donc conformes avec la littérature.

Il est donc, souhaitable de fractionner encore les extraits actifs afin d'identifier la conjugaison des molécules actives ou la molécule active.

Il ressort donc, après la réalisation de ce travail, que les racines d'arbousier sont douées d'une activité antioxydante remarquable et qu'elles méritent d'être encore étudiées.

Conclusion

Dans le présent travail nous avons évalué le pouvoir antioxydant d'*Arbutus unedo*, une plante utilisée par la population locale pour traiter diverses maladies.

Nous avons évalué l'activité antioxydante des racines de *l'Arbutus unedo* par trois techniques : le piégeage du radical DPPH, le pouvoir réducteur du fer (FRAP) et le blanchissement du β - carotène.

Pour la première technique, l'extrait eau-acétone a montré l'activité la plus élevée avec une IC_{50} de 0,0014mg/ml suivi de la fraction aqueuse avec une IC_{50} de 0,0032mg/ml, et en fin la fraction d'acétate éthyle avec une IC_{50} de 0,023mg/ml.

Aussi, l'activité antioxydante a été évaluée par la technique de réduction de fer « FRAP », les résultats montrent que l'extrait eau-acétone a la capacité réductrice la plus élevée que les deux fractions l'acétate éthyle et aqueuse (DO=0,176 pour l'extrait eau-acétone ; DO=0,156 pour la fraction d'acétate d'éthyle ; DO=0,061 pour la fraction aqueuse pour une concentration de 0,04mg/ml), qui reste inférieure par rapport à l'acide ascorbique et l'acide gallique, montrées nous avons enregistré des DO égale 0,38 pour le première et 0,35 pour la deuxième et cela de 0,04mg/ml.

Enfin, les résultats de la technique de blanchissement de β -carotène ont montré que la fraction aqueuse présente une meilleure activité d'inhibition de l'oxydation du β carotène avec une IC_{50} de 0,061mg/ml suivi par la fraction d'acétate d'éthyle avec une IC_{50} de 0,094mg/ml qui été inférieur à celle de BHT(IC_{50} =0,098mg/ml), molécule de référence et à la fin l'extrait eau-acétone avec une IC_{50} de 0,19mg/ml.

Donc les résultats de notre travail montre que *l'Arbutus unedo* est une source prometteuse de composés antioxydants et qui peuvent être étudié ultérieurement par d'autres techniques de fractionnement et d'identification structurale afin de cibler la ou les molécules responsable de ces effets.

**Les references
bibliographiques**

A.M. Pawlowska, M. De Leo and A. Braca, Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: identification of anthocyanins and gallic acid derivatives, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2006); 54, 10234–10238.

Abdelghafour Marfak, Radiolyse gamma des flavonokles. etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides, (these de doctorat), l'Universite de Limoges, Ecole Doctorale Sciences Biologie Sante, Faculte de Pharmacie. (2003) ; p 30-34

Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E., & Djaziri, R. Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*. (2016) ; 14(4), 207-212.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*. (2007); 74(4), 324-329.

Aksil, T.. *Caractérisation physico-chimique du fruit de l'arbousier (Arbutus unedo L.) du nord Algérien et de la datte (Phoenix dactylifera L.) du nord Algérien et de la datte (Phoenix dactylifera L.)* (Doctoral dissertation). (2015).

Alarcao-E-Silva, A.E.B. Leitao, H.G. Azinheira and M.C.A. Leitao, The *Arbutus* berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages, *Journal of Food Composition and Analysis*. (2001); 14, 27–35.

Albuquerque, B. R., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Rodrigues, A., Curran, T. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Industrial Crops and Products*. (2017); 95, 404-415.

Ayaz F.A.; Kucukislamoglu M.; Reunanen M. Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *Ellipsoidea*) fruits. *J. Food Comp. Anal.* (2000); 13, 171-17.

B.Halliwel, *How to characterize a biological antioxidant*, *Free Radic, Res. Commn.* (1990); 9, 1-32.

Barouki, R.. Stress oxydant et vieillissement. médecine/sciences. (2006) ;22(3), 266-272..

Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R., Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chem.* (2010); 120, 247–254

Bartosz G. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology.* (2003); 9, 5-21.

Baudin, B. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio.* (2006) ; 2(1), 43-52.

Bekkara, F., Jay, M., Viricel, M. R., & Rome, S. Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. *Plant and Soil.* (1998); 203(1), 27-36.

Bellakhdar, J. *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base: précis de phytothérapie moderne.* Eds Le Fennec. (2006).

Benbrook, C. M. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. *Rapport sur l'état des connaissances scientifiques.* The Organic Center for Education and Promotion. (2005) ; 45.

Bensabeur, k(2009). *Contribution a l'etude chimique des huiles essentielles des feuilles et des tiges d'arbutus unedo l* (doctoral dissertation, 12/01/2016).

Benzie I. F., Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* . (1996); 239, 70-76.

Beyer, R. E., the role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes, Interaction with vitamin E and coenzyme Q.J *Bioenerg Biomembr.* (1994) ; 26, 349-358.

Bhuiyan, M. S. A., Yu, S. L., Jeon, J. T., Yoon, D., Cho, Y. M., Park, E. W., ... & Lee, J. H. DNA polymorphisms in SREBF1 and FASN genes affect fatty acid composition in Korean cattle (Hanwoo). *Asian-Aust J Anim Sci.* (2009); 22(6), 765-73.

Bidié, A. P., N'guessan, B. B., Yapo, A. F., N'guessan, J. D., & Djaman, A. J. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature.* (2011) ; 8(1-2), 1-12.

Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. (1958) ; 181, 1199-1200

Bnouham M.; Merhfour F.Z.; Legssyer A.; Mekhfi H.; Maallem S.; Ziyat A. Antihyperglycemic activity of *Arbutus unedo*, *Ammoides pusilla* and *Thymelaea hirsuta*. *Pharmazie*. (2007); 62, 630-632.

Boss.I.P.L. Etudes des activités biologiques fagara xanthoxyloides LAM (Rutaceae).Thèse de Pharmacie, Bamako. (2002) ; 133.

Bossokpi, I. P. L. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam (Rutaceae) (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie, Université de Bamako, Bamako).

Bougandoura N., Bendimerad N.,. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. *Nature & Technologie*. (2013) ; (9): 15p.

Boullard, B., *Plantes Médicinales du Monde; Réalités et Croyances*, Edition *ESTEM*. (2001) ; p50, 80

Bourgad, F.,Gravot, A.,Mielesi, S.,Gontier, E. McAnalley,S., McAnalley, B. Etude a pilot ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience et Nutrition*. (2003) ; pp.4-7

Brahim, b. e. l. a. d. e. l. (2015). *these de doctoratessciences en physique* (doctoral dissertation, université de tlemcen).

Brenna JT. Arachidonic acid needed in infant formula when docosahexaenoic Acid is present. *Nutr Rev*. (2016); 74, 329 -36.

Burk, R. F., Selenium, and antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care*. (2002); 5, 47-49.

Celikel, G., Demirsoy, L., Demirsoy, H. The strawberry tree (*Arbutus unedo*). Selection in Turkey. *Scientia Horticulturae*. (2008); 118, 115-119.

Cheurfa, M., & Allem, R. Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. *Phytothérapie*. (2016) ; 14(3), 181-187.

Cillard, J., & Cillard, P. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*. (2006) ; 13(1), 24-29.

Dalatre, J., Beaudoux, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. Radicaux libres et stress oxydant(aspect biologique et pathologiques). (2005).

Dib, M. E. A., Allali, H., Bendiabdellah, A., Meliani, N., & Tabti, B. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. *Journal of Saudi Chemical Society*. (2013); 17(4), 381-385.

Durand G., Beaudoux J.L., - Biochimie médicale: Marqueurs actuels et, perspectives.Ed. Lavoisier, Paris. (2011) ; p :607.

Dutertre Julie Marie-Josèphe; Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion: à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généralist; Université Bordeaux 2 - Victor Segalen. (2011) ; (P: 33-38).

Ekoumou, C. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Bamako: Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de Bamako.

El Haouari, M., Lépez,J.J., Mekhfi,H., Antiagregant effects of *Arbutus unedo* extracts in humanplatelets, *J. Ethnopharmacology*. (2007); 113,325-331,.

Favier, A. Le stress oxydant. L'actualité chimique. (2003) ; 108.

Favier, A.. Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. (2006); 64(6), 390-396.

Forsberg, L., de Faire, U., & Morgenstern, R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. (2001); 389(1), 84-93.

Gardner, R., Salvador, A., & Moradas-Ferreira, P. Why does SOD overexpression sometimes enhance, sometimes decrease, hydrogen peroxide production? A minimalist explanation. *Free Radical Biology and Medicine*. (2002); 32(12), 1351-1357.

Grimsrud, P. A., Xie, H., Griffin, T. J., & Bernlohr, D. A.. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes. *Journal of Biological Chemistry*. (2008); 283(32), 21837-21841.

Guimarães, R., Barros, L., Calhella, R.C., Carvalho, A.M., Queiroz, M.J.R.P., Ferreira, I.C.F.R., Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from Northeastern Portugal: a comparative study. *Plant Foods Hum. Nutr.* (2014); 69, 37–42.

Guo, L., Mekuria, G., Burr, M., Collins, G., Sedgley, M. Selection of determination of fire synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS Analytical and Bioanalytical Chemistry. (2006); 386(6), 1881-1887.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege.* (2007); 62(10) : 628-38.272

Halsted, J. A., Smith, J. C., & Irwin, M. I. A conspectus of research on zinc requirements of man. *The Journal of nutrition.* (1974) ; 104(3), 345-378.

Herber , M. Trace Element Analysis in Biological Specimens (Techniques and instrumentation in analytical chemistry). Edited by: R.F.M. Herber , M. Stoepler. ISBN: 0444898670 Elsevier science B. V. Edition Hardcover. (1994); 15, p 576.

Houria Medjdou, Chaouki Selles, and Boufeldja Tabti. Preliminary phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. and antihyperglycemic effect of the root aqueous extract on streptozotocininduced diabetic Wistar rats. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2014, 6(11):195-199

Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. and Food Chemist.* (2005); 53, 1841-1856.

Iserin, P. *Larousse des plantes médicinales.* Larousse. (2008).

Kar A. Pharmacognosy and pharma biotechnologie. 2nd Ed: new Age International Publisher. (2007); pp.1-30

Ko, T. P., Safo, M. K., Musayev, F. N., Di Salvo, M. L., Wang, C., Wu, S. H., & Abraham, D. J. Structure of human erythrocyte catalase. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography.* (2000); 56(2), 241-245.

Koehlin-Ramonatxo C., Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way of nutrition in respiratory diseases. *Nutr. Clin. et Métab.* (2006); 20, 165-177.

Končić, M. Z., Kremer, D., Karlović, K., & Kosalec, I. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and chemical toxicology*. (2010) ; 48(8), 2176-2180

Kouamé, J. A., Gnoula, C., Palé, E., Bassolé, H., Guissou, I. P., Simporé, J., & Nikièma, J. B. Etude des propriétés cytotoxiques et antiradicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). *Science et technique-Sciences de la santé*. (2009) ; 9-23.

Lefahal Mostefa., Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles *Plumbaginaceae*, *Tamaricaceae* et *Apiaceae* ; Université de Constantine. (2014); 1, P : 02.

Marfak, A. Radiolyse gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de diaspides. *Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges*.(2003) ; 10-11.

Mark, S., Skerget, M., Kenz, Z., Antioxydant and antimicrobial activity of hyperoxiamediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependant vasodilatation, *American Journal Physiol*. (2002); 282, 414-421.

McCord JM, Fridovich I. . Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*. (2000) ; 244, 6049-6055.

Menvielle-Bourg, F. J. La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*. (2005) ; 3(3), 118-121.

Migdal, C., & Serres, M.. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*. (2011); 27(4), 405-412.

Mitchell, D. L., Meador, J., Paniker, L., Gasparutto, D., Jeffrey, W. H., Cadet, J. Development and application of a novel immunoassay for measuring oxidative DNA damage in the environment. *Photochem photobiol*. (2002); 75, 257-263.

Moualek, I., Aiche, G. I., Guechaoui, N. M., Lahcene, S., & Houali, K. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. (2016) ; 6(11), 937-944.

Nowak, G., Nawrot, J., & Latowski, K. Arbutin in *Serratula quinquefolia* MB [Asteraceae]. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. (2009); 78(2), 137-140.

Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *The Japanese Journal of Nutrition*. (1986); 44(6), 307-315.

Pallauf K.; Rivas-Gonzalo J.C.; del Castillo M.D.; Cano M.P., de Pascual-Teresa S. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *J. Food Comp. Anal.* (2008); 21, 273-281.

Pawlowska A.M.; De Leo M.; Braca A. Phenolics of *Arbutus unedo* L. (ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* (2006); 54, 10234-10238.

Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., & Defraigne, J. O. Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Act Med Int*, (2001). 4, 18-23.

Popovici, C., Saykova, I., & Tytkowski, B. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. (2010).

Pories, W.J., Mansour, E.G., In: Prasad, A.S., D'Oberleas (Eds.), Trace Elements in Human Health and Diseases. Acad. Press, New York. (1976) ;115–142.

Quevedo, L., Arnan, X., & Rodrigo, A.. Post-fire forestry management improves fruit weight and seed set in forest coppices dominated by *Arbutus unedo* L. *Forest Ecology and Management*. (2015); 345, 65-72.

Rayman, M. P., the argument for increase selenium intake. *Proc Nutr Soc.* (2002); 61, 203-215.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice- Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. (1999); 26, 1231-1237.

Ricardo da Silva J.M., Darmon N., Fernandez Y., Mitjavila S. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (1991); 39, 549-1552.

Rondeau, P. (2009). *Stress oxydant et glycation: relation structure et activités biologiques de l'albumine in vitro et in vivo dans le cadre de la pathologie diabétique* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Roussel, T. H., Ferry, M., Le stress oxydant, nutrition et vieillissement. *Nutr Clin Metabol.* (2002); 16, 285-292.

Samarth R.M., Panwar M., Soni A., Kumar M., Kumar A.; Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract, *Food Chemistry.* (2008); 106, 868-873.

Sanchez-Moreno C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International.*(2002); 8 (3), 121-137.

Şeker, M., & Toplu, C. Determination and comparison of chemical characteristics of *Arbutus unedo* L. and *Arbutus andrachnae* L.(family Ericaceae) fruits. *Journal of medicinal food.* (2010); 13(4), 1013-1018.

Seve M, Favier A. Métabolisme du zinc. *EMC* (Elsevier Masson SAS, Paris), Endocrinologie-Nutrition. (2002); 359 (10).

Sharma Om P., Bhat T.K., DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry.* (2009); 113 (4), 1202.

Sorg. O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* (2004); 327, 649-662.

Souchard, J.P., Arnal, J.F., Rochette, L., Les radicaux Libres et le Stress Oxydatif Radicalaire.(2002).

Stadtman, E. R. Role of oxidant species in aging. *Curr. Med. Chemiq.* (2004); 11, 1105–1112.

Stahl, W., et Sies, H., Carotenoide and protection against UV radiation. *Skin Pharmacol.Appl. Skin Physiol.* (2002); 15, 291-296.

Suhaj, M., Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Compos. and Analys.* (2006); 19, 531–537.

Tadhani, M.B., Patel, V.H., et Subhash, R., In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J. Food Compos. and Analys.* (2007); 20, 323-329

Takrouni, M. M., & Boussaid, M. Genetic diversity and population's structure in Tunisian strawberry tree (*Arbutus unedo* L.). *Scientia horticulturae.* (2010); 126(3), 330-337.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry.* (2005); 90, 333-340.

Touafek Ouassila ; Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud Algériens; Mentouri-Constantine. (2010); p :01.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology.* (2007); 39(1), 44-84.

Vann A.. The herbal medicine boom: Understanding what patients are taking. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* (1998); 65, 129-134.

Vârban D.I., Duda M., Vârban R., et Muntean S., Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. *Culture.Bulletin UASVM Agriculture.* (2009); 66, (2) 225- 229.

Vines G.. Herbal harvests with a future: towards sustainable sources for medicinal plants, *Plantlife International.* (2004).

Wannes, W. A., & Marzouk, B. Characterization of myrtle seed (*Myrtus communis* var. *baetica*) as a source of lipids, phenolics, and antioxidant activities. *journal of food and drug analysis.* (2016); 24(2), 316-323.

Williams G M. Interventive prophylaxie of liver cancer. *European Journal of Cancer Prevention.* (1994); 3,89-99.

الملخص

القطلب البري هي شجيرة تنتمي إلى عائلة Ericacées. تُعد من بين النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي في الجزائر لعلاج الأمراض المختلفة مثل مشاكل الكلى و السكري. في هذا العمل عرضنا جذور هذه النبتة إلى الاستخلاص بالحرارة في محلول ماء-أستون (30/70) (V/V). الهدف الرئيسي من هذا البحث هو دراسة القوة المضادة للأكسدة من مستخلص ماء-أستون و أجزائه (المائية و خلات الإيثيل). و قد تم استخدام التقنيات التالية: اختبار DPPH إرجاع الحديد FRAP وفي الأخير تقنية تبييض β كاروتين. لقد أظهر مستخلص ماء-أستون ($IC_{50} = 0.0014 \text{ mg/ml}$) و هو نشاط عالي مقارنة مع الأجزاء المائية و خلات الإيثيل في تقنية DPPH. و كذلك بالنسبة لتقنية FRAP. بالنسبة لتقنية تبييض β كاروتين الجزء المائي له أحسن نشاط مقارنة مع جزء خلات الإيثيل و مستخلص ماء-أستون. في الختام نلاحظ أن مستخلص الجذور ماء-أستون يظهر نشاط ملحوظ مضاد للأكسدة و هذا يقودنا إلى مواصلة هذا البحث مستقبلا.

الكلمات المفتاحية: القطلب البري، مستخلص ماء-أستون، القوة المضادة للأكسدة إرجاع الحديد FRAP، اختبار DPPH

Résumé

L'Arbutus unedo est un arbuste qui appartient à la famille des Ericacées. C'est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie pour traiter diverses maladies telle que le diabète les problèmes rénaux. Les racines de la plante ont été soumises à une extraction sous reflux dans eau-acétone (30/70) (V/V).

Cette plante miraculeuse, a fait l'objet de notre travail dont l'objectif est d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait eau-acétone des racines de cette arbuste ainsi ses fonctions, aqueuse et acétate. Du fait, l'extrait est préparé par décoction sous reflux dans l'eau-acétone (30/70) suivi d'un fractionnement liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

Trois techniques d'évaluation du pouvoir antioxydant appliquées. Piégeage du radical DPPH, réducteur du fer (FRAP) et le blanchissement du β - carotène.

L'extrait eau-acétone a montré une activité très élevée dans la technique de piégeage du radical DPPH avec une IC_{50} de 0,0014mg/ml par rapport à ceux des fractions aqueuse et acétate d'éthyle. La même constatation pour la réduction du fer.

Pour la technique de blanchissement du β -carotène la fraction aqueuse présente une meilleure activité par rapport à la l'extrait eau-acétone et la fraction d'acétate d'éthyle.

En conclusion, les racines d'*Arbutus unedo* présentent une activité antioxydante remarquable surtout pour l'extrait eau-acétone. Cela nous amène à poursuivre ce travail ultérieurement.

Mots clés : *Arbutus unedo*, extrait eau-acétone, Activité antioxydante, Réduction de fer, piégeage du DPPH

Abstract

Arbutus unedo is a shrub which belongs to the family Ericaceae. It is a medicinal herb used in Algerian traditional medicine to treat various diseases such as the diabetes and the renal problems. The roots of the plant were subjected to an extraction by refluxing with water-acetone (30/70)(V/V).

This miraculous plant was the object of our work whose objective is to evaluate the antioxydant power of the roots water-acetone extract and its fractions, aqueous and ethyl acetate. Therefore, the extract is prepared by decoction under backward flow in water-acetone (30/70) followed by a fractionation liquid-liquid by the ethyl acetate.

Three tests of evaluation of the antioxydant power are applied. Scavenging of the radical DPPH, iron reducing power (FRAP) and the bleaching of the β - carotene.

The water-acetone extract showed a very high activity in scavenging DPPH with an EC_{50} of 0,0014mg/ml compared to the aqueous and ethyl acetate fractions. The same result was obtained for the iron reducing.

For the bleaching of β -carotene test, the aqueous fraction presents a better activity compared to the water-acetone extract and the ethyl acetate fraction. In conclusion, the roots of *Arbutus unedo* present a remarkable antioxydant activity for the extract water-acetone. That leads us to continue this work later on.

Keywords: *Arbutus unedo*, water-acetone extract, antioxidant activity, iron Reduction, Radical scavenging of DPPH