

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

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



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Département : Biologie

Thème

Évaluation de l'activité antioxydante de deux plantes médicinales
(Calendula suffruticosa et Drimia anthericoides)

Présenté par :

- Ghaoui Abir
- Hadjailia Rahma
- Nouaouria Hana

Devant le jury composé de :

Président	:	Dr. ROUABHIA K	MAA	Université de Guelma
Examineur	:	Dr. BAALI S	MAA	Université de Guelma
Encadreur	:	Dr. HAMDIKEN M	MCB	Université de Guelma

Juin 2023

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU tout puissant de nous avoir donnés le courage et la volonté de terminer ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail en espérant être à la hauteur de leur confiance.

*Nous exprimons toute nos gratitude à **Monsieur Rouabhia** Professeur à l'Université 8 mai 1945 (Guelma- Algérie). Président du jury, pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury de notre soutenance de mémoire.*

*Nous s'adressons nos sincères remerciements à **Monsieur Baali** Professeur à L'Université 8 mai 1945 (Guelma- Algérie), d'avoir accepté d'examiner ce mémoire. Qu'il soit assuré de notre respectueuse et très sincère gratitude.*

*Merci infiniment à notre encadreur **Mme hamdiken malika** qui nous dirigées avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous voudrions aussi remercier **Beloucif Afef** : doctorante à l'Université Badji Mokhtar (Annaba- Algérie). pour leur aide durant la réalisation du travail au laboratoire.*

*Nous remercions également **Mme. Himer Ratiba** technicienne du laboratoire de biochimie, université de Guelma pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au laboratoire ainsi les techniciens des laboratoires (**Mehdi, Asma, Louisa, Hayet, Ghania et Houria**) qui nous ont facilité notre travail.*

Une pensée particulière pour l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude qu'ils trouvent ici notre sincère et profonde gratitude.

Une très spéciale merci pour nos familles qui nous ont toujours encouragées, ils ont toujours été là pour nous sans faille. Et surtout pour tout l'amour et le soutien qu'ils nous ont apporté à tous les moments de notre vie. Ils sont toujours été une source de tendresse et un modèle de travail, de sagesse et d'humilité.

Nos sincères remerciements aussi : a nos frères, a nos sœurs, et a nos amies et camarades.



Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

*A mes très chers parents ma mère SAMIA et mon père ABD
EL HALIM qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont
donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma
reconnaissance et tout mon amour.*

A mes chers frères BILLEL, AHMED, RAMY

A toute ma famille NOUAOURIA

A tous mes chères amies et confrères

E à tous mes amies de la promotion de Master de Biochimie

Appliqués 2023.

HANA





Dédicaces

Au nom de dieu le clément le miséricordieux

(Et dis: «Ouvrez, car Allah va voir votre œuvre, de même que Son messager et les croyants»).

Allah, l'Incommensurable a dit vrai.

Le voyage est terminé. Ce n'était pas facile et ce n'est pas censé l'être. Peu importe combien de temps cela prendra, il traversera ses bons et ses mauvais moments, et me voici maintenant avec l'aide de Dieu Tout-puissant, j'ai terminé ce travail.

Je dédie ce travail à celui qui m'a élevé et lutté pour moi, à celui qui m'a appris des valeurs et des principes, et à celui dont je porte le nom avec fierté, mon cher père.

À mon premier exemple et au sens de l'amour et du dévouement, au sourire de la vie et au secret de l'existence, à qui sa prière a été le secret de mon succès et sa tendresse est le baume de mes blessures à celui qui m'a guidé et accompagné dans tous mes parcours de vie et qui le fait encore jusqu'à présent, que Dieu la protège et lui accorde le pardon et le bien-être ma mère bien-aimée.

À mon soutien dans la vie et aux bougies qui illuminent mon chemin et inspirent mon succès, mes chers frères.

Abir





Dédicace

*Avant tous mes plus sincères remerciements à Dieu « **الله** » pour la volonté, la patience, la force et le courage qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade et pour réaliser ce travail*

A MES TRÈS CHÈRES PARENTS

*Ma mère **Ouahiba**, ma raison de réussite, l'exemple parfait de la femme idéale, le symbole de l'amour, la tendresse, la sympathie et le sacrifice, qui m'a toujours orienté pour acquérir le bonheur dans cette vie je te présente ma pleine gratitude et mon profond respect, j'espère que Dieu t'accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur. 'Je t'aime maman'*

*Mon père **Abd El Hafid**, ma source de bonheur, de tendresse et de confiance, merci Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant, et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici, ma profonde gratitude pour votre innombrables sacrifices que Dieu vous bénisse et vous garde en bonne santé. 'Je t'aime Papa'*

*A mes deux frères **Abd el Rahim** et **Ahmed***

*A ma sœur **BAYA***


*A mon oncle **Abd Allah** en particulier*

*À mon trinôme **Hana** et **Abir** qui sont partagées avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail et avec qui j'ai passé des années inoubliables.*

*A tous ceux que j'aime et que je respecte A tous mes proches et amis particulièrement **Selma**, **Djenette**, **Djihen**, **Madjda**, **Imed abd erahmen**, **Rayene**, **Rahma**, ... pour les instants de joie partagés en leur compagnie, leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent qu'ils soient assurés de toute ma reconnaissance et de mon amitié la plus sincère.*

À tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

RAHMA



Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antioxydante de l'extrait hydroalcoolique de deux plantes algériennes *Calendula suffruticosa subsp .foliosa (Batt.)* - *Drimia anthericoides (Poir.)*, et leur mélange. À cet effet, une étude phytochimique et des tests de l'activité antioxydante in vitro ont été réalisés pour estimer ces effets attendus.

Le rendement d'extraction le plus élevé était celui de l'extrait hydroalcoolique de mélange avec 18,23%, suivi par l'extrait hydroalcoolique de *Drimia anthericoides* avec 16,40%, puis par l'extrait hydroalcoolique de *Calendula suffruticosa* avec 10,08 %. La teneur en polyphénols totaux déterminée par la méthode de "Folin – Ciocalteu", la teneur en flavonoïdes évaluée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et la teneur en tanins mesurée par la méthode de vanilline, ont révélé la présence de ces composés en quantités importantes dans les deux extraits et leur mélange.

L'activité anti-oxydante in vitro a été évaluée par quatre techniques différentes: le test de DPPH, la réduction du fer « FRAP » le blanchissement du β -carotène et le piégeage de H₂O₂. Les extraits hydroalcooliques des deux plantes et leur mélange, ont montré une activité anti-oxydante très élevée, due à leurs richesses en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Mots Clés : *Calendula suffruticosa subsp .foliosa (Batt.)* - *Drimia anthericoides (Poir.)*
- Activité anti-oxydante.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant effect of the hydroalcoholic extract of two Algerian plants *Calendula suffruticosa* subsp .*foliosa* (Batt.) - *Drimia anthericoides* (Poir.) and their mixture. For this purpose, a phytochemical study and an in vitro antioxidant activity tests were carried out to estimate these expected effects.

The highest extraction yield was that of the hydroalcoholic extract of mixture with 18.23%, followed by the hydroalcoholic extract of *Drimia anthericoides* with 16.40%, then by the hydroalcoholic extract of *Calendula suffruticosa* 10.08%. The total polyphenol content determined by the "Folin - Ciocalteu" method, the flavonoïd content assessed by the aluminum trichloride (AlCl₃) method and the tannin content measured by the vanillin method, revealed the presence of these compounds in significant quantities in both extracts and their mixtures.

In vitro antioxidant activity was assessed by four different techniques: DPPH assay, FRAP iron reduction, β-carotene bleaching and H₂O₂ scavenging. The hydroalcoholic extracts of the two plants and their mixture showed very high antioxidant activity, due to their richness in phenolic compounds and flavonoïds.

Key words: *Calendula suffruticosa* subsp .*foliosa* (Batt.) - *Drimia anthericoides* (Poir.)
- Anti-oxidant activity.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي لنببتين تنتميان الى حوض البحر الابيض المتوسط، تم اقتطافهما من الجزائر في مدينة عنابة وهما : الدجمير والعنصل و كذلك المستخلص الميثانولي لمزيج هاتين النباتين. من اجل ذلك، تم اجراء عدة دراسات و اختبارات كيميائية للنشاط المضاد للأكسدة في المختبر لتقدير النشاط المتوقع .

كان أعلى مردود يخص المستخلص الميثانولي لمزيج هاتين النباتين بنسبة %18,23 يليه المستخلص الميثانولي لنبتة العنصل بنسبة %16.40، ثم المستخلص الميثانولي لنبتة الدجمير بنسبة %10.08. تم تحديد كمية كل من البوليفينول الكلي بواسطة طريقة "Folin - Ciocalteu"، و الفلافونويد بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم ($AlCl_3$) ومحتوى التانين المقاس بطريقة الفانيلين ، كشف عن وجود هذه المركبات بكميات كبيرة و مهمة في كل من النباتين و مزيجهما. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر من خلال أربع تقنيات مختلفة: اختبار DPPH، اختبار FRAP، اختبار H_2O_2 ، اختبار blanchissement de β -carotène . اظهرت المستخلصات الميثانولية للنببتين و مزيجهما نشاطا مضادا للأكسدة جد عالي، نظرا لغنائهم بالمركبات الفينولية و الفلافونويد.

الكلمات المفتاحية: العنصل – الدجمير - النشاط المضاد للأكسدة.

Sommaire

Remerciement	
Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviation	
Introduction	1
Chapitre 1 : Les plantes médicinales	
1. les plantes médicinales	4
1.1. Définition	4
1.2. Origine des plantes médicinales	4
1.2.1. Les plantes spontanées	4
1.2.2. Les plantes cultivées	4
2. La phytothérapie	4
3. Les principes actifs des plantes médicinales	5
3.1 Les composés phénoliques	5
3.1.1. Flavonoïdes	5
3.1.2. Acide phénoliques	6
3.1.3. Les coumarines	6
3.1.4. Tanins	7
3.1.5. Quinones	7
3.2. Les alcaloïdes	7
3.2.1. Les alcaloïdes vrais	7
3.2.2. Les proto-alcaloïdes	8
3.2.3. Les pseudo alcaloïdes	8
3.3. Les terpénoïdes	8
3.3.1. Les monoterpènes	8
3.3.2. Les sesquiterpènes	9
3.3.3. Les di-terpènes	9
3.3.4. Les tri-terpènes	9
3.3.5. Tétra-terpènes	9
3.3.6. Poly-terpène	9

4. Les activités biologiques des plantes médicinales	9
5. Les plantes sélectionnées	11
5.1. <i>Calendula suffruticosa subsp. foliosa</i> (Batt.) «Le souci»	11
5.1.1. Généralités sur la famille des <i>Astéracées</i>	11
5.1.2. Etymologie de <i>Calendula suffruticosa</i>	11
5.1.3. Le genre <i>Calendula</i>	11
5.1.4. Description botanique	11
5.1.5. Toxicité	12
5.1.6. Synonym(s) homotypic	12
5.1.7. Systématique	12
5.2. <i>Drimia anthericoides</i> (Poir.) « la Scilla »	13
5.2.1. Généralités sur la famille des <i>Asparagaceae</i>	13
5.2.2. Description botanique	13
5.2.3. Toxicité	13
5.2.4. Synonym(s) Homotypic	14
5.2.5. Systématique	14

Chapitre 2

Stress oxydatif et activité antioxydante

1. Stress oxydant	16
2. Radicaux libres	17
2.1. types des radicaux libres	17
2.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	17
2.1.2. Espèces réactives de L'azote (ERN)	18
2.1.2.1. Monoxyde d'azote (NO [·])	18
3. Les Antioxydantes	18
3.1. Définition	18
3.2. Types des antioxydantes	18
3.2.1. Antioxydantes enzymatiques	18
3.2.1.1. La superoxyde dismutase (SOD)	19
3.2.1.2. La catalase (CAT)	19
3.2.1.3. Glutathion peroxydases (GPx)	19
3.2.1.4. Glutathion réductase (GR)	19
3.2.1.5. Thioridoxine peroxydases (Trx)	20

3.2.2. Antioxydantes non enzymatique	20
3.2.2.1. Antioxydantes non enzymatiques endogènes	20
3.2.2.2. Antioxydantes non enzymatiques exogènes	21
4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant (in vitro)	22
4.1. Piégeage du radical libre DPPH	23
4.2. Réduction du fer par la méthode de FRAP	24
4.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂	25
4.4. Test de blanchissement par bêta-carotène	25
Matériel et méthodes	
1. Matériel végétale	27
2. Préparation de l'extrait hydrométhanolique	28
3. Calcul de rendements	29
4. Screening phytochimique (Tests préliminaires de la composition chimique)	31
4.1. Tanin	31
4.2. Flavonoïdes	31
4.3. Alcaloïdes	31
4.4. Stérols et triterpènes	32
4.5. Saponosides	32
4.6. Composés réducteurs	32
4.7. Coumarines	32
4.8. Mucilages	32
4.9. Terpénoïdes	32
5. Analyse de l'extrait hydrométhanolique	34
5.1. Dosage des composés phénoliques totaux	34
5.1.1. Principe	34
5.1.2. Mode opératoire	34
5.2. Dosage des flavonoïdes totaux	35
5.2.1. Principe	35
5.2.2. Mode opératoire	35
5.3. Dosage des tanins	36
5.3.1. Principe	36
5.3.2. Mode opératoire	37
5.4. L'évaluation de l'activité anti-oxydante	38

5.4.1. Piégeage du radical libre 2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH)	38
5.4.1.1. Principe	38
5.4.1.2. Mode opératoire	38
5.4.2. Test de blanchissement du β -carotène	40
5.4.2.1. Principe	40
5.4.2.2. Mode opératoire	40
5.4.3. Teste FRAP	42
5.4.3.1. Principe	42
5.4.3.2. Mode opératoire	43
5.4.4. Teste de piégeage du H_2O_2	44
5.4.4.1. Principe	44
5.4.4.2. Mode opératoire	45
Résultats et discussion	
1. Etude phytochimique	47
1.1. Rendements d'extraction	47
1.2. Tests phytochimiques	47
1.3. Dosage des polyphénols	48
1.4. Dosage des flavonoïdes	50
1.5. Dosage des tanins	51
2. Résultats de l'activité antioxydante	52
2.1. Piégeage du radical libre DPPH	52
2.2. Test de blanchissement du β -carotène	55
2.3. Réduction du fer par la méthode de FRAP	56
2.4. Teste de piégeage du H_2O_2	58
Discussion	60
Conclusion et perspectives	68
Références bibliographiques	70

Listes des figures

Figure 1 : Structure de base d'un terpène, le squelette isoprène	8
Figure 2 : <i>Calendula suffruticosa</i>	12
Figure 3 : <i>Drimia Anthericoides</i>	14
Figure 4 : Le déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire	16
Figure 5 : Fréquence d'utilisation des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	23
Figure 6 : Structure chimique du radical libre DPPH	24
Figure 7 : Piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant (AH)	24
Figure 8 : Schéma de la réaction de test FRAP	25
Figure 9 : Répartition géographique de la plante <i>Calendula suffruticosasubsp. foliosa</i> (Batt.)	27
Figure 10 : Répartition géographique de la plante <i>Drimia anthericoides</i> (Poir.) « la Scilla »	28
Figure 11 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental	30
Figure 12 : Protocole expérimental des tests phytochimiques	33
Figure 13 : Protocole expérimental de dosage des polyphénols totaux	35
Figure 14 : Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes	36
Figure 15 : Protocole expérimentale de dosage des tanins	37
Figure 16 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH [*] (entre l'espèce radicalaire DPPH [*] et un antioxydant (AH))	38
Figure 17 : Protocole expérimentale de Piégeage du DPPH	39
Figure 18 : Protocole expérimentale de test de blanchissement du β-carotène	42
Figure 19 : Schéma de la réaction de test FRAP	43
Figure 20 : Protocole expérimentale de test FRAP	44
Figure 21 : Protocole expérimentale de Piégeage du H ₂ O ₂	45
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	49

Figure 23 : Teneur des polyphénols dans les trois extraits	49
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine	50
Figure 25 : Teneur des flavonoïdes dans les trois extraits	50
Figure 26 : Courbe d'étalonnage de la catéchine	51
Figure 27 : Teneur des tanins dans les trois extraits	52
Figure 28 : Pourcentage d'inhibition du DPPH* par différents extraits	53
Figure 29 : Les valeurs des IC50 de l'acide ascorbique et des extraits en mg/ml	54
Figure 30 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en absence et en présence des extraits	55
Figure 31 : Le pourcentage d'inhibition de la décoloration du β -carotène	56
Figure 32 : Courbe des absorbances en fonction des concentrations des extraits (Pouvoir réducteur)	57
Figure 33 : Les pourcentages d'inhibitions de H ₂ O ₂ en fonction des concentrations	58

Liste des tableaux

Tableau 1 : Couleurs, poids et rendement des extraits des deux plantes	47
Tableau 2 : Résultats de screening phytochimique	48
Tableau 3 : Concentration inhibitrice de 50% pour les deux extraits, leur mélange et l'acide ascorbique	54

Liste Des Abréviations

Abréviation	Signification
ABTS	2,2-azinobis 3 ethylbenzothiazoline 6-sulphonate
AH	Antioxydant
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
CAT	Catalase
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
EC50	Efficient concentration50
ERN	Espèces réactives de l'azote
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
FAD	Flavine-adénine-dinucléotide
FeCl₃	Chlorure ferrique
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion
GSSG	Disulfure de glutathion
GPx	Glutathion peroxydases
HgCl₂	Chlorure de mercure.
H₂SO₄	Acide sulfurique
HO₂[·]	Radical hydroperoxyde
H₃PMo₁₂O₄₀	Phosphomolybdic
H₃PW₁₂O₄₀	Phosphotungstic
IC50	Concentration inhibitrice de 50 %
KI	Iodure de potassium
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
NADPH	Nicotinamide dinucléotide phosphate réduit
NH₄OH	Ammoniaque
NO[·]	Monoxyde d'azote
OH[·]	Radical hydroxyle
O₂[·]	Radical superoxyde
•O-O•	Oxygène singulet
ONOO-	Anion peroxydite

ORAC	Oxygen radical absorbance
PI%	Pourcentage d'inhibition
Rdt %	Rendement
RO[·]	Radical alcoxyle
ROO[·]	Radical peroxyde
Se	Sélénium
SOD	Superoxyde dismutase
TEAC	Trolox équivalent antioxidant capacity
Trx	Thioridoxine peroxydases

Introduction

Introduction

Tout au long de l'histoire, les plantes ont été utilisées comme aliments et agents médicinaux, en raison de leurs propriétés thérapeutiques et nutritionnelles. Avec le développement de la science moderne, il a été démontré que les effets phytothérapeutiques des plantes sont liés à des composés biologiquement actifs formés par des métabolites secondaires (**Kralova et Jampilek, 2021**).

Parmi ces métabolites, on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols. Ces derniers et principalement les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leurs nombreuses activités biologiques, parmi les quelles : leur action antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse et antimicrobienne (**Saffidine, 2015**).

En outre dans l'organisme, et aussi sous l'action de facteurs environnementaux (la pollution, le tabagisme, les rayons UV, ...), plusieurs mécanismes biochimiques peuvent s'activer en produisant des espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui vont, immédiatement, submerger très rapidement toutes nos défenses antioxydantes. Une production excessive de ces molécules ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance pro-oxydante (ERO)/antioxydante. Ce déséquilibre provoque des dysfonctionnements directs des biomolécules tel que l'oxydation de l'ADN (acide désoxyribonucléique), des protéines, des lipides et des glucides (**Belaïch et al., 2015; Boujraf et Belaïch, 2016**).

Ainsi que les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres peuvent être liés au vieillissement et à des maladies telles que l'athérosclérose, le diabète, le cancer et la cirrhose (**Meher et al., 2013**).

Les composés antioxydants naturels jouent un rôle important dans la réduction du stress/dommages oxydatif et dans l'amélioration de la fonction immunitaire en inhibant les maladies par le piégeage des radicaux (**Tan et al., 2018**). D'autre part, les antioxydants synthétiques peuvent avoir des effets néfastes sur l'homme et ne pas apporter de bénéfices nutritionnels supplémentaires. C'est pour ça la demande d'antioxydants naturels augmente en raison des problèmes de sécurité liés aux antioxydants synthétiques (**Embuscado, 2015**).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4 000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (**Hamel, 2018**), et l'utilisation correcte des plantes médicinales nécessitent des informations scientifiques précises et une compréhension de leurs composants chimiques. Les effets thérapeutiques des plantes sont dus aux composés chimiques qu'elles contiennent (**Khare et al., 2021**).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique lyophilisé de deux plantes algériennes : *Drimia anthericoides* (Poir.) et *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) ainsi que leur mélange.

Notre étude est subdivisée en deux grandes parties, la première est consacrée à un résumé bibliographique contenant des informations générales sur les plantes médicinales, la phytothérapie ainsi que le stress oxydatif et l'activité antioxydante.

La deuxième partie explique le matériel et les méthodes utilisés afin de réaliser nos travaux expérimentaux in vitro passant par la préparation des extraits le screening phytochimique, le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins et l'évaluation de l'activité anti-oxydantes par plusieurs tests, et on termine par une discussion des résultats obtenus.

*Chapitre I : Les
plantes
médicinales*

1. les plantes médicinales

1.1. Définition

Les plantes médicinales sont l'ensemble des espèces végétales possèdent des propriétés thérapeutiques curatives, ces traitements naturels phytothérapeutiques peuvent s'avérer dans de nombreux cas plus économiques, plus efficaces, plus sûrs que bien des médicaments (moins d'effets secondaires), ils peuvent être arbre, un buisson, un champignon, un légume ou une racine.. etc (**Bousta, 2011**).

Aujourd'hui, l'utilisation des plantes médicinales a occupé une large place en raison de leurs propriétés dans diverses procédures thérapeutiques, car ils contiennent des composants actifs impliqués dans le traitement de plusieurs maladies d'une autre, ils sont également utilisés dans la production de produits pharmaceutiques et cosmétiques (**Lazli et al., 2018**).

1.2. Origine des plantes médicinales

On distingue deux origines des plantes médicinales (**Chabrier, 2010**).

1.2.1. Les plantes spontanées

On peut désigner les plantes spontanées par le terme de « plantes adventices », ou bien « plantes indésirables ». en écologie, la flore spontanée est définie comme la flore « qui pousse naturellement sans intervention humaine et qui maintient ainsi un processus naturel de colonisation » (**Marie-Jo Menozzi et al., 2011**).

1.2.2. Les plantes cultivées

C'est une variété d'une espèce végétale qui a été obtenue de façon artificielle mais que l'on cultive, d'une sélection de façon à obtenir les caractéristiques spécifiques souhaitées, il peut descendre d'une espèce indigène ou d'une plante exotique, il peut aussi être un hybride résultant du croisement de deux espèces différentes, ou de différents cultivars (**Binette et Jardin, 2008**).

2. La phytothérapie

La phytothérapie est une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen des plantes, des parties des plantes et de préparations à base de plantes (**Gruffat, 2017**).

Le terme « Phytothérapie », provient du grec « phytos » qui veut dire « plante » et

«therapein» qui signifie « soigner / traiter », La phytothérapie indique la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels (**Sebai et Boudali, 2012**).

On peut la diviser en trois types de pratiques:

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- Une pratique basée sur les avancées et les arguments scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des végétaux.
- Une pratique de prophylaxie, déjà impliqué dans l'antiquité (l'homme est déjà phytothérapeute), c'est une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (**Boumediou et Addoun, 2017**).

3. Les principes actifs des plantes médicinales

Le principe actif est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal, Il est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale (**Anne Sophie, 2018**).

Ces traitements naturels phytothérapeutiques contiennent un mélange de substances actives, que l'on peut répartir en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (**Christophe, 2014**).

3.1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou bien les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, ils sont non essentiels à la survie de la plante et constituent une famille de molécules très vaste répandues dans le règne végétal (**Macheix, 2013**).

Dans les végétaux, les composés phénoliques jouent un rôle nécessaire dans le développement et la reproduction, ils sont aussi impliqués dans la défense contre le UV ou agression par des agents pathogènes (**Manach et al., 2004**).

Il existe principalement 5 classes de composés phénoliques :

3.1.1. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols ils sont hydrosolubles, définis par leur squelette de base constitué de deux cycles aromatiques à 6 atomes de carbone connectés entre eux par un hétérocycle à 3 atomes de carbone (C6-C3-C6) (**Royer, 2013**).

Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Hodek, 2002**), et assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (**Jean, 1999**).

Structurellement, les flavonoïdes se répartissent en nombreuses classes de molécules dont les plus nécessaires sont (**Hodek, 2002**) :

-Les flavonols : Ils ont une teinte jaune en générale, et sont caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle C3 comme le quercétol et le myricétol (**Marc et al., 2004**).

-Les flavones : Sont structurellement très similaire aux flavonols et ne diffèrent que par l'absence d'hydroxylation en C3 telle que la lutéoline et l'apigénine (**Panche et al., 2016**).

-Les flavanones et les dihydroflavonols : Jouent un rôle d'intermédiaire dans la biosynthèse des flavonoïdes (**Halbwirth, 2010**).

- Les Isoflavonoïdes : Sont présents principalement dans la famille des Légumineuse (environ 85%) (**Panche et al., 2016**).

- Les Anthocyanines : ce sont des pigments solubles dans le suc vacuolaire des tissus épidermiques donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleues, rouges ou pourpres le plus répandu est la cyanidine (**Bruneton, 1999**).

3.1.2. Acide phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane, solubles dans l'éther et peuvent être associés à la lignine. Ils se présentent sous forme d'ester et se localisent dans la partie insoluble dans l'alcool de la feuille. Deux types des acides phénoliques sont distingués ; acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïques qui sont peu répandus constituent d'un noyau phénolique de type C6-C3 (**Bruneton, 1999**).

3.1.3. Les coumarines

Les coumarines, composés phénoliques hétérocycliques oxygénés non volatils, sont très répandues chez les végétaux, elles Possèdent des fluorescences bleues ou bleu-vert en lumière ultraviolette leur spectre UV est également caractéristique et sert à leur identification, elles sont assez solubles dans les alcools et les solvants organiques (dioxyde d'éthyle ou les solvants chlorés) (**Garabeth et al., 2007**).

3.1.4. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau (**Peronny, 2005**), et ils ont tous la vertu de tanner la peau, la rendant imputrescible. Ces produits chimiques ont la capacité de se lier aux protéines, ce qui explique leur capacité de tanner (**Catier, 2007**).

Ils sont souvent répartis en deux groupes distincts en fonction du type d'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (**Mueller-harvey et al., 2018**).

❖ **Tanins hydrolysables**

❖ **Tannins condensés**

3.1.5. Quinones

Les quinones sont des composés oxygénés formés par l'oxydation de dérivés aromatiques. Ces substances sont généralement très réactives et, lorsqu'elles sont combinées aux groupes amines libres (NH₂) des protéines, elles peuvent colorer la peau (**Bruneton, 2009**).

3.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes (anciennement connus sous le nom de purines) sont une vaste famille de composés chimiques de base contenant de l'azote que l'on trouve dans la nature. Et qui ont la caractéristique d'être de type alcalin, et la plupart d'entre eux ont des structures cycliques complexes. L'azote est contenu dans l'anneau et joue un rôle important dans l'activité biologique. En raison du grand nombre de composés alcaloïdes connus et de leur variété structurelle, la catégorisation est difficile et repose sur de nombreux critères : la source biologique, la voie de biosynthèse et la structure (**Badiaga, 2011**).

On peut classer les alcaloïdes en trois groupes, en fonction de leur biogenèse et de la position de l'azote (**Dehak, 2013 ; Beddou, 2015**).

3.2.1. Les alcaloïdes vrais

Que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle ; Bio synthétiquement formés à partir d'acides aminés ; possèdent une activité pharmacologique marquée (**Merghem, 2009**).

3.2.2. Les proto-alcaloïdes

Il s'agit d'amines simples générées à partir d'acides aminés, mais l'azote se trouve à l'extérieur des structures cycliques (exemple : colchicine), et certaines interagissent avec des résidus terpéniques, comme les alcaloïdes indoliques monoterpéniques (utilisés contre le cancer) (Dehak, 2013).

3.2.3. Les pseudo alcaloïdes

Le pseudo alcaloïdes possèdent généralement toutes les caractéristiques des vrais alcaloïdes, mais ne sont pas des produits dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011 ; Eguchi et al., 2017).

3.3. Les terpénoïdes

Ils sont composés d'assemblage d'unités à cinq carbones appelées isoprènes (C_5H_8) et sont donc toujours composés d'un multiple de cinq carbones (Frederich, 2018).

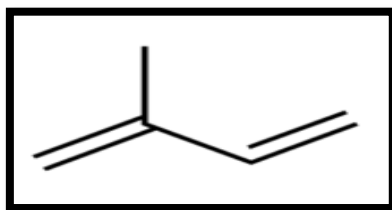


Figure 1. structure de base d'un terpène, le squelette isoprène (Frederich, 2018)

Ces molécules se présentent sous la forme des huiles essentielles, saveurs et arômes des plantes, pigment (carotène), hormone (Acides abscissiques), des stérols (cholestérol) (Hopkins, 2003).

Leur classification est basée sur le nombre d'unités isoprène qui les composent : hémiterpènes (C_5), monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}), tétraterpènes (C_{40}) et les polyterpènes (C_n) (Thormar, 2011).

3.3.1. Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les motifs les plus simples des terpènes, Ce sont des composés à 10 carbones (mono terpènes =deux isoprènes) (Guedda, 2016).

3.3.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont une classe de terpènes composés de trois unités isopréniques et donc ils contiennent 15 carbones (Wichtl et Anton, 2003).

3.3.3. Les di-terpènes

Les diterpènes forment une classe de composés terpéniques à 20 atomes de carbone. Ils sont biosynthétisés par la condensation de quatre unités isoprène (Smati et al., 2004).

3.3.4. Les tri-terpènes

Ce sont des composés très répandus dans la nature composée de 30 atomes de carbones. On les trouve généralement dans les résines (Milcent, 2003).

3.3.5. Tétra-terpènes

Ces molécules possèdent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, les plus connus sont les caroténoïdes comme le lycopène et le β -carotène (Milcent, 2003). Elle possède des propriétés anti-oxydantes et est un précurseur de la vitamine (A) responsable dans le processus de la vision (Paul, 2003).

3.3.6. Poly-terpène

Ce sont des polymères ou plusieurs unités isoprène sont jointes, le caoutchouc naturel est le meilleur exemple de polymère terpénique (Park et Cha, 2003).

4. Les activités biologiques des plantes médicinales

Depuis l'Antiquité, Un certain nombre de plantes médicinales ont été consacrées pour des produits alimentaires et des préparations de parfumerie et aussi pour traiter différentes maladies chez l'homme et les animaux, ceci est dû à la présence des molécules bioactives (Bourgou et al. 2016).

Toutefois, au cours de la dernière décennie, ces produits ont fait l'objet d'une attention croissante en tant que sources naturelles potentielles d'antioxydants et d'agents antimicrobiens, ces plantes possèdent une grande variété de propriétés biologiques, dont certaines peuvent être citées ici (El-Kalamouni, 2010) :

Différents composés bioactifs provenant de différentes sources végétales se sont révélés efficaces pour lutter contre un large éventail de maladies, par exemple le taxol de *Taxus brevifolia*, la vinblastine et la vincristine de *Catharanthus roseus*, le topotécan et l'irinotécan de *Camptotheca acuminata*, l'étoposide et le téniposide de *Podophyllum peltatum* présentent une activité antitumorale et anticancéreuse, d'une autre la curcumine de *Curcuma longa* présente une activité anticancéreuse, anti-inflammatoire et hépatoprotectrice. Alor que la silymarine (silibinine), (un flavonoïde de *Silybum marianum*) montre une activité anticancéreuse, anti-inflammatoire et hépatoprotectrice, et la ricinine présente des propriétés anticancéreuses, anti-inflammatoires et toniques pour les troubles hépatiques, la lectine (ricine) de *ricinus communis* présente une activité hépatoprotectrice, antioxydante, hypoglycémique et antitumorale, les tanins, les composés d'acide shikimique, les triterpénoïdes et l'acide ellagique de *Terminalia chebula* ont une activité antioxydante, antidiabétique, rénoprotectrice et hépatoprotectrice, les lactones stéroïdiennes, les withanolides, notamment la withaferine A de *Withania somnifera* ont des propriétés chimiopréventives, anticancéreuses, stimulantes pour la mémoire et immun modulatrices et sont utilisées dans les troubles de Parkinson et d'Alzheimer, les mono et sesquiterpénoïdes, la zingérone et les gingérols de *Zinziber communis* ont une activité antioxydante, hypoglycémiant et antitumorale, les limonoïdes (nimbidinine), les di- et tri- terpénoïdes de *Azadirachta indica* agissent comme inhibiteurs du carcinome, chimiopréventifs, inhibiteurs du cancer du côlon, antiallergiques, purificateurs du sang, la pipéridine, la déhydropipéronaline de *Piper nigrum* sont anticancérigènes, anti-hyperlipidémiques, utiles dans l'épilepsie, les composés phénoliques de *Gynura procumbens* sont antidiabétiques, etc... Et il y a encore plus des activités pas mentionnées (Alamgir, 2018).

5. Les plantes sélectionnées

Nous avons axé notre travail sur deux plantes rares en Algérie : *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Fig.2) et *Drimia anthericoides* (Poir.) (Fig.3).

5.1. *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) «Le souci»

5.1.1. Généralités sur la famille des Astéracées

L'Astéracée appelée aussi l'aster, marguerite ou la famille de tournesol, est l'une des familles les plus courantes qui ont une très grande valeur médicinale. Elle constitue la plus grande famille des plantes vasculaires, avec plus de 22.750 espèces réparties en 12 sous-familles et 1620 genres (Shaheen et al., 2012).

5.1.2. Etymologie de *Calendula suffruticosa*

Le nom du genre « *Calendula* » date du Moyen Age. Il provient du latin « *Calendae* » : les calendes étant, dans le calendrier romain le premier jour du mois, probablement avec un sens analogue à calendrier, indicateur métrologique en raison de sa longue période de floraison car les capitules s'ouvrent et se ferment avec l'apparition du soleil (Couplan, 2012). Tandis que *suffruticosa*, dérivé du latin « *frutex* » veut dire buisson ; car cette espèce ligneuse se rapproche des sous-arbrisseaux (Beniston et Beniston, 1984).

5.1.3. Le genre *Calendula*

Calendula est relativement un petit genre d'environ 12 à 20 espèces originaires de la Micronésie et de la Méditerranée (Paolini et al., 2010). Ce sont des Herbes annuelles ou vivaces, parfois ligneuses à la base ; souvent glandulaires et aromatiques. Les feuilles sont alternes et simples. L'inflorescence est parfois ramifiée. Les fleurons extérieurs ligulés, jaune ou orange. Tandis que les fleurons internes sont tubulaires, jaunes ou oranges. Le fruit est toujours un akène (Tutin et Heywood, 1976).

5.1.4. Description botanique

Plante glanduleuse-visqueuse, Tiges ligneuses, Rameaux florifères rigides et dressés, grêles. Les Feuilles sont plus grandes et plus larges que dans le type, lancéolées oblongues, aiguës, sinuées-dentées. Les radicales sont longuement atténuées en pétiole. Capitules plus grands (Quézel et Santa 1963).

5.1.5. Toxicité

La toxicité orale subchronique d'un extrait de *Calendula* a été évaluée chez des rats Wistar mâles et femelles. Plusieurs des éléments de sang ont été affectés de manière significative chez les mâles et les femelles après 90 jours : l'hémoglobine, les leucocytes et les érythrocytes, le temps de coagulation du sang. L'examen histopathologique des tissus a montré de légères anomalies dans le parenchyme hépatique (Ghédira et Goetz, 2016).

5.1.6. Synonym(s) homotypic

- ✚ *Calendula fulgida* var. *foliosa* (Batt.)
- ✚ *Calendula foliosa* (Batt.) (CJB-African Plant Data base, 2023).

5.1.7. Systématique

- ✚ Règne : *Plantae*
- ✚ Famille : *Asteraceae*
- ✚ Genre : *Calendula*
- ✚ Espèce : *Calendula suffruticosa* subsp. *foliosa* (Batt.)
- ✚ Nom français : Souci
- ✚ Nom vernaculaire : دجمير



Figure 2. *Calendula suffruticosa* (prise personnelle)

5.2. *Drimia anthericoides* (Poir.) « la Scilla »

5.2.1. Généralités sur la famille des *Asparagaceae*

Selon la classification phylogénétique de l'Anigiosperms phylogeny group III (APG III, 2009). Cette famille compte également tous les genres des anciennes familles *Asparagaceae*, *Agavaceae*, *Phyllanthaceae*, *Hesperocallidaceae*, *Hyacinthaceae*, *Laxmanniaceae*, *Ruscaceae*, et *Themidaceae*. Elle comprend plus de 115 genres dispersés dans les régions tempérées et tropicales.

5.2.2. Description botanique

Ce sont des herbes vivaces, des lianes ou des plantes à port arborescent, avec une partie aérienne annuelle, parfois épineuse ou ligneuse, émergeant d'un rhizome sympodial. La tige se développe parfois en « cladodes », qui portent des fleurs ; les feuilles proprement dites sont alors réduites à des écailles (*Ruscus*). Les feuilles, sont insérées à la base, ou sur l'axe de façon alterne, opposée (*Maianthemum*), ou verticillée (*Polygonatum verticillatum* L.). Les fleurs sont en grappes, ou parfois solitaires (*Ruscus*), elles sont régulières, hypogynes, bisexuées, parfois unisexuées (espèce dioïque comme dans le genre *Ruscus*), Le périanthe est composé de trois pétales et trois sépales, indissociables. Les fleurs sont trimères, les six tépales sont soit pétaloïdes ou sépaloïdes, et l'androcée contient 6 étamines disposées sur deux verticilles (diplostémones). Le gynécée est formé de trois carpelles soudés. Les ovaires, trilobulaires, sont supères. Chaque fleur n'a qu'un style mais avec deux à douze ovules par loge, qui ont une placentation axile. Le fruit est habituellement une baie rouge à maturité (sur un fond vert persistant) ou parfois bleu-noir, dont les graines sont plus ou moins globuleuses, non ailées (**Botineau, 2010**).

5.2.3. Toxicité

Les propriétés toxicologiques de *Drimia anthericoides* ont été initialement décrites par **Théophraste**. En raison de sa nature toxique, la plante était placée au-dessus des portes pour chasser les insectes et les animaux venimeux. En outre, dans la médecine traditionnelle iranienne, la plante *Drimia anthericoides* était également utilisée comme répulsif pour les souris et les insectes (**Bozorgi et al., 2017**). Cette plante a été utilisée pour empoisonner les souris et prévenir les insectes dans le monde entier. Cependant, la toxicité de cette plante chez l'homme n'a pas encore été enregistrée. **Louw, 1952** a néanmoins constaté que certains produits chimiques hydrosolubles isolés à partir des bulbes de cette plante présentaient une

toxicité pour l'homme.

Exemple : Les bulbes et les feuilles des espèces de *Drimia anthericoides* peuvent provoquer des démangeaisons et des inflammations cutanées en raison de leur teneur en oxalate de calcium (Foukaridis et al., 1995).

5.2.4. Synonym(s) Homotypic

- ✚ *Urginea anthericoides* (Poir.)
- ✚ *Urginea maritima* var. *anthericoides* (Poir.)
- ✚ *Charybdis anthericoides* (Poir.)
- ✚ *Scilla anthericoides* Poir.
- ✚ *Squilla anthericoides* (Poir.) (CJB-l'African Plant Data base, 2023)

5.2.5. Systématique

- ✚ **Règne :** *Plantae*
- ✚ **Famille :** *Asparagaceae*
- ✚ **Genre :** *Drimia*
- ✚ **Espèce :** *Anthericoides*
- ✚ **Nom français:** Scilla
- ✚ **Nom vernaculaire :** العنصل



Figure 3. *Drimia Anthericoides* (prise personnelle)

Chapitre II :
Stress oxydatif et
activité
antioxydant

Introduction

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ceci est dû à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement, y compris le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, et le vieillissement du système immunitaire (Guinebert *et al.*, 2005).

Dans les systèmes biologiques, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN) peuvent endommager les cellules en oxydant les lipides, les protéines et les acides nucléiques qui les composent. dans le corps humain, il existe naturellement un système antioxydant capable d'éliminer ces radicaux libres et de maintenir l'équilibre entre les défenses antioxydants de l'organisme et la création d'espèces réactives de l'oxygène (Menget *al.*, 2017).

1. Stress oxydant

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Aravodis, 2005). Ce déséquilibre (fig. 6) contribue à l'apparition et à la progression de nombreuses maladies, notamment le cancer, les maladies oculaires et les maladies neurodégénératives (Eddhima, 2019).

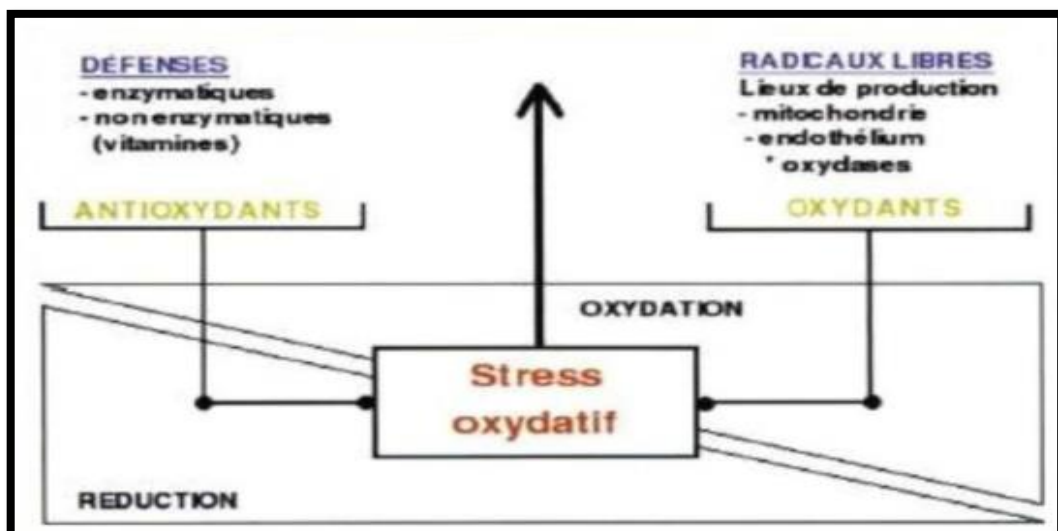


Figure 4. Le déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Eddhima, 2019).

2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des substances chimiques (atomes, ions ou molécules) qui contiennent un électron célibataire (non apparié) sur leur couche périphérique (au niveau de leur orbitale externe) (Goto *et al.*, 2008 ; Belot, 2015).

Les radicaux libres réagissent spontanément avec d'autres atomes ou molécules pour produire de nouveaux radicaux, provoquant des réactions en chaîne qui ne peuvent être interrompues que par l'interaction de deux radicaux libres. Ces espèces instables ont une grande réactivité *in vivo*. Elles interagissent avec divers composés cellulaires, tel que les lipides, les protéines et les acides nucléiques, notamment au cours des réactions en chaîne dont l'exemple le plus connu est la peroxydation des lipides (Durand *et al.*, 2013).

2.1. Types des radicaux libres

Dans les systèmes biologiques, les radicaux libres les plus importants sont les espèces réactives de l'oxygène (ROS pour « réactive oxygène species ») et les espèces réactives de l'azote (RNS pour « réactive nitrogène species ») (Ré *et al.*, 2005).

2.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Bien que l'oxygène soit un élément essentiel de la vie, il peut parfois avoir des effets négatifs sur l'organisme en formant des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Haleng *et al.*, 2007).

Le terme ERO désigne les espèces réactives à l'oxygène, qu'il s'agisse radicalaires ou non, ces espèces sont énergiquement plus réactives que l'oxygène moléculaire. L'apparition des ERO peut être causée par une variété de facteurs, y compris des facteurs internes comme les réactions enzymatiques ainsi que des facteurs externes comme les rayons UV et les traces de métal.

Les ERO ne se limitent pas seulement aux radicaux libres générés par l'oxygène dont les plus courants : le radical superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) et sa forme protonée (HO_2^{\cdot}), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}), le radical alcoxyle (RO^{\cdot}), mais aussi des dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante comme l'oxygène singulet (1O_2 , $\cdot O-O$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion peroxydite ($ONOO^-$) qui peuvent être des

précurseurs de radicaux mais ne sont pas réactives (**Pincemallet et Defraigne, 2003**).

2.1.2. Espèces réactives de L'azote (ERN)

2.1.2.1. Monoxyde d'azote (NO·)

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire de nature gazeuse et hautement diffusible. Il est synthétisé à partir de la L-arginine par les NO synthases (NOS), en présence de cofacteurs tels le NADPH, le FAD, la calmoduline et la tétrahydrobioptérine (BH₄) (**Gardès-Albert, 2006**).

3. Les Antioxydantes

3.1. Définition

Les antioxydantes sont des substances chimiques capables de neutraliser ou d'atténuer les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme, tout en permettant de maintenir des concentrations de ERO non cytotoxiques au niveau des cellules (**Favier, 2003**).

Ces substances sont utilisées pour prévenir le vieillissement, de nombreuses maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, l'inflammation, dus à la production excessive des radicaux libres. Elles sont également utilisées dans les aliments pour prévenir le rancissement ou la décoloration, qui sont souvent dus à l'oxydation provoquée par l'oxygène de l'air, la lumière, la chaleur et éventuellement certaines enzymes (**Scarim et al., 2019**).

Les antioxydantes sont des substances très divers comprenant de petites molécules liposolubles (comme la vitamine E, la β-carotène) ou hydrosolubles (comme la vitamine C, l'acide urique) ainsi que des protéines à activité enzymatique (comme le superoxyde dismutase, le glutathion peroxydase, la catalase, etc.), non enzymatique (comme le séquestrant des métaux). Ils peuvent être d'origine endogène ou exogène, et il peut s'agir de composés naturels ou synthétiques (**Guo et al., 2006**).

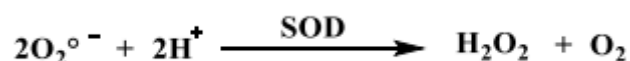
3.2. Types des antioxydantes

3.2.1. Antioxydantes enzymatiques

Ce sont des antioxydantes endogènes représentent la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO (**Baba et Mc-Grath, 2008 ; Bensakhria, 2018**).

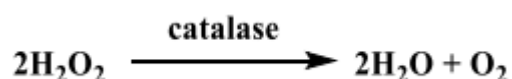
3.2.1.1. La superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine qui peut éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation. Cette réaction aboutit à la création d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène à partir de deux molécules de superoxyde (**Hocine et Gorine , 2017**).



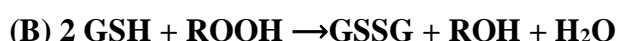
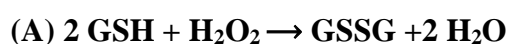
3.2.1.2. La catalase (CAT)

C'est une enzyme que l'on trouve principalement dans les peroxysomes, les hépatocytes, les érythrocytes et les tissus des cellules rénales. Elle catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (**Matés et al, 1999**).



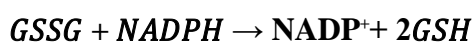
3.2.1.3. Glutathion peroxydases (GPx)

Les glutathion peroxydases catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (A) en oxydant deux molécules de Glutathion GSH réduites en GSSG. Elle assure plus largement la conversion des hydroperoxydes organiques, notamment des lipides de type ROOH, en alcools (ROH) (B) (**Dubois, 2015**).



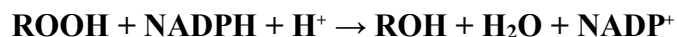
3.2.1.4. Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase contribue indirectement à la défense antioxydant en régénérant le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (**Garait, 2006**).



3.2.1.5. Thioridoxine peroxydases (Trx)

Il s'agit une sélénoenzyme NADPH dépendante, responsable de l'élimination de l'H₂O₂, ROOH, ONOO⁻ par une réaction de réduction (**Bensakhria, 2018**).



3.2.2. Antioxydantes non enzymatique

Certaines molécules chimiques de faible poids moléculaire, agissent comme antioxydantes, leur rôle n'est pas la catalyse. Il en existe deux catégories : les antioxydants non enzymatiques endogènes (si la cellule eucaryote est capable de les synthétiser) et les antioxydantes non enzymatiques exogènes (par l'alimentation) (**Sharifi et al., 2020**).

3.2.2.1. Antioxydantes non enzymatiques endogènes

Ils existent plusieurs réducteurs endogènes capable de protéger l'organisme contre les ROS, les plus importantes sont le glutathion, la bilirubine, l'acide urique, la coenzyme Q, la mélatonine et l'acide lipoïque. (**Sharifi et al., 2020**).

Glutathion (GSH)

Le glutathion est un tripeptide impliqué dans plusieurs processus intracellulaires. Le rôle du glutathion (GSH) dans le processus enzymatique par lequel il détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes a été bien établi (**Delattre et al., 2005**), de même que son rôle dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation (**Stamler et Slivka, 1996**).

L'acide urique

L'acide urique s'accumule en tant que produit final du catabolisme des purines et est présent en quantités significatives dans le plasma humain avant d'être éliminé par voie rénale (**Lacolley et al., 2007**). L'acide urique, qui est présent sous forme d'urate au pH physiologique, a des propriétés antioxydantes contre HO[•] et RO₂ in vitro (**Delattre et al., 2005**).

La bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la catabolisme de l'hème et résulte

essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules du système réticuloendothéliale (foie, rate et moelle osseuse) chez les mammifères. La bilirubine est capable de piéger ROO• et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Algeciras-Schimmich et al., 2007).

L'acide lipoïque

Il existe dans deux formes, oxydé et réduit, il est capable de piéger le HO•, ROO•, HOCl• et O₂ (Packer et al., 2001) de chélater les métaux lourds comme le fer et le cuivre et de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes comme les vitamines C et E (David, 2015).

3.2.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Étant donné que leurs principales voies de synthèse ne se trouvent souvent que dans les cellules microbiennes ou végétales, les antioxydants exogènes doivent être apportés en permanence par l'alimentation (Sharifi et al., 2020).

De nombreuses substances présentes dans notre alimentation, telles que les vitamines, les nutriments, les composés naturels, ... etc. sont considérées comme des antioxydants (Laib et Megag, 2020), les plus populaires sont :

Vitamine E

La vitamine E appartient à la famille des tocophérols, molécules naturelles lipophiles, apportées par la nourriture (Toussaint et al., 2003). La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres en empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Evans et al., 2002).

Vitamine C

L'acide ascorbique, souvent connu sous le nom de vitamine C, est un puissant antioxydant aux propriétés hydrosolubles. Il inhibe la peroxydation des lipides dans le plasma (Gaté et al., 1999).

Elle se trouve dans le cytosol et dans le liquide extracellulaire et possède des capacités de capter directement l'O₂• et l'OH•. Outre son rôle dans la production de vitamine E, la vitamine C a la capacité de réduire d'autres biomolécules oxydées et d'agir comme un piégeur

direct de radicaux libres (Evans et al., 2002).

La β -carotène

En plus de son activité pro-vitamine A, elle est également capable de capter les molécules d'oxygène singulet. On la trouve dans les légumes verts, les épinards, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, la papaye et d'autres fruits jaunes (Ahmet, 2003).

Le sélénium

Le sélénium (Se) est un élément minéral crucial pour l'organisme. Il joue un rôle important dans la protection des cellules et des éléments qui les composent contre une attaque radicale. Il joue également un rôle de détoxification et de neutralisation des métaux lourds (cadmium, mercure, plomb) ou agit comme activateur de l'oxydation des xénobiotiques organiques. Le (Se) est présent dans les aliments riches en protéines animales (viandes, œufs, poissons, lait), dans les céréales et certains fruits secs (Delattre et al., 2005).

Polyphénols

Ils peuvent agir en tant qu'antioxydants. Ils empêchent la formation des espèces radicalaires par inhibition des enzymes impliquées dans la formation de radicaux libres (comme la xanthine oxydase et la protéine kinase C), par chélation de métaux lourds ou agissent comme donneurs d'hydrogène dans les phases aqueuses ou lipidiques (Rocha-Guzman et al., 2007).

Les plus répandus sont les anthocyanes, les tanins et les flavonoïdes (Boizot et Charpentier, 2006). Ces derniers ont une forte activité biologique qui est influencée par le type et le positionnement des substitués, en particulier la quantité de groupes hydroxyles (Bouchouka, 2016).

4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant (in vitro)

Pour déterminer l'activité antioxydante, il existe plusieurs techniques, chacune d'entre elles étant appelée en fonction du matériau utilisé comme source de radicaux libres. par exemple :ORAC (oxygen radical absorbance capacity), FRAP (Ferric reducing antioxidant power), TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azino bis (3-éthyl-6-thiazolyl) sulfonate) et DPPH⁺ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) etc (Georgeva et al., 2010) , Ces tests peuvent être classés en deux groupes : les tests mesurant le transfert

d'électrons ou d'hydrogène à un radical coloré stable et simple à détecter (DPPH, FRAP) et les tests impliquant une compétition entre l'antioxydant et une cible à protéger (pigments, lipides) (Oxygen Radical Absorbance Capacity ORAC, décoloration de β -carotène et de crocine) (Bensouici, 2015), Il convient de noter que les différentes méthodes donnent des résultats assez différents et doivent être appliquées de préférence pour la comparaison de produits similaires (Georgeva et al., 2010), Selon l'étude d'Alam et al., (2013), 19 méthodes sont actuellement utilisées pour l'estimation in vitro de la capacité antioxydante d'un échantillon et la méthode DPPH représente le test le plus souvent utilisé.

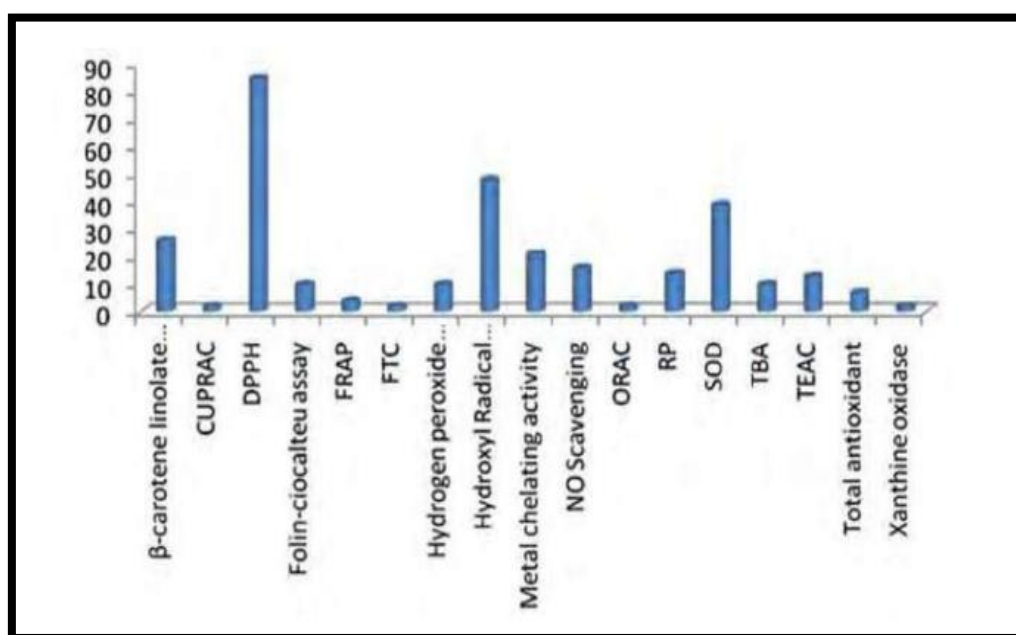


Figure 5. Fréquence d'utilisation des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (Alam et al., 2013).

4.1. Piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical persistant à température ambiante avec une teinte bleu-violette distinctive (Fadili et al., 2015). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote dans sa structure. Sa stabilité provient de la délocalisation élevée des électrons π le long de la molécule (Barberis et al., 2001).

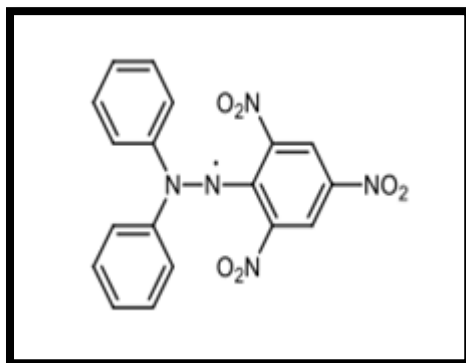


Figure 6. Structure chimique du radical libre DPPH (Cristina et al., 2009).

L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical, Ceci peut s'observer par le changement de couleur allant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite) (kaya et al., 2014 ; fadili et al., 2015). La concentration en antioxydants est proportionnelle à la baisse de l'absorbance, due à la diminution de l'intensité de la coloration de la solution DPPH, mesurée à 515-518 nm.

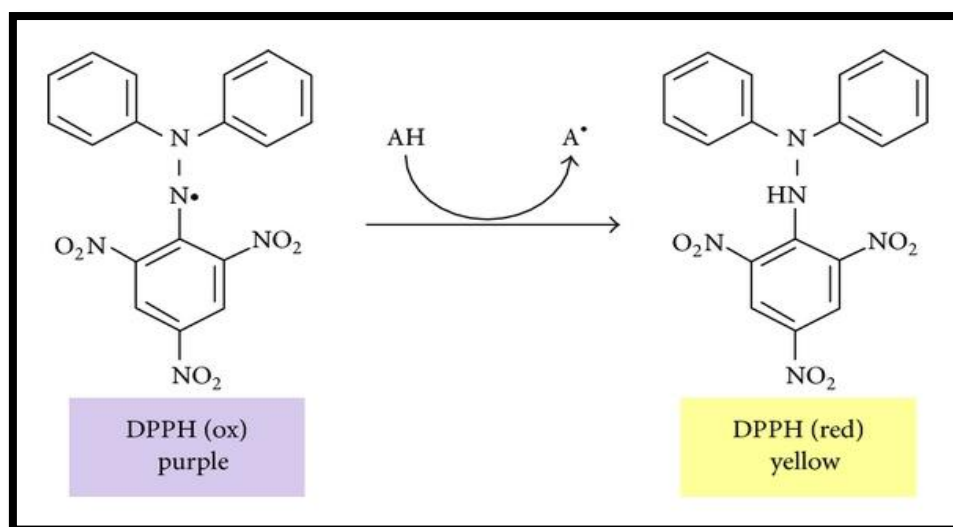


Figure7. Piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant (AH) (José et al., 2013).

Les tests réalisés avec le DPPH doivent inévitablement être effectués dans l'obscurité, car ce radical présente l'inconvénient d'être instable à la lumière (Chaaban et al., 2017).

4.2. Réduction du fer par la méthode de FRAP

Cette méthode mesure la capacité des extraits à réduire le fer ferreux (Fe^{3+}) dans le complexe de ferricyanure de potassium (Fe^{2+}). La couleur du fer ferreux passe du jaune au

bleu ou au vert en présence d'un atome d'électron (**Habibou et al., 2019**), le changement de la coloration du jaune au bleu ou au vert est proportionnel à l'activité antioxydant. Le pouvoir réducteur est déterminé par une simple mesure de l'absorbance à 700 nm (**Romanet et al., 2019**).

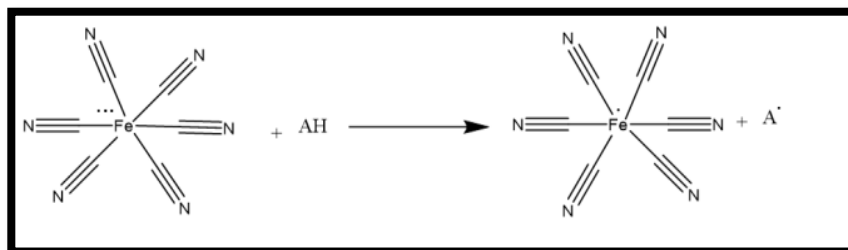


Figure 8. Schéma de la réaction de test FRAP (**Dorman et al., 2000**).

4.3. Piégeage du peroxyde d'hydrogène H_2O_2

L'absorption de l'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine ultraviolet. Lorsque la concentration de H_2O_2 diminue en raison du composé de piégeage, la valeur de l'absorbance à 230 nm de ce dernier est également réduite. Toujours assez normalement, l'échantillon absorbe également à cette longueur d'onde, il est donc nécessaire de mettre en œuvre des mesures blanches. La réalisation d'une telle méthode nécessite beaucoup de rigueur au moment de la manipulation (**Bach-Nga PHAM, 2003**).

4.4. Test de blanchissement par bêta-carotène

Dans ce test, la capacité antioxydant est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et des radicaux peroxydes conjugué résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. Lorsque ces radicaux vont oxyder le bêta carotène entraînant la disparition de sa couleur rouge qui est suivie par spectrométrie à 470 nm (**Tepe et al., 2005**).

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Les espèces sélectionnées *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa* ont été récoltées dans la région d'Annaba (Cap de Garde) le mois de février 2023.

Après une identification botanique par Mr : Hamel Tarek, Professeur Botaniste au Laboratoire de Biologie Végétale et Environnementale (LBVE) (Faculté des Sciences, Département de Biologie - Université Badji Mokhtar, Annaba). Les deux plantes ont été nettoyées, séchées dans un endroit sec et aéré. Après le broyage la poudre va constituer la matière sèche qui va servir à la préparation de l'extrait hydrométhanolique.



Figure 9. Répartition géographique de la plante *Calendula suffruticosa subsp. foliosa* (Batt.) (CJB-African Plant Data base, 2023)



Figure 10. Répartition géographique de la plante *Drimia anthericoides* (Poir.) « la Scilla » (CJB-African Plant Data base, 2023)

2. Préparation de l'extrait hydrométhanolique

L'extrait hydroalcoométhanolique est préparé par macération selon la méthode de **Markham (1982)**. 250 g de la poudre sont macérés dans le méthanol 80% pendant plusieurs jours sous agitation intermittente à raison de 25 % (P/V). Après filtration, le filtrat est évaporé dans un rotavapor à 45° puis lyophilisé, le lyophilisat est pesé pour calculer le rendement de l'extraction.

Remarque :

Avec le même protocole, on a préparé trois extraits :

- ✚ Extrait hydrométhanolique à partir de 250g de *Drimia anthericoides* (D).
- ✚ Extrait hydrométhanolique à partir de 250g de *Calendula suffruticosa* (C).
- ✚ Extrait hydrométhanolique à partir de 125g de *Drimia anthericoides* et 125g de *Calendula suffruticosa* (mélange M).

3. Calcul de rendement

Le rendement de l'extraction est calculé selon cette formule :

$$\mathbf{Rdt\ (\%) = P1 - P2 / P3 \times 100}$$

P1 : poids de récipient avant lyophilisation.

P2 : poids de récipient après lyophilisation.

P3 : poids de la matière végétale de départ.

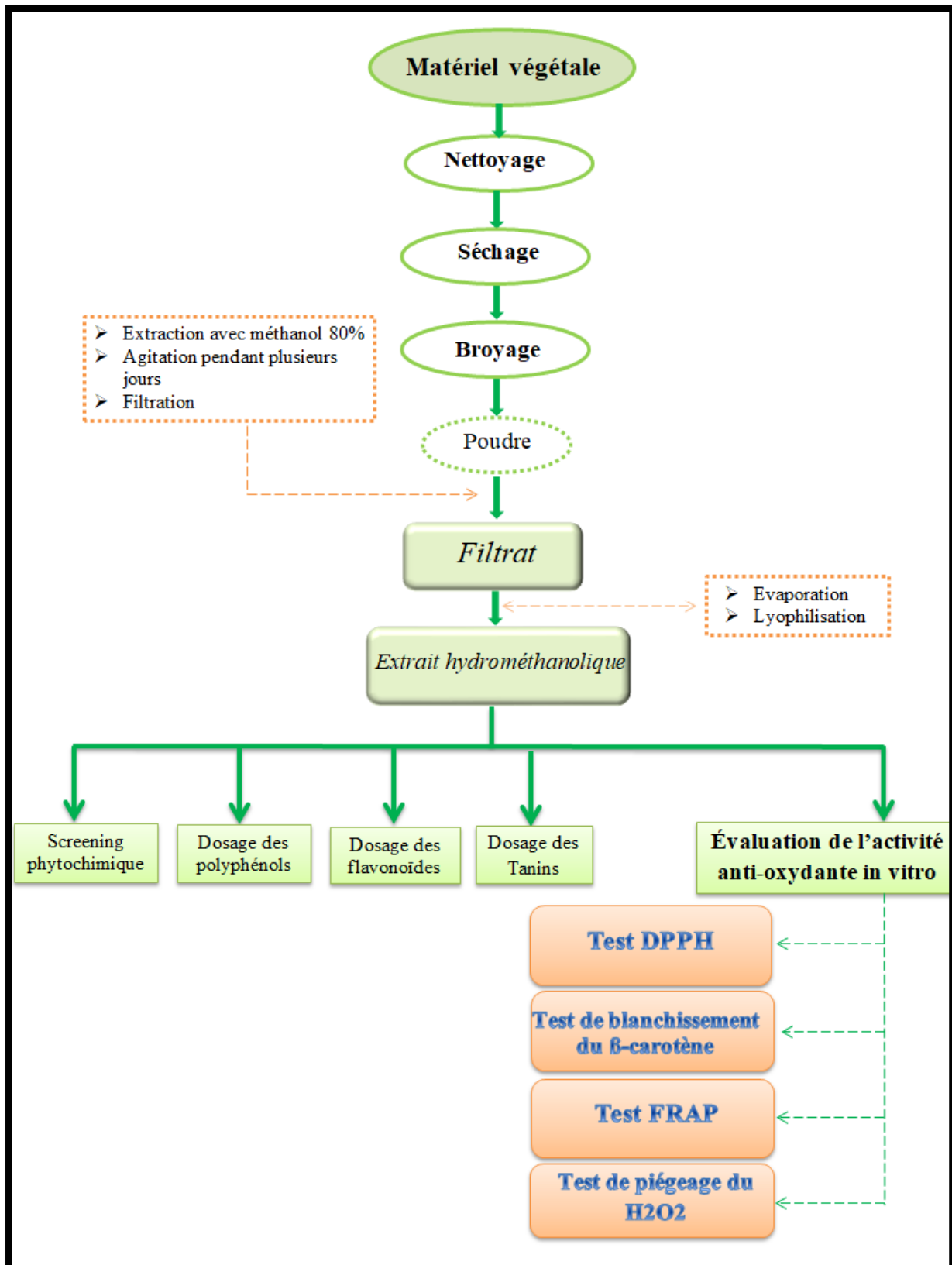


Figure 11. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

4. Screening phytochimique (Tests préliminaires de la composition chimique)

Le test phytochimique est la méthode de la base essentielle pour mettre en évidence la présence des différentes familles de composés chimiques existantes dans la plante étudiée. La base de cette détection est soit la formation de composés insolubles par des réactions de précipitation, soit des réactions de coloration avec des examens à la lumière ultraviolette.

Dans ce travail, les tests phytochimiques sont effectués sur une solution de l'extrait hydroalcoolique dissout dans du méthanol selon les méthodes décrites par **Trease et Evans (1983)**.

4.1. Tanin

Mélanger 2 ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée, après ajouter 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl_3 à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noire ou verdâtre indique un résultat positif.

4.2. Flavonoïdes

À 5 ml d'extrait, ajouter quelques gouttes d'Hcl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium (laisser agir). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rose ou rouge.

4.3. Alcaloïdes

Evaporer 20 ml de l'extrait hydroalcoolique de chaque plante à sec, ajouter 5 ml d'Hcl (2N) au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif de Mayer ou de Wagner.

- **Réactif de Mayer :** Dissoudre 1.358 g d' HgCl_2 dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.
- **Réactif de Wagner :** Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de I_2 . Le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée.

Introduire 1 ml de filtrat dans un tube à essai puis ajouter 5 gouttes de réactif. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique La présence d'alcaloïdes.

4.4. Stérols et triterpènes

Dans un récipient, introduire 5ml de l'extrait à tester, ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) dans la paroi de récipient sans agiter. Laisser reposer pendant 20 minutes.

La présence de stérols et de triterpènes est révélée par la création d'un anneau brun rougeâtre au point de contact entre les deux liquides et une coloration violette de la couche sus-jacente.

4.5. Saponosides

Ajouter 10 ml d'eau distillée à 5 ml de la solution à tester et agiter vigoureusement le mélange, la présence d'une mousse qui ça dure quelques minutes indique la présence des saponosides.

4.6. Composés réducteurs

Leur détection consiste à placer 1 ml d'extrait à analyser dans un tube à essai, puis ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5ml réactif A et 0,5ml réactif B). Le tout est ensuite placé dans un bain-marie bouillant pendant 8 minutes. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

4.7. Coumarines

Introduire 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml de la solution de NH_4OH à 25 %, agiter et observer sous la lumière UV à 366 nm. Sa fluorescence intense indique la présence de coumarines.

4.8. Mucilages

Introduire 5 ml d'éthanol absolu et 1 ml d'extrait dans un tube à essai. Après 10 minutes, la capacité du mélange à produire une précipitation floconneuse indique la présence de mucilages.

4.9. Terpénoïdes

Introduire 2 ml d'extrait, 2ml de chloroforme et 2 ml de H_2SO_4 concentré dans un tube à essai. La présence des terpénoïdes est révélée par la formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase.

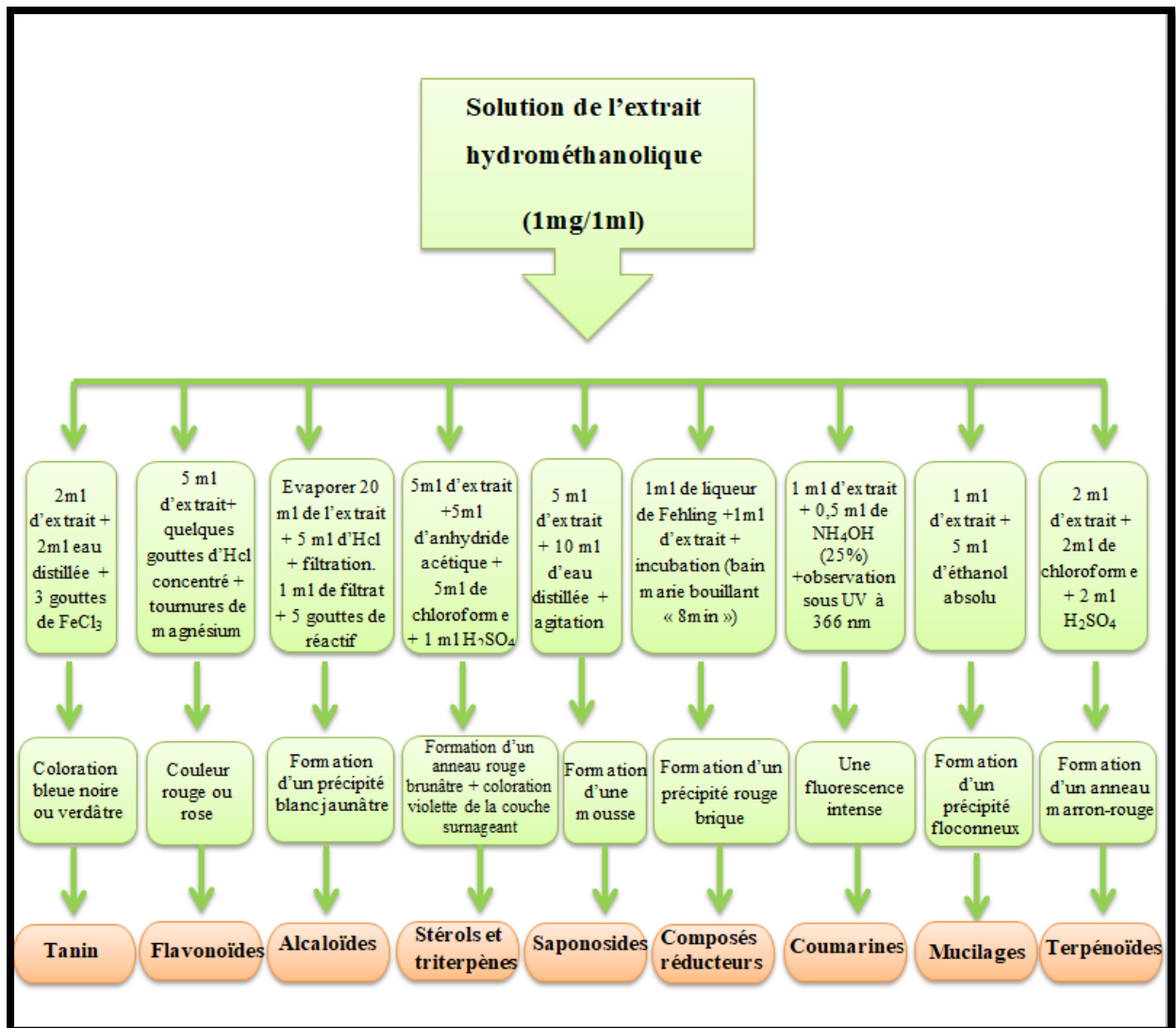


Figure 12. Protocole expérimental des tests phytochimiques.

5. Analyse de l'extrait hydrométhanolique

5.1. Dosage des composés phénoliques totaux

5.1.1. Principe

La teneur en composés phénoliques des trois extraits a été estimée par la méthode de Folin-ciocalteu selon (Li et al., 2007) cette méthode colorimétrique utilise le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Son principe est basé basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique phosphomolybdique de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Georgé et al., 2005).

5.1.2. Mode opératoire

1 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) est ajouté à 200 μ l d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium (0,75%) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 μ g/ml) et est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

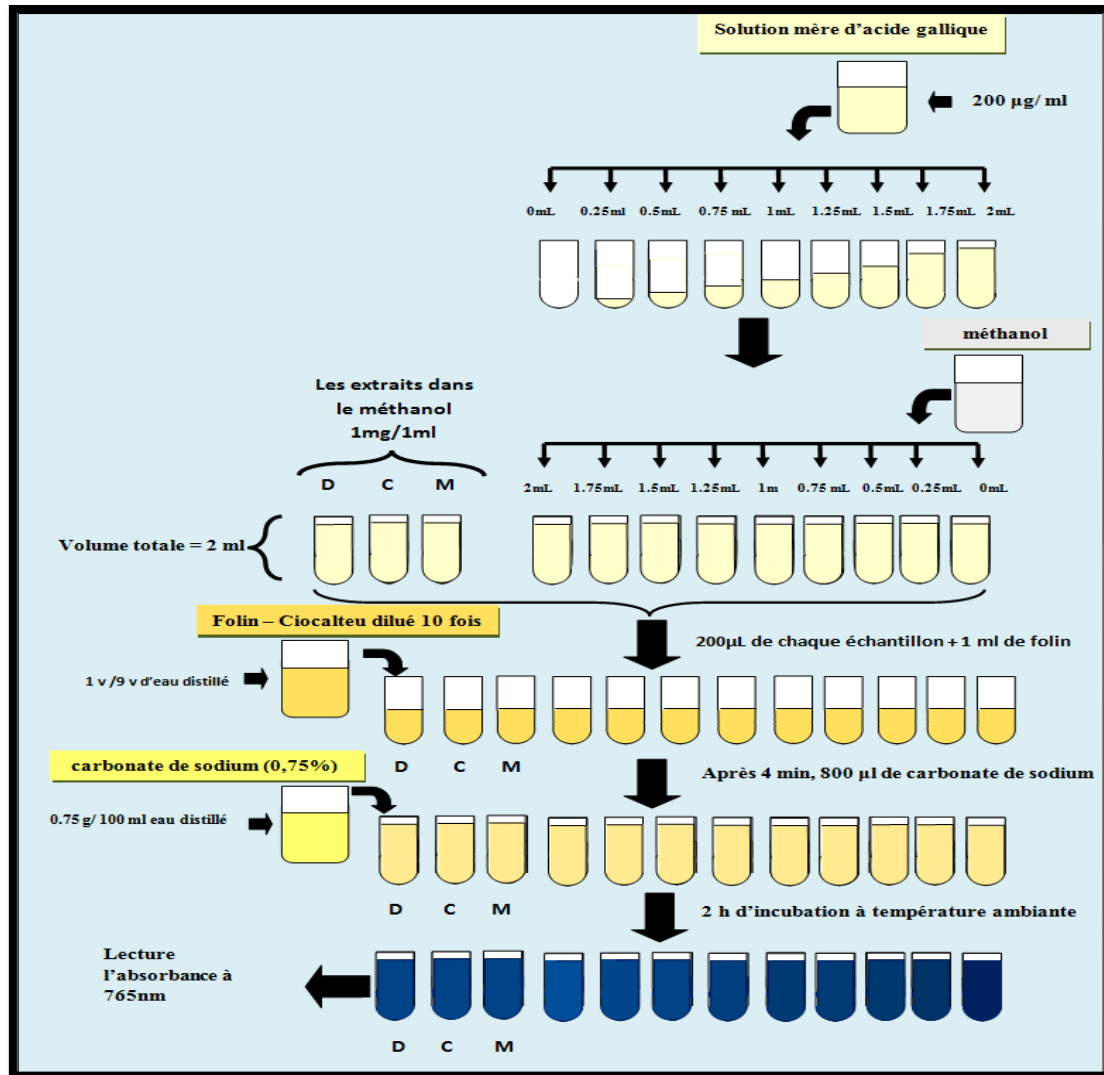


Figure 13. Protocole expérimental de dosage des polyphénols totaux.

5.2. Dosage des flavonoïdes

5.2.1. Principe

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les extraits a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Ce réactif forme un complexe flavonoïdes-Aluminium ayant un maximum d'absorption à 430 nm (Bahorun *et al.*, 1996).

5.2.2. Mode opératoire

Les échantillons sont préparés par la dissolution de 1 mg (extrait) / 1 ml (méthanol). 1 ml de chaque échantillon est ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Dix

minutes après le début de la réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une gamme étalon est établie séparément avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de lyophilisat.

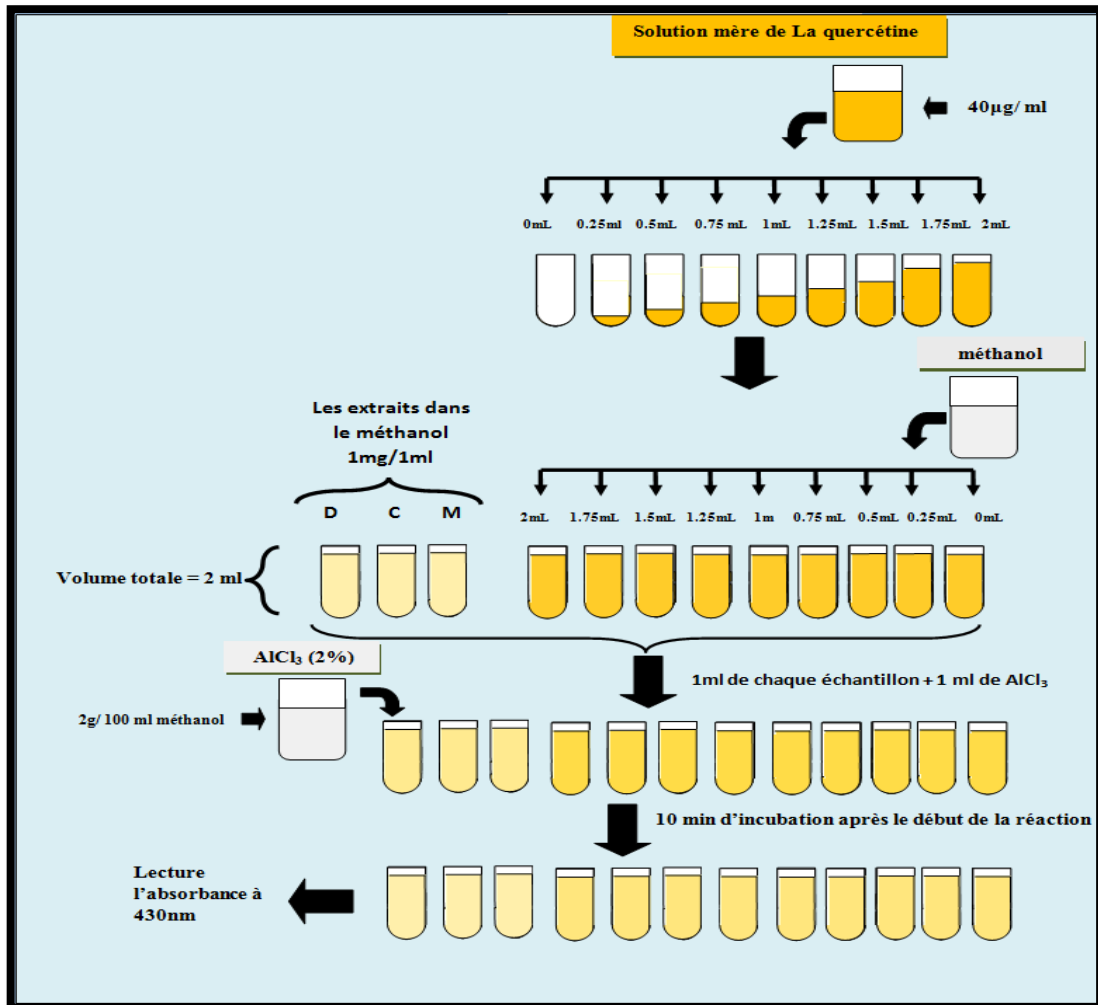


Figure 14. Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes.

5.3. Dosage des tanins

5.3.1. Principe

La teneur en tanins condensés a été déterminée selon la méthode décrite par **Julkunen-Titto (1985)**. Le contenu en tanins condensés des extraits est mesuré par la méthode colorimétrique en utilisant la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés et la formation de

complexes rouges (Makkar 2000., Schofield , 2001), cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline (Sun et al., 1998).

5.3.2. Mode opératoire

Une quantité de 0,5 ml de l'extrait a été ajoutée à 1,5 ml d'une solution de vanilline à 4% (préparée dans le méthanol). Le mélange résultant est vigoureusement agité et un volume de 750 μ l d'Hcl concentré est ajouté. Le mélange obtenu est laissé au repos pour réagir à température ambiante pendant 20 min dans une chambre noire. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 500 nm contre un blanc constitué de la solution de 4% de vanilline.

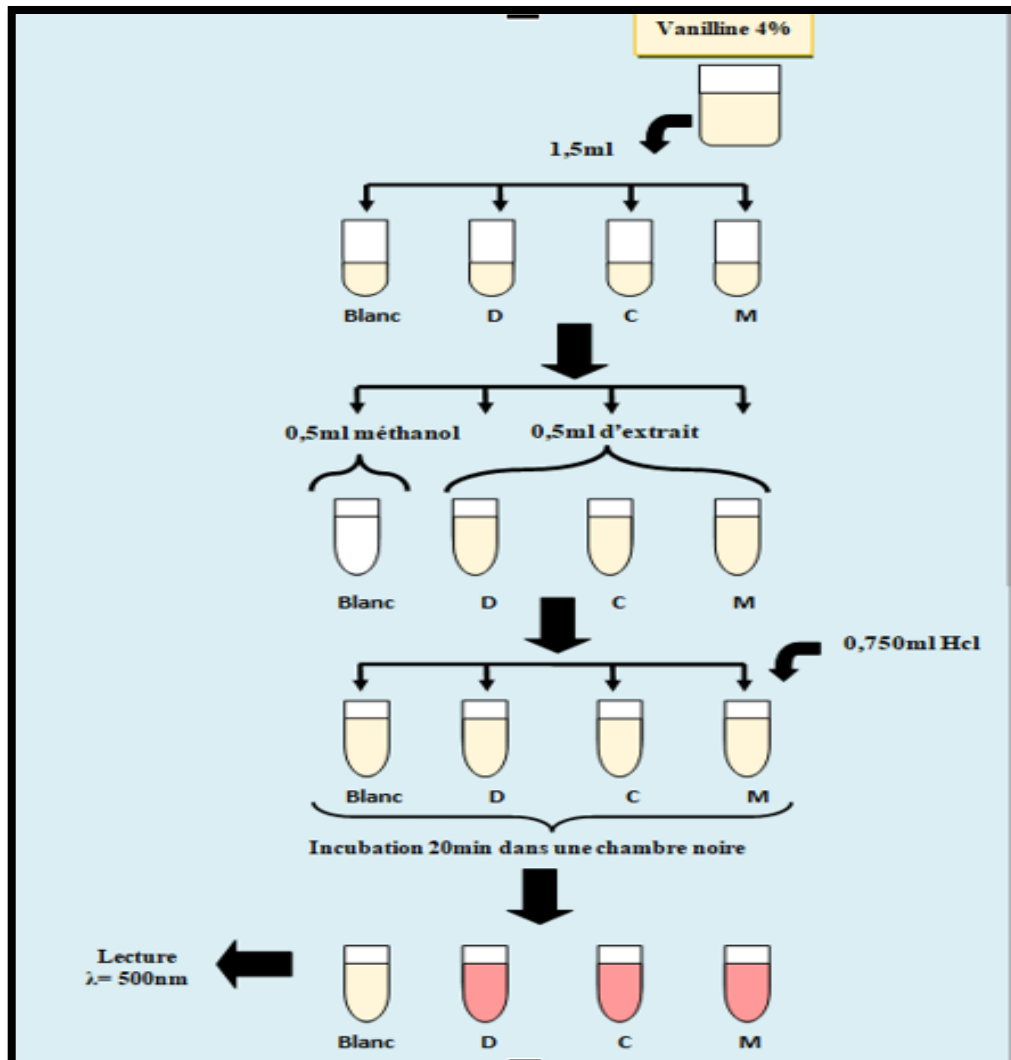


Figure 15. Protocole expérimental de dosage des tanins.

5.4. L'évaluation de l'activité anti-oxydante

5.4.1. Test de Piégeage du radical libre 2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH)

5.4.1.1. Principe

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des trois extraits, nous avons opté pour la méthode de DPPH (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$). Le test est basé sur la mesure de la capacité de piégeage des antioxydants. L'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH est réduit en recevant un atome d'hydrogène des antioxydants pour former l'hydrazine correspondante (Kedare et Singh, 2011).

Le DPPH est un composé radicalaire stable qui se présente sous la forme d'une poudre noire. Il peut se dissoudre dans l'éthanol ou le méthanol. Un atome du pont d'azote contient un électron libre sur ce radical. La délocalisation de cet électron est à l'origine de la teinte bleu-violette caractéristique du réactif. Lorsque le DPPH réagit avec un antioxydant, un atome d'hydrogène est attaché au radical. Ce fait entraîne une perte de couleur. Cette perte de couleur est mesurée spectrophotométriquement à 515-518 nm (El Babili et al., 2020).

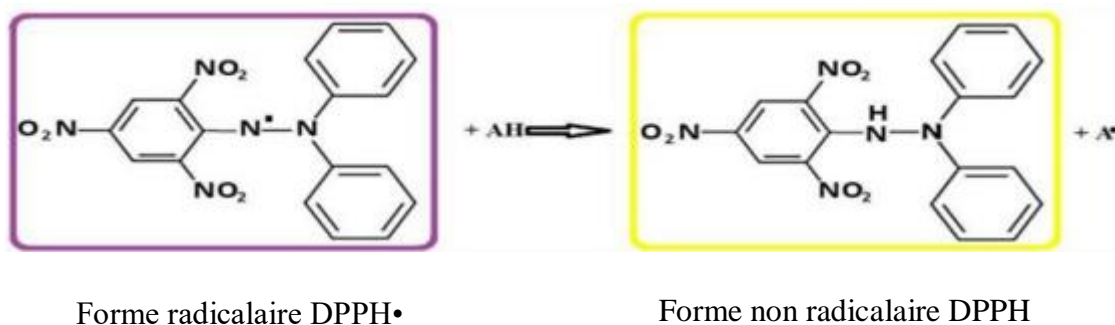


Figure 16. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• (entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)) (Molyneux, 2004).

5.4.1.2. Mode opératoire

Selon la méthode d'écrite par Mansouri et al., (2005), la solution de DPPH est préparée en dissolvant 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 μ l d'extrait ou de solution standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 μ l de DPPH, le mélange est

laissé dans l'obscurité pendant 30 min, et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm.

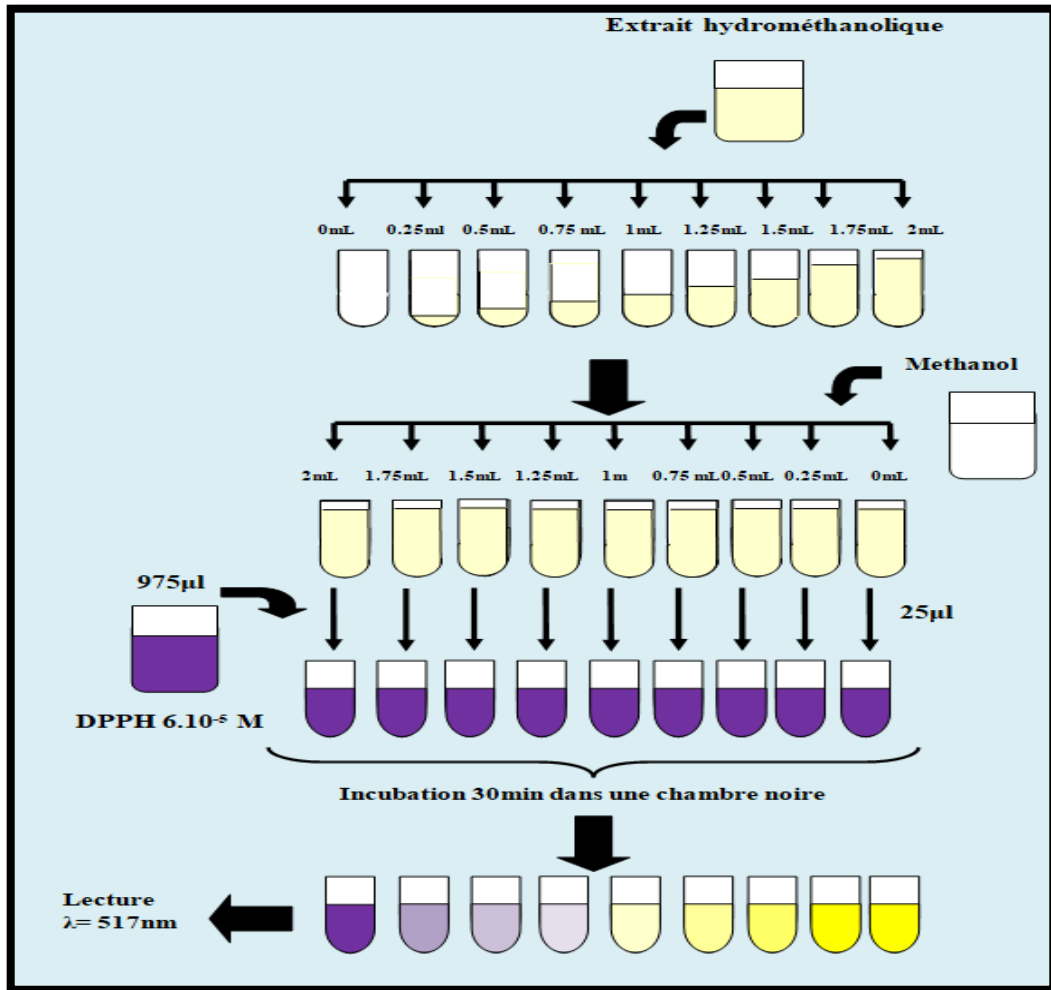


Figure 17. Protocole expérimental de Piégeage du DPPH.

L'activité anti radicalaire est estimée, en calculant le pourcentage d'intuition :

$$PI\% = \left[\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}}{\text{Abs contrôle}} \right] \times 100$$

Pour évaluer cette activité, une gamme des dilutions a été préparée pour les extraits, allant de 0 à 2 mg/ml.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer une courbe d'allure exponentielle pour chaque extrait, permettant d'avoir une idée sur la relation entre le pourcentage

d'intuition et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel.

➤ **Calcul des IC50**

La concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH est appelée IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), également connue sous le nom d'EC50 (Efficient concentration50).

La IC50 est calculée graphiquement en utilisant les pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (**Torres, 2006**).

Note : L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

5.4.2. Test de blanchissement du β -carotène

5.4.2.1. Principe

L'activité d'inhibition de peroxydation lipidique des extraits a été déterminée en utilisant de dosage de blanchiment β -carotène, selon la méthode décrite par (**Amin et Tan 2002**).

Le β carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation de l'acide linoléique dans un système d'émulsion en résultant la décoloration du β carotène (**Unten et al., 1997**).

La présence des antioxydants permet de protéger les acides gras de l'oxydation et réduisent l'ampleur de la destruction du β carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système.

5.4.2.2. Mode opératoire

20 mg du β carotène ont été dissout dans 10 ml de chloroforme, 1ml de cette solution est prélevé et introduite dans un ballon ou une fiole contenant 0,02ml d'acide linoléique et 0,2ml de tween 20.

La solution est évaporée sous l'étuve pendant (30 à 45 min) à 45°C jusqu'à la disparition complet du chloroforme, puis un volume de 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés avec agitation vigoureuse pour la formation de **l'émulsion (A)**.

0,2ml de l'extrait ont été ajouté à des tubes contenant 5ml de **l'émulsion (A)**. Les tubes ont

été agités doucement et placés dans un bain-marie à 45°C pendant 2 heures.

L'absorbance de l'extrait et des antioxydants de référence ont été mesurée à 470 nm dans un temps initial (t=0) contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène.

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie dans des intervalles de temps réguliers (chaque 20 min) pendant 120 min.

Le contrôle négatif : sans extrait, se composant de 0.2 ml de méthanol et de 5 ml de l'émulsion (A).

Le blanc : une solution constituant de 0.2 ml méthanol et 5ml de l'émulsion (B).

L'émulsion (B) : se composant de 0.02 ml d'acide linoléique ,0.2 ml de tween20 et 100 ml de l'eau distillée.

Le contrôle positif : La vitamine C a été employée comme contrôle positif.

L'activité antioxydant des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β carotène en employant la formule suivante : (Ozsoy et al., 2008)

$$PI\% = [1 - (A_0 - A_t / A^0_0 - A^0_t)] \times 100$$

Où :

◆ A_0 : Absorbance de l'échantillon à t_0 .

◆ A_t : Absorbance de l'échantillon (après incubation de 120 minutes).

◆ A^0_0 : Absorbance du contrôle négatif à t_0 .

◆ A^0_t : Absorbance du contrôle négatif (après incubation de 120 minutes).

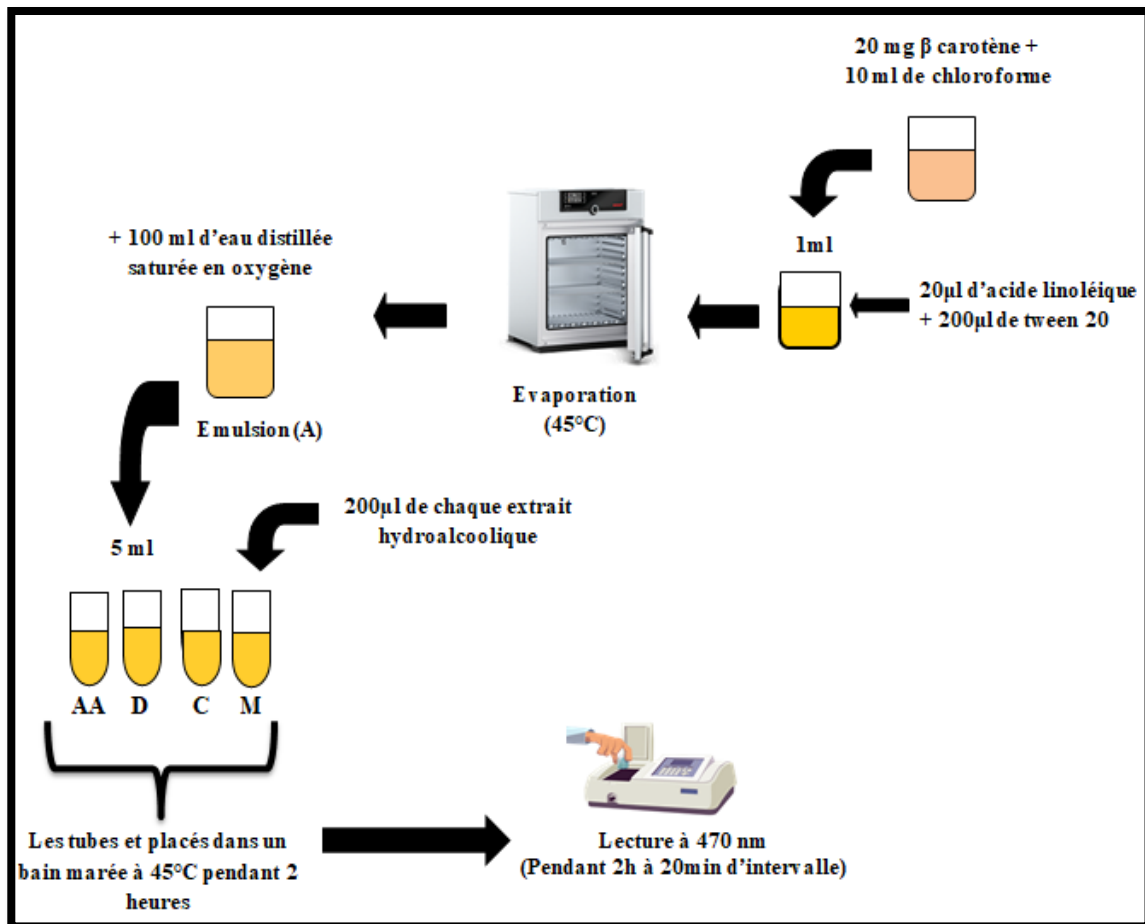


Figure 18. Protocole expérimental de test de blanchissement du β -carotène.

5.4.3. Test FRAP (Ferric Reducing Ability Power)

5.4.3.1. Principe

L'activité réductrice du fer des extraits préparés est déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986), La présence des réducteurs dans les extraits a donc provoqué la réduction de l'ion Fe^{3+} (complexé) en ion Fe^{2+} , qui est dans le complexe $(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6)$ en de la couleur bleu cyanée. Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydant potentielle d'un composé.

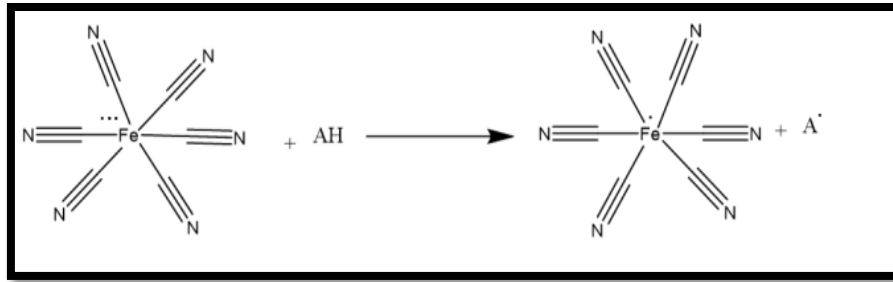


Figure 19. Schéma de la réaction de test FRAP (Dorman *et al.*, 2000)

5.4.3.2. Mode opératoire

Selon la technique **d'Oyaizu (1986)**, 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$) à 1% sont ajoutée à 1 ml des différentes concentrations des extraits (0,1 à 1mg/ml). L'ensemble est incubé au bain Marie à 50°C pendant 20 min, Pour stopper la réaction, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% est ajouté au mélange. Après avoir centrifugés les tubes à 3000 rpm pendant 10 minutes, 2,5ml du surnageant sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution de chlorure ferrique à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été faite à 700 nm contre un blanc semblablement préparé. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

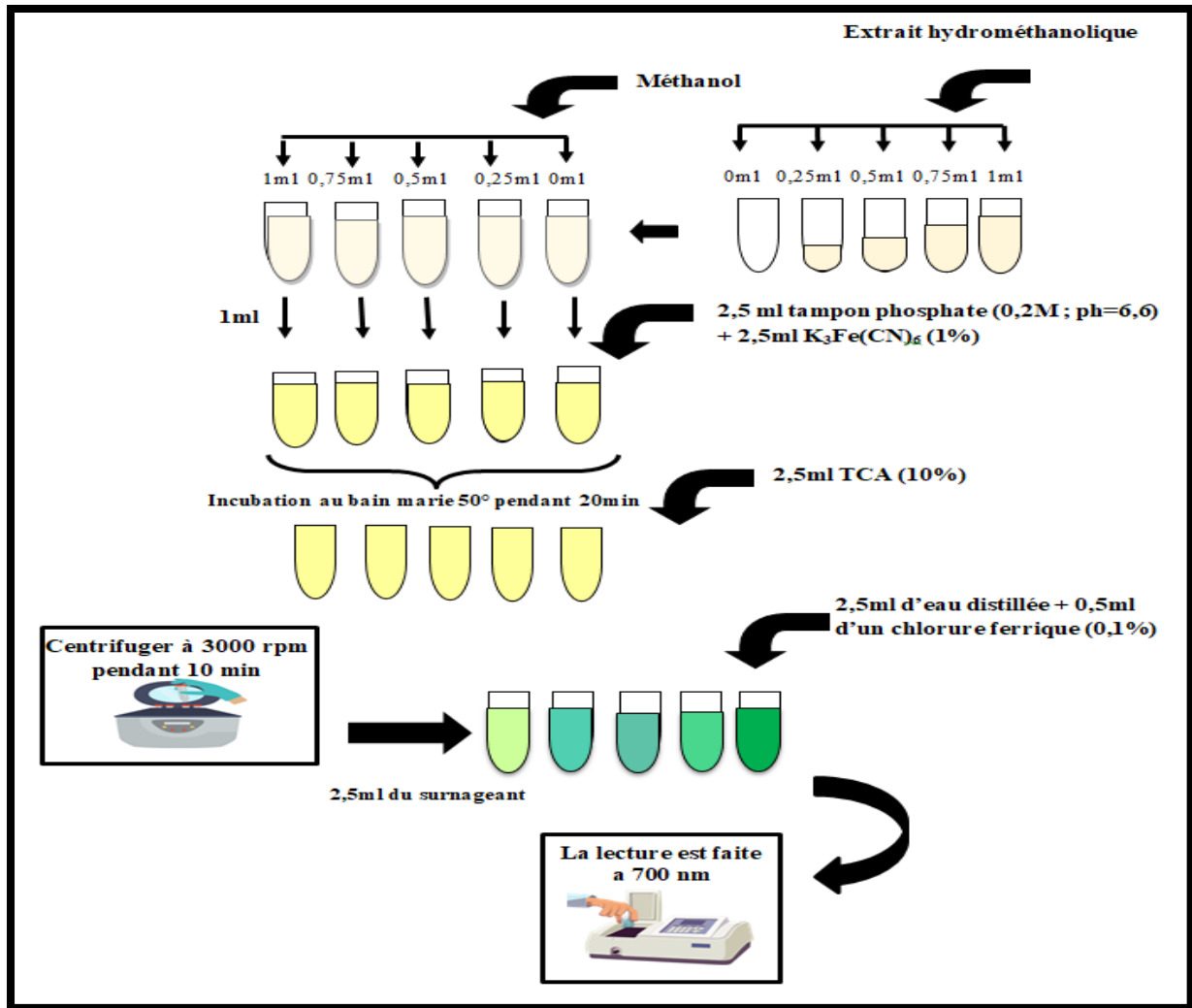


Figure 20. Protocole expérimentale de test FRAP.

5.4.4. Test de piégeage du H_2O_2 (méthode de piégeage du peroxyde d'hydrogène)

5.4.4.1. Principe

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est fondée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Lorsque la concentration du H_2O_2 est diminuée par les composés piégeurs, la valeur de l'absorbance de ce dernier à 230 nm est également réduite (El-Haci et al., 2012).

5.4.4.2. Mode opératoire

L'essai de réduction du peroxyde d'hydrogène a été effectué suivant la méthode de (Ruch *et al.*, 1989). 3,4 ml des extraits à différentes concentrations (0-100µg/ml) préparés dans une solution tampon phosphate à 0,1 M (pH 7,4) sont mélangés avec 600 µl d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 43 mM (préparée dans le même tampon phosphate). Après 20min l'absorbance est mesurée à 230 nm. Dans les mêmes conditions opératoires, l'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ du piégeage du H}_2\text{O}_2 = \frac{[(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100}{1}$$

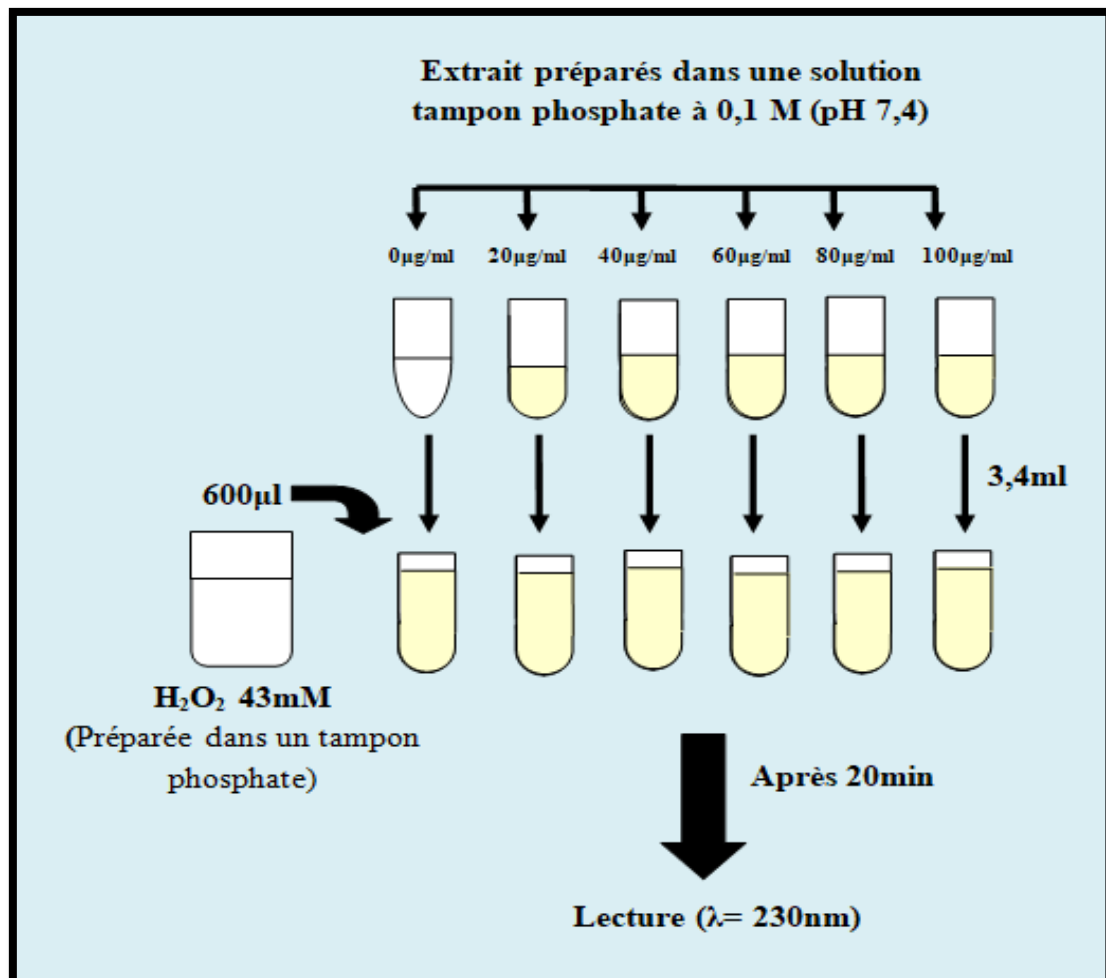


Figure 21. Protocole expérimental de Piégeage du H₂O₂

Résultats et discussion

Discussion

Les propriétés antioxydantes des extraits de plantes sont principalement dues à leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdes, qui sont capables de donner des atomes d'hydrogène ou des électrons pour inhiber la peroxydation lipidique et pour se protéger des dommages causés par les radicaux libres (**Akula et al., 2011**). Les résultats obtenus pourraient expliquer l'activité antioxydante des deux plantes médicinales : *Drimia anthericoides* (Poir.) et *Calendula suffruticosa* subsp. *foliosa* (Batt.), collectée dans la région d'Annaba (Nord-Est de l'Algérie).

Le rendement en extrait hydrométhanolique est variable selon les espèces des deux plantes et leur mélange. Cependant, le rendement le plus important est enregistré dans le mélange (18,23%), suivi *Drimia anthericoides* (16,4%), puis *Calendula suffruticosa* (10,08%).

Selon les études menées par **Belhaddad et al., 2017** et **Kord et al., 2020** sur le synonyme homotypique de *Drimia anthericoides* (*Urginea maritima*), les rendements en extrait brut est de 13% , 2.18% respectivement. Ces rendements sont nettement inférieurs à celui obtenu dans notre étude. Et dans une autre étude de **Amara et al., 2022** sur la même espèce *Drimia anthericoides* où le rendement de l'extrait hydrométhanolique est de 17,2% qui est légèrement supérieur à celui obtenu dans notre étude.

Notre rendement pour *Calendula suffruticosa*, est inférieur à celui signalé dans d'autres études sur la même espèce où le rendement de l'extrait hydrométhanolique est de 10.43%, 14.4% dans les études de **Amara et al., 2022** et de **Sofiane, 2018**. Une autre étude menée par **Samai et al., 2022** a montré un bon rendement d'extraction de *Calendula suffruticosa* avec 30.78% pour les fleurs , 21.80% pour les feuilles et 13.40% pour les racines. Une autre étude de **Rigane et al., 2013** réalisée sur une autre espèce de la même famille : *C. officinalis*, a révélé un rendement (18.24 %) supérieur à celui trouvé dans notre étude.

L'analyse phytochimique a montré que les trois extraits hydrométhanoliques lyophilisés (*Drimia anthericoides*, *Calendula suffruticosa* et le mélange) contiennent des métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les composés réducteurs, stéroïdes, stérols et triterpènes. Ces naturels composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes.

Nos résultats des tests phytochimiques préliminaires de l'espèce *Drimia anthericoides*, concordent avec ceux trouvés dans les travaux de recherche de **Belhaddad et al., 2017** et de **Amara et al., 2022** qui ont montré que la plante est riche en métabolites secondaire avec une absence des coumarines et saponosides. Il en est de même pour **Kord et al., 2020** qui ont prouvé par une étude phytochimique de la même plante la présence de ces composés phytochimiques, avec une présence de coumarine qui sont absents dans notre résultat.

Les résultats des tests phytochimiques préliminaires de l'espèce *C. suffruticosa*. concordent avec ceux trouvés dans les travaux de recherche de **Amara et al., 2022**. Le travail de **Sofiane, 2018** a révélé la présence des même composés que notre étude, exceptionnellement présence des alcaloïdes, saponosides, stérols et terpénoïdes, ces résultats sont en accords avec ceux de **Muley et al., 2009** et **Ashwlayan et al., 2018**.

Nos résultats montrent que l'extrait hydrométhanolique de mélange a une teneur plus élevée en polyphénols totaux (164.02 mg EAG/g) et en tanins (51.77 mg EC/g) et en flavonoïdes (27.04 mg EQ/g) par rapport à celle de l'extrait hydrométhanolique de *Drimia anthericoides* (132.02 mg EAG/g) pour les polyphénols et (30.20 mg EC/g) pour les tanins et (20.73 mg EQ/g) pour les flavonoïdes et à celle de l'extrait hydrométhanolique de *Calendula suffruticosa* (103.22 mg EAG/g) pour les polyphénols et (19.41 mg EC/g) pour les tanins et (16.04 mg EQ/g) pour les flavonoïdes.

Plusieurs travaux ont confirmé la richesse du genre *Drimia* en polyphénols et en tanins et en flavonoïdes parmi lesquels les travaux de **Belhaddad et al., 2017** ; **Rezzagui et al., 2020** et **El-Bondkly et al., 2022** .

En outre, de nombreux travaux ont montré que le genre *calendula* contient de bonnes quantités de polyphénols et flavonoïdes parmi lesquels les travaux de **Graziela et al., 2019** et de **Sofiane, 2018** et de **Samai et al., 2023** .

En effet la différence dans les quantités de ces métabolites secondaires des deux plantes peut être due à la variabilité du métabolisme dans différentes plantes mais aussi à la différence dans les conditions climatiques (température, l'exposition solaire, la sécheresse et la saison de croissance) (**Amara et al., 2022**) .

En outre le fait que les résultats montrent que le mélange contienne des grandes quantités de polyphénols et des tanins et des flavonoïdes, nous pouvons expliquer cela par le

fait qu'ils ont montré la somme des composés présents dans les deux plantes.

L'activité anti-oxydante des extraits hydrométhanoliques des deux plantes médicinales *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa* Vhal, a été évaluée par quatre tests peuvent être classés en deux groupes : les tests mesurant le transfert d'électrons ou d'hydrogène à un radical coloré stable et simple à détecter (DPPH, FRAP, H₂O₂) et les tests impliquant une compétition entre l'antioxydant et une cible à protéger (pigments, lipides) (décoloration de β -carotène) (Bensouici, 2015) .Ainsi que il convient de noter que les différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (Georgeva *et al.*, 2010)

Plusieurs études ont évalué les effets des fleurs et des bulbes de *Drimia Anthericoides* et *Calendula suffruticosa* à l'aide de diverses techniques, notamment le DPPH pour bien connaître leurs capacité antioxydantes totaux, ils ont révélé que leurs extraits hydrométhanoliques possèdent une excellente activité antioxydante, cela a été prouvé par des auteurs ayant travaillé sur les bulbes d'*Urginea indica* synonyme homotypique de *Drimia anthericoides* (Banani *et al.*, 2017), ou sur les bulbes et les feuilles d'autres espèces de la même famille des Liliacée, comme le genre *Allium* (Demirtas *et al.*, 2013 ; Himed, 2015) et des espèces d'oignons sauvages (Panduranga Murthy *et al.*, 2011) d'une autre des travaux effectuer sur *Calendula suffruticosa* par Sofiane,2018 et Amara *et al.*, 2022.

Le test piégeage du radical libre DPPH est basé sur la réduction de ce dernier lorsqu'il est mélangé avec un antioxydant tel que les polyphénols, ce qui conduit à une perte de sa couleur violette qui vire au jaune pâle et à une réduction de son absorption à 520 nm (Molyneux, 2004), Par ailleurs, l'effet de balayage contre les radicaux DPPH a révélé une activité antioxydante dépendante de la concentration des extraits hydrométhanoliques de *D Anthericoides* et *C suffruticosa*.

Donc en présence d'un antioxydant la force d'absorption est diminuée et la décoloration résultante (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH ont été exprimés par les pourcentages d'inhibitions et les valeurs d'IC₅₀, les valeurs IC₅₀ faibles indiquent une forte activité de piégeage des radicaux libres, qui exprime la quantité de DPPH restante ou utilisée dans le milieu après la réaction. La capacité de piégeage des radicaux libres des extraits hydrométhanoliques dépend de la capacité des composés antioxydants qui ont à libérer leur

hydrogénation, Nous avons constaté que l'extrait de *C suffruticosa* avait un potentiel antioxydant plus élevé (D'IC₅₀ =1.590 mg/ml) que l'extrait de *D Anthericoides* (D'IC₅₀ =1.739mg/ml).

Les terpénoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes et les tannins sont considérés comme des substances potentiellement antioxydantes. Cependant, la présence de ces substances indique que nos extraits hydrométhanoliques sont dotés d'une activité antioxydante. Les piègeurs les plus efficaces du radical libre DPPH sont ceux possédant les valeurs IC₅₀ les plus basses (Markowicz et al., 2007).

Selon Preethi et al., 2006 l'extrait butanolique de *Calendula* illustre aussi une activité de piégeage de radical libre in vitro d'une manière dose dépendante (Leach, 2008).

Concernant une concentration de 2 mg/ml, le pourcentage d'inhibition de DPPH de l'extrait *Drimia anthericoides* est de 59,42 % tandis que l'extrait *Calendula suffruticosa*, est de 63,15% et 86,3% pour le mélange.

Dans une étude de Mammadov et al.,2010 deux tests ont été utilisés afin de déterminer l'activité antioxydante des extraits d' *Urginea maritima* (test de β-carotène, test de DPPH etc...), dans cette étude les extraits ont été préparés à partir de feuilles et de tubercules en utilisant différents solvants tels que le méthanol, le benzène, l'éthanol et l'acétone, et selon les résultats obtenus les extraits de méthanol ont montré une activité antioxydante élevée de (66,8 %), c'est un pouvoir antioxydant supérieure à celui trouvé dans notre étude (59.42%).

Mahato et al., 2019 ont constaté que l'extrait méthanolique des bulbes d'*Urginea maritima* possédait une activité antioxydante remarquable en utilisant le test DPPH avec une valeur IC₅₀ de 0.05131 mg/ml, qui était inférieure à celle de nos résultats avec une valeur IC₅₀ de 1.590 mg/ml. Plusieurs auteurs ont recommandé *Urginea maritima*, (oignon sauvage traditionnel) comme alternative pour la gestion de nombreuses maladies chroniques.

Drimia anthericoides et *Calendula suffruticosa* ont montré un bon pouvoir de neutralisation du radical DPPH traduit par une concentration inhibitrice IC₅₀ égale à (1.739 mg/ml) pour *D anthericoides* et (1,590 mg/ml) pour *C suffruticosa*, valeur inférieure à celle trouvée par Máriássyová, 2006 (1,10 mg/ml), Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2006; Kouri et al., 2007). quelques composés se réagissent

très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant (**Bondet et al., 1997**). l'effet scavenger des flavonoïdes sur les radicaux libres dépend de la présence des groupements OH libres, en particulier 3-OH, avec une configuration 3',4'-rthodihydroxy (**Heim et al., 2002**).

Dans une étude **Rajput et al., 2018**, où des techniques de piégeage des radicaux libres DPPH ont été utilisées pour déterminer les activités antioxydantes de *D. maritima*. L'extrait hydrométhanolique a démontré une bonne activité de piégeage de ce radical.

Des résultats similaires de **Cetković et al., 2004** de **Efstratiou et al., 2012** de **Ercetin et al., 2012** et de **Miguel et al., 2016** ont été observés sur *Calendula* où l'extrait hydrométhanolique a démontré une bonne activité de piégeage de radical DPPH.

D'après nos résultats, nous remarquons clairement que les extraits hydrométhanoliques des deux plantes étudiées exercent un puissant effet inhibiteur de l'oxydation du β - carotène, après 120 minutes d'incubation.

L'extrait hydrométhanolique de mélange de deux plantes *Calendula suffruticosa* et *Drimia antherocoides*, montre la plus grande activité inhibitrice de l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène avec un pourcentage de 63,62%, suivie par *Drimia anthericoides* avec un pourcentage de 58,89%, puis *Calendula suffruticosa* avec un pourcentage de 54,14%.

Selon plusieurs travaux réalisées sur l'espèce *Drimia anthericoides*, l'extrait hydrométhanolique avec des pourcentages d'inhibition différents (**Mammadov et al., 2010**, et 63,58 % pour les feuilles et 57,71 % pour les tubercules), (**Belhaddad et al., 2017**, et 69,65%), (**Belhaddad, 2018**, et 69,56%), (**Bouhadjeb et Bouzaout, 2018**, et 71,02%), (**Rezzagui et al., 2020**, et 71%). Ces pourcentages sont nettement supérieurs à celui obtenu dans notre étude.

Dans des études similaires réalisée par **Kassim et al., 2013** et **Sofiane et al., 2018**, l'extrait hydrométhanolique de *Calendula suffruticosa* a inhibé la peroxydation lipidique de l'acide linoléique avec un taux de (74,6% , 75%) respectivement, qui sont supérieurs à celui obtenu dans notre étude.

Nos résultats montrent que l'extrait hydrométhanolique de mélange a une capacité réductrice plus élevée avec une densité optique de 0.503 à la concentration de 1 mg/ml par

rapport à celle de l'extrait hydrométhanolique de *Drimia anthericoides* ($DO= 0.328$) à la concentration de 1mg/ml et de l'extrait hydrométhanolique de *Calendula suffruticosa* ($DO = 0.239$) à la concentration de 1 mg/ml.

En outre beaucoup de travaux ont montré que *Drimia anthericoides* a une activité antioxydante élevée, **Bouhadjeb et al., 2018** ont étudié l'activité anti-oxydante de l'extrait de *Drimia antherocoides* par le test de FRAP dont la capacité réductrice a été exprimé en concentration effectrice (EC50) où l'EC50 le plus faible correspond à l'extrait le plus actif. Les auteurs ont obtenu des valeurs de $186,81 \pm 3,88 \mu\text{g/ml}$.

Egalement **Rezzagui et al., 2020** ont étudié l'activité anti-oxydante de l'extrait de *Drimia anthericoides* de la région de Mila (l'est de Algérie) par le test de FRAP dont quatre types de solvants, à savoir l'extrait éthanolique brut(CRE), Fraction de chloroforme (CHE), fraction d'acétate d'éthyle (EAE), Extrait aqueux(AQE) ont été utilisés pour extraire les composés bioactifs de *Drimia anthericoides* , ils ont également exprimé les résultats en EC50 et ils ont obtenu des valeurs de $53.12 \pm 0.017 \mu\text{g/ml}$ et $24.2 \pm 0.006 \mu\text{g/ml}$ et $17.06 \pm 0.014 \mu\text{g/ml}$ et $50.56 \pm 0.011 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Aussi **Leilei et al., 2022** ont étudié l'activité anti-oxydante de l'extrait de *Drimia anthericoides* par le test de FRAP dont , dans leur travail trois types de solvants, à savoir l'acétate d'éthyle (EA), le méthanol (MeOH) et de l'eau (H_2O) ont été utilisés pour extraire les composés bioactifs des parties aériennes et les bulbes de *Drimia anthericoides*. Ils ont obtenus des valeurs de 15.26 ± 0.75 et 29.93 ± 0.46 et 55.43 ± 0.39 respectivement dans les parties aériennes. et des valeurs de 24.49 ± 0.39 et 16.52 ± 0.24 et 16.38 ± 0.29 dans les bulbes.

En outre plusieurs travaux ont montré que le genre *Calendula suffruticosa* a une bonne activité anti-oxydante , **Samai et al., 2022** ont étudié l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle de cette plante ainsi que les extraits préparés à partir de plusieurs solvants (méthanol 70% MEOH et l'éthanol 70% ETOH) et préparés à partir de différentes parties (fleurs, feuilles et racines) en utilisant le test de FRAP , dont ils ont obtenu pour le MEOH des valeurs de 44.63 ± 0.52 et 50.03 ± 1.18 et 67.19 ± 1.72 dans les fleurs, les feuilles et les racines respectivement et pour le ETOH des valeurs de 38.74 ± 1.95 et 44.60 ± 0.06 et 61.53 ± 2.52 dans les fleurs, les feuilles et les racines respectivement .

Egalement **Sofiane, 2018** a étudié l'activité anti-oxydante de l'extrait éthanolique de *Calendula suffruticosa*, elle a obtenu des valeurs de densité optique de $1,157 \pm 0.0015$ à une

concentration de 0,5 mg/ml.

Pour le mélange nos résultats ont montré qu'il possède une capacité réductrice plus élevée que les extraits bruts de deux plantes *Drimia anthericoides* et *Calendula suffruticosa*, on peut expliquer cela par la synergie des composés présents dans les deux plantes.

La présence de réducteurs (comme antioxydants) provoquent la conversion du complexe Fe^{3+} ferricyanure à la forme ferreuse Fe^{2+} . Bien que le fer soit essentiel pour le transport d'oxygène pour la respiration et l'activité des enzymes, il s'agit d'un métal réactif qui catalyse des dommages oxydatifs dans les tissus vivants et les cellules (**Bourgou et al., 2008**).

D'une manière générale, l'activité réductrice est attribuée à la composition chimique des extraits testés. Cependant, elle peut être due à l'un des constituants majoritaires ou à d'autres constituants minoritaires ou également à une synergie entre eux (**Sofiane, 2018**).

Nous avons étudié la capacité de nos extraits à piéger le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en suivant la diminution de l'absorbance de cette molécule (H_2O_2) à 230 nm. D'après les résultats obtenus, on a remarqué que les extraits étudiés sont doués d'une activité antiradicalaire importante vis-à-vis le radical H_2O_2 notant que, cette activité est dose dépendante, Ceci est peut-être expliqué par la richesse de ces extraits en métabolites secondaires tel que les polyphénols et les flavonoïdes qui sont connus par leur rôle antioxydant.

Plusieurs travaux ont montré que les composés phénoliques sont des bons donneurs d'électrons et peuvent accélérer la conversion de H_2O_2 en H_2O , et grâce aux groupes hydroxyles, les composés phénoliques sont des puissants antioxydants peuvent contribuer directement à l'action antioxydante (**Wagh et al., 2012**).

Conclusion
et
perspectives

Les plantes médicinales restent une source fiable d'ingrédients actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques tels que les polyphénols, ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs en raison des bénéfices qu'ils pourraient procurer à la santé humaine.

Ce travail a porté sur l'extraction et le dosage des polyphénols et des flavonoïdes de deux plantes disponibles en Algérie : *Drimia Anthericoides* et *Calendula suffruticosa* ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes.

- ✓ Le screening phytochimique réalisé sur les deux plantes ainsi que leur mélange a montré leur présence en plusieurs principes actifs tels que flavonoïdes, les tanins, les mucilages, les composés réducteurs et les coumarines.
- ✓ L'analyse quantitative par le dosage spectrale des substances bioactives a montré que les trois extraits testés sont riches en polyphénols, flavonoïdes et en tanins.
- ✓ *Calendula suffruticosa* et *Drimia anthericoides* ainsi que leur mélange ont possédé un pouvoir anti-radicalaire important vis-à-vis le radical DPPH, notons que le pouvoir le plus élevé et enregistré chez le mélange de deux plantes.
- ✓ Nos extraits ont exercé un effet inhibiteur de l'oxydation du β -carotène très important surtout chez *Drimia anthericoide* et le mélange.
- ✓ L'évaluation de la capacité d'inhibition du peroxyde d'hydrogène pour les trois extraits montré qu'ils sont doués d'un pouvoir antiradicalaire remarquable en particulier *Drimia anthericoide* et le mélange.

Cette activité anti-radicalaire des extraits est relativement dépendante de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, donc ces molécules sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, donc il serait judicieux de compléter cette recherche par une étude approfondie s'intéressant à l'identification des molécules bioactives, aussi de mieux connaître le mécanisme d'action de ses molécules ainsi que leur pharmacocinétique et leur pharmacodynamie.

*Références
bibliographiques*

A

- ✚ **Ahamet, S.** (2003). Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (Balanitaceae). Thèse Pharmacie, Bamako; 117 P.
- ✚ **Akula, R et Ravishankar, G.A.** (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior*. 6 (11): 1720-1731.
- ✚ **Alam, M.N., Bristi, N.J. et Rafiquzzaman, M.** (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143-152.
- ✚ **Alamgir, A. N. M.** (2018). Springer International Publishing AG, part of Springer Nature , Therapeutic Use of Medicinal Plants and their Extracts: Volume 2, Progress in Drug Research 74, Biotechnology, In Vitro Production of Natural Bioactive Compounds, Herbal Preparation, and Disease Management (Treatment and Prevention) p 601-602.
- ✚ **Algeciras-Schimnich A., Cook W-J., Milz T-C., Saenger A-K et Karon B-S.** (2007). Evaluation of haemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*.40 : 1311 – 1316.
- ✚ **Amara, N., Friane, H., Hamdi, M et Touahri, R.A.** (2022) « Screening Phytochimique Et Evaluation De Quelques Activités Biologiques De Deux Plantes Médicinales ».
- ✚ **Anne Sophie Limonier.** (2018). La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. Sciences pharmaceutiques. dumas-01840619 (Haute Autorité de Santé), Réévaluation du service médical rendu du Cardiocalm
- ✚ **Aravodis, E.** (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4 (2):128-133.
- ✚ **Ashwlayan, V., Kumar, A et Verma, M.** (2018). Therapeutic Potential of *Calendula officinalis*. Volume 6, issue 2:149–155.

B

- ✚ **Baba, L.M et Grath, IM.** (2008). Oxygen free radicals: effects in the new born period. *Advances in Neonatal Care* 8 Journal. P 256-264.
- ✚ **Bach-Nga PHAM.** (2003).Cahier de formation: Immunoglobulines monoclonales.

- Biologie médicale. Chap. : Electrophorèse des protéines du sérum. A. Daunizeau.28: 26-46.
- ✚ **Badiaga, M.** (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
 - ✚ **Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C et Pinkas, M.** (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11) : 1086-1089.
 - ✚ **Banani Salman, F., Hyun, O., Lee Anthony, A., Hyman Michael, K et Rosen.** (2017). Biomolecular condensates: Organizers of cellular biochemistry *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017 May; 18(5): 285–298.
 - ✚ **Barberis, C.** (2001). Generation, stabilité et utilité des organolithiens benzyliques chiraux. Université Laval.
 - ✚ **Beddou, F.** (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. et Dur. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen, Algérie, p 17.
 - ✚ **Belhaddad, O.E., Charef, N.E., Amamra, S., Zerargui, F., Baghiani, A.R., Khennouf S et Arrar, L.** (2017). Chromatographic fractionation, antioxidant and antibacterial activities of *Urginea maritime* methanolic extract. *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol.30, No.1, Journale de researchgate, pp.127-130-134.
 - ✚ **Belhaddad, O.E.** (2018). Phytochimie, fractionnement et activités antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Urginea maritima* et *Urtica pilulifera*.
 - ✚ **Beniston, N et BENISTON, W.** (1984). Fleurs d'Algérie. Entreprise Nationale du Livre. p.359. CJB - African plant database –Detail. URL.
 - ✚ **Bensakhria, A.** (2018). Toxicologie générale-Stress oxydatif. Université atholique Saint Antonio de Murcia.
 - ✚ **Bensouici, C.** (2015) Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (*Crassulaceae*). Thèse de doctorat en Chimie organique. Université Frères Mentouri, Constantine.
 - ✚ **Binette et Jardin.** (2008). édité par My Beautiful Company ;
 - ✚ **Blois, M.S.** (1958). Antioxydant Determinations by the Use of a Stable Free Radical.
 - ✚ **Boizot, N et Charpentier, J-P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en

- composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. P : 79-82.
- ✚ **Bondet, V., Williams, W.B. et Berse, TC.** (1997). Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*. 30: 609-615.
 - ✚ **Botineau, M.** (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec et Doc (Eds.) Lavoisier 1336.
 - ✚ **Bouchouka, E.** (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. P : 17.
 - ✚ **Bougandoura, N et Bendimerad, N.** (2012). Evaluation d'activité antioxydante des Extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature et amp; Technologie*, (9), 14 – 19.
 - ✚ **Bouhadjeb, A et Bouzaout S.** (2018). Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits des fleurs d'*Urginea maritima*. Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel, pp. 31-32-39.
 - ✚ **Boumediou, A. et Addoun, S.** (2017). Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen. 67p.
 - ✚ **Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H. et Marzouk B.** (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, pp. 48-55
 - ✚ **Bourgou, S., Serairi Beji, R., Medini, F et Ksouri, R.** (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology*. 28 (12): 1649-1655.
 - ✚ **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, Lavoisier, Paris, 1120 p.
 - ✚ **Bruneton, J.** (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4^{ème} édition. Paris : Tec et amp; Doc.
 - ✚ **Bozorgi, M., Amin, G.R., Ostad, S.N., Samadi, N., Nazem, E. et Shekarchi, M.** (2017). Toxicological, chemical and antibacterial evaluation of squill vinegar, a

useful product in Persian Traditional Medicine. Res. J. Pharmacogn. 4, 33–39.

C

- ✚ **Catier, O. et Roux, D.** (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Collection du "cahier du préparateur en pharmacie ", 141- 146.
- ✚ **Cetkovi, G.S., Djilas, S.M., Canadanovi -Brunet, J.M et Tumbas, V.T.** (2004). Antioxidant properties of marigold extracts. Food Res. Int., 37, 643–650. [Cross Ref].
- ✚ **Chaaban, H.** (2017). Étude cinétique et modélisation des effets des traitements thermiques et de l'environnement physico-chimique sur la dégradation et l'activité antioxydante des flavonoïdes. Université de Lorraine.
- ✚ **Chabrier, J.Y.** (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie, Université Henri Poincaré. Nancy 1 faculté de pharmacie. Paris. 184. 26-74p.
- ✚ **Christophe, A.** (2014). limites et risque de la phytothérapie, Université de limoges, 12 14p.
- ✚ **CJB-African Plant Data base** (2023).
- ✚ **Couplan, François.** (2012). 1ère édition ' Les plantes et leurs noms Histoires insolites'. P 023,23.
- ✚ **Cristina, P., Ilonka, S et Bartek, T.** (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de génie industriel, 2009,4,25-39 , p : 28.

D

- ✚ **David, G-W.** (2015). Encyclopedia of Mind Enhancing, Foods, Drugs and Nutritional Substances. Second edition. Edition Mc Farland et Company, Inc, Publishers Jefferson, North Carolina. P : 166.
- ✚ **Dehak, K.** (2013). Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Université KASDI Merbah Ouargla.
- ✚ **Delattre, J., Beaudoux, J-L et Bonnefont- Rousselot, D.** (2005). Antioxydants et nutrition. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier. P : 45-60 ,261-276.
- ✚ **De la rosa, L A., Alvarez, P.E. et Gonzalez, G.A.** (2009). Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value and Stability. John Wiley and sons, p.380.

- ✚ **Demirtas, I., Erenler, R., Elmastas, M. et Goktasoglu, A.** (2013). Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. *Food chemistry*, 136: 34-40.
- ✚ **Dorman, H.J.D. et al.** (2000). antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil, *Journal of applied microbiology*, 88: 308-316.
- ✚ **Dubois, B.** (2015). Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, Thèse doctorat, l'université Claude-Bernard-Lyon I, France
- ✚ **Durand, D., Damon, M et Gobert, M.** (2013) .Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5): p. 218-224.

E

- ✚ **Eddhima, Z.** (2019). Les radicaux libres: effets, mécanisme et approches thérapeutiques (Doctoral Dissertation).
- ✚ **Efstratiou, E., Hussain, A.I., Nigam, P.S., Moore, J.E., Ayub, M.A et Rao, J.R.** (2012). Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complement. Ther. Clin. Pract.*, 18, 173–176.
- ✚ **Eguchi, R., Ono, N., Horai, H., Amin, M. A.-U., Hirai, A. M., Kawahara, J et Kanaya, S.** (2017). Classification of alkaloid compounds based on subring skeleton (srs) profiling: On finding relationship of compounds with metabolic pathways. *J Comput Aided Chem*, 18, 58-75.
- ✚ **El Babili, F., Nicole, L.-M., Caroline, V., Romain L., Arthur, H.** (2020). « ICH Validation of DPPH Assay Method: Some Interesting Medicinal Drugs ». Volume 6, Issue 2.
- ✚ **El Kalamouni, C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées.
- ✚ **El-Bondkly, E.A.M., Al Shammari, B., El-Gendy, M.M.A.A., Alsafari, I.A., Alaa Ahmed Mohamed Ahmed El-Bondkly., Fared Shawky El-Shenawy et Ahmed Mohamed El-Bondkly.** (2022). Phytochemical Screening, Antifungal, and Anticancer Activities of Medicinal Plants *Thymelaea Hirsuta*, *Urginea Maritima*, and *Plantago Albicans*. Hindawi, pp. 7
- ✚ **Ercetin, T., Senol, F.S., Erdogan Orhan, I et Toker, G.** (2012). Comparative

assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from *Calendula arvensis L.* and *Calendula officinalis L.* Ind. Crops Prod., 36, 203–208.

- ✚ **Evans, J-L., Goldfine, I-D., Maddux, B-A et Grodsky, G-M.** (2002). Oxidative stress and stress- activated signalling pathways : a unifying hypothesis of type 2 diabetes, *Endocr Rev*, 23: 599-622.

F

- ✚ **Fadili, K et Amalich, S.** (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. *Int J Innov Sci Res ISSN*. 17: p. 2351-8014.
- ✚ **Favier, A.** (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*; 108-117.
- ✚ **Foukaridis, G.N., Osuch, E., Mathibe, L. et Tsipa, P.** (1995). The ethnopharmacology and toxicology of *Urginea sanguinea* in the Pretoria area. *J. Ethnopharmacol.* 49, 77–79.
- ✚ **Frederich, M.** (2018). Pharmacognosie I, chapitre 10 : Terpénoïdes et stéroïdes. Université de Liège.

G

- ✚ **Garabeth, F., Bouaoun, D et Elyafi-Elzahri, G.** (2007). Étude quantitative des coumarines d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boissier, Phytothérapie, Université de Damas, faculté des sciences, Syrie 2 Université libanaise, 259-263p.
- ✚ **Garait, B.** (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université Joseph Fourier-Grenoble 1. P 123-125.
- ✚ **Gardès-Albert, M.** (2006). Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. *Ann Pharm Françaises* 64:365–372.
- ✚ **Gaté, L., Paul, J., Nguyen Bal, G., Tew, K-D et Tapierol, H.** (1999). Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed et Pharmacothérapie*. 53 : 16980.
- ✚ **Georgé, S., Brat, P., Alter, P. et Amiot, M. J.** (2005). Rapid determination of

- polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53:5, 1370-1373.
- ✚ **Georgieva, S., Boyadzhiev. et Angelov, G.** (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel*. 5: 124-132.
 - ✚ **Ghédira, K. et Goetz, P.** (2016). *Calendula officinalis L. (Asteraceae): souci*. *Phytothérapie*, 14(1), 62-67.
 - ✚ **Goto, M., Ueda, K. et Hashimoto, T.** (2008). « A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine* ». 45(9): p. 1318-1325.
 - ✚ **Graziela, B.E., Lorena, C.C.B., Jânio, S.S., Thiago, M.C., Mariza, B.M., Mariana, A.V.C., Luciana, A., Marianna, M.F., Anderson, S.S., Mingchun, W., Liang, Z. et Daniel, G.** (2019) . From the Field to the Pot: Phytochemical and Functional Analyses of *Calendula officinalis L.* Flower for Incorporation in an Organic Yogurt. *journal de antioxydants*, pp. 10
 - ✚ **Gruffat, X.** (2017) Définition de la phytothérapie. Disponible, sur: <https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>.
 - ✚ **Guinebert, E., Durand, P., Prost, M., Grinand, R. et Bernigault, R.** (2005). Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, 554.
 - ✚ **Guo, L., Xie, M.-Y., Yan, A.-P., Wan, Y.-Q, et Wu, Y.-M.** (2006). "Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS," *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 386, p. 1881.

H

- ✚ **Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P. et Benjamin, O.** (2019).Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. Et Perr. *European Scientific Journal*, 15(12),159-171.
- ✚ **Halbwirth, H.** (2010). The Creation and Physiological Relevance of Divergent Hydroxylation Patterns in the Flavonoid Pathway. *Int J Mol Sci*. 11:595-621.
- ✚ **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier C et Chapelle J.-P.** (2007). "Le stress oxydant," *Revue médicale de Liège*, vol. 62, pp. 628-38.
- ✚ **Hamel, T., Sadou, S., Seridi, R., Boukhdir, S. et Boulemtafes, A.** (2018).Pratique

traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 59, 65-70.

- ✚ **Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. et Bobilya, D.J.** (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13(10):572-584.
- ✚ **Himed, H.** (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune. Thèse de magister. Université Mentouri (Constantine, Algérie).
- ✚ **Hocine, F.M. et Gorine, M.A.** (2017). Evaluation de l'exposition au plomb et cadmium et impact sur quelques paramètres du statut oxydant/antioxydant chez les ouvriers exposés aux fumées de soudage.
- ✚ **Hodek, P.** (2002). *Chemico-Biological Interactions*. Vol 139, 1-21.
- ✚ **Hopkins, W. G.** (2003). Molécules et métabolismes In physiologie végétal. De Boeck et Lacier (S.a). PP : 268-282. ISBN 2-7445-0089-5.

J

- ✚ **José, T., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J. et Borges, F.** (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *Bio Med Research International*
- ✚ **Julkunen-Titto, R.** (1985). Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolics. *J. Agric. Food Chem.*, 33: 213- 217. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00062a013>.

K

- ✚ **Kassim, G. K., Fouad, R.S. and Faroun, A.E.** (2013). Antibiofilm, Antibacterial and Antioxidant activities of water extract of *Calendula officinalis* flowers. *International journal of Biological et Pharmaceutical Research*, pp. 465-470.
- ✚ **Kaya, G et La.** (2014). Dermatoporose. Vieillesse cutané Skin ageing: p. 24.
- ✚ **Kedare, S. B. et Singh, R. P.** (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Technol*, 48 (4), 412–422.
- ✚ **Kord, A., Hammoudi, Kh et Chader, H.** (2020). ACTIVITÉ REDENTICIDE DE L'EXTRAIT DU BULBE D'*URGINEA MARITIMA*. *Revue Agrobiologia* 10(2): 2162-167.

- ✚ **Kouri, G., Tsimogiannis, D., Bardouki, H. et Oreopoulou, V.** (2007). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus* Innovative Food Science and Emerging Technologies. 8: 155-162.
- ✚ **Kralova, K. et Jampilek, J.** (2021). Responses of medicinal and aromatic plants to *engineered nanoparticles* Applied Sciences, 11(4), 1–44.

L

- ✚ **Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F. et Samuel J-L.** (2007). Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. Edition John Libbey Eurotext, Paris, P : 31, 316- 317.
- ✚ **Laib, N et Megag, B.** (2020). « Etude des propriétés biologiques des métabolites secondaires de quelques espèces végétales de la famille Astéracées »Mémoire de fin d'études Université Mohamed Seddik Ben Yahia Jijel.
- ✚ **Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L. et Nouri, N.** (2018). Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien) Laboratoire d'écologie fonctionnelle et évolutive, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf. Algérie, Université, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 23p.
- ✚ **Leach, M.J.** (2008). *Calendula officinalis* and wound healing: a systematic review. Wounds a compendium of clinical research and practice, V (20), pp. 236-243.
- ✚ **Leilei, Z., Gokhan, Z., Mahomoodally, M.F., Evren, Y., Sharmeen, J., Jesus S-G., Roupheal, Y., Pannico, A et Luigi, L.** (2022). Untargeted Phenolic Profiling and Functional Insights of the Aerial Parts and Bulbs of *Drimyamaritima (L.)* Stearn. MDPI, pp. 6.
- ✚ **Limonier, N.** (2018). La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie, Sciences pharmaceutiques. dumas-01840619 (Haute Autorité de Santé), Réévaluation du service médical rendu du Cardiacalm
- ✚ **Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F et Jiang, Y.** (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Foodchem. 102: 771-776.
- ✚ **Louw, P.G.J.** (1952). Transvaalin, a cardiac glycoside isolated from *Urginea burkei*, BKR. (Transvaal slangkop). Onderstepoort J. Vet. Res. 25, 123–131.

M

- ✚ **Macheix, J.J.** (2013). Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle University of Stellenbosch, Laboratoire de Biotechnologie et Physiologie végétales appliquées, EA 728, Université Montpellier, place E. Bataillon, F-34095 Montpellier Cedex 5.
- ✚ **Mahato, D. et Sharma, H.P.** (2019) .Phytochemical profiling and antioxidant activity of *Leea macrophylla Roxb.* Ex Hornem.-in vitro study.
- ✚ **Makkar, H.P.S.** (2000)."In Quantification of tannins in tree foliage" Working document, FAO/IAEA, Vienna.
- ✚ **Mammadov, R., Makasçı., Afacan, A., Uysal., Demir, D. et Görk, Ç.** (2010). Determination of Antioxidant Activities of Different *Urginea maritima (L.) Baker* Plant Extracts. Vol. 29, No. 3.
- ✚ **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. et Jiménez, L.** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition, 79 (5): 727-747 Mechanism and properties. Eur. Journal of Biochemistry, 268: 1953-1963.medicinal plants: Extraction, assessment and resources, «International journal ».
- ✚ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. et Kefalas, P.** (2005).Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); Food Chemistry.89: 411-420.
- ✚ **Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. et Fritsch, P.** (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. M/S : médecine sciences, 20(4), 458–463.
- ✚ **Markham, KR.** (1982).Techniques of flavonoids identification. Ed. Academic Press, London. 15:234-243.
- ✚ **Marie-Jo Menozzi, Audrey Marco, Sébastien Léonard.** (2011). Plante et Cité, Les plantes spontanées en ville Revue bibliographique p 3.
- ✚ **Markowicz Bastos, D.H., Saldanha, L.A., Catharino, R.R., Sawaya, A.C.H.F., Cunha, IB S., Carvalho, P.O. et Eberlin, M.N.** (2007). Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. Molecules. 12:423-432.
- ✚ **Máriássyová Magada.** (2006).Antioxidant activity of someherbal extracts in

- rapeseed and sunflower oils. *Journal of Food and Nutrition Research*. V (45), pp. 104-109.
- ✚ **Matés, J., Perez-Gomez, C. et Nunez Castro, I.** (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry Journal*, Vol 32, pp. 595-603.
 - ✚ **Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Xu, D.-P. et Li, Y.** (2017). "Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources," *International journal of molecular sciences*, vol. 18, p. 96.
 - ✚ **Merghem, R.** (2009). livre des éléments de biochimie végétale p23-98-107-111-112-113- 115-11.
 - ✚ **Miguel, M., Barros, L., Pereira, C., Calhella, R.C., Garcia, P.A., Castro, M.Á., Santos-Buelga, C. et Ferreira, I.C.F.R.** (2016) Chemical characterization and bioactive properties of two aromatic plants: *Calendula officinalis L.* (flowers) and *Mentha cervina L.* (leaves). *Food Funct.*, 7, 2223–2232.
 - ✚ **Milcent, R.** (2003). Chimie organique hétérocyclique: structures fondamentales, chimie et biochimie des principaux composés naturels: L'Editeur: EDP Sciences.
 - ✚ **Molyneux, Philip.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin J. Sci. Technol., 26(2): 211-219.
 - ✚ **Mueller-Harvey, I., Bee, G., Dohme-Meier, F., Hoste, H., Karonen, M., Kölliker, R., Lüscher, A., Niderkorn, V., Pellikaan, W. F., Salminen, J. P., Sköt, L., Smith, L. M. J., Thamsborg, S. M., Totterdell, P., Wilkinson, I., Williams, A. R., Azuhwi, B. N., Baert, N., Grosse Brinkhaus, A., Copani, G., Desrues, O., Drake, C., Engström, M., Fryganas, C., Girard, M., Huyen, N. T., Kempf, K., Malisch, C., Mora-Ortiz, M., Quijada, J., Ramsay, A., Ropiak, H. M. et Waghorn, G. C.** (2018). Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to Ruminants: importance of structure, concentration and diet composition. Invited review. *Crop Science*, 59, 861-885. DOI : 10.2135/cropsci2017.06.03694.
 - ✚ **Muley, B.P., Khadabadi, S.S et Banarase, N.B.** (2009). Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Calendula officinalis Linn (Asteraceae)*: A Review. 8 (5): 455-465.

O

- ✚ **Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal*

of Nutrition and Dietetics, 44(6), 307-315p.

- ✚ **Ozsoy, N., Can A., Yanardag, R. et Akev, A.** (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. Food Chem. pp. 571-583.

P

- ✚ **Packer, L., Kraemer, K. et Rimbach, G.** (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. Nutrition. 17(10) : 888-895.
- ✚ **Panche, AN., Diwan, AD. et Chandra, SR.**(2016). Flavonoids: an overview. J Nutr Sci.5:1-15.
- ✚ **Pandurangamurthy, G., Mamtharani, DR., Tejas, TS. et Nirnjan, M.** (2011). Phytochemical analysis, in vitro, antibacterial and antioxidant activities of wild onions. International journal of pharma and bioscience, 2: 230-237.
- ✚ **Paolini, J., Barboni, T., Desjobert, J.M., Djabou, N., Muselli, A. et Costa, J.** (2010). Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. Biochemical Systematics and Ecology. pp. 865–874.
- ✚ **Park, H.J. et Cha, H. C.** (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. Korean journal of biological society. 7: 327-330.
- ✚ **Paul, I.** (2003). "Encyc/opedie des plantes medicinales", 2nd Edition Larousse, Paris.
- ✚ **Peronny, S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat. Muséum national d'histoire naturelle, France. 151p.
- ✚ **Pincemail, J. et Defraigne, J.-O.** (2003). "Le Coenzyme Q10 ou ubiquinone: un antioxydant particulier," Vaisseaux, Cœur, Poumons, vol. 8, pp. 55-60.
- ✚ **Preethi, K.C., Kuttan, G. et Kuttan, R.** (2006). Antioxidant potential of an extract of *Calendula officinalis* flowers in vitro and in vivo. Pharmaceutical Biology. V(44), pp.691–697.

Q

- ✚ **Quézel, P. et Santa, S.** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. CNRS, Paris, 603p.

R

- ✚ **Rezzagui, A., Senator, A.E., Benbrinis, S et Bouriche, H.** (2020). Free Radical Scavenging Activity, Reducing Power and Anti-Hemolytic Capacity of Algerian *Drimia maritima* Baker Flower Extracts. 10(4):70-78. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, pp. 72-73
- ✚ **Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L. et Had-Aissouni, L.** (2005). Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations? Consequences for neuronal viability. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24, 502–509.
- ✚ **Rigane, G., Ben Younes, S., Ghazghazi, H. et Ben Salem, R.** (2013). Investigation in to the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis L.* growing in Tunisia. International Food Research Journal, V6, pp. 3001-3007.
- ✚ **Rocha-Guzman, N-E., Herzog, A., Gonzalez-Laredo, R-F., Ibarra-Perez, F-J., Zambrano Galvan, G. et Gallegos-Infante, J-A.** (2007). Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*). Food Chemistry. 103 : 521–527.
- ✚ **Romanet, R.M.** (2019). Contribution à l'étude moléculaire de la stabilité oxydative des vins blancs de Bourgogne. Université Bourgogne Franche-Comté.
- ✚ **Royer, M.** (2013). Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bio agresseurs, Université de Lorraine Laboratoire Agronomie et Environnement Nancy Colmar, 11-30p.
- ✚ **Ruch, R.J., Cheng, S.J. et Klaunig, J.E** (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis 10(6): 1003–8.

S

- ✚ **Samai, Z., Toudert, N., Djilani, S.E., Dadda, N., Zakkad, F. et Hamel, T.** (2022). Chemical Composition and in Vitro Antioxidant, Anti-Alzheimer, Anti- Diabetic, Anti-Tyrosinase, and Antimicrobial Properties of Essential Oils and Extracts Derived from Various Parts of the Algerian *Calendula Suffruticosa Vahl subsp. Boissieri Lanza* . Chemistry and Biodiversity.
- ✚ **Scarim, C. B., Jornada, D. H., Machado, M. G. M., Ferreira, C. M. R., Santos, J. L. et Chung, M. C.** (2019). "Thiazole, thio and semicarbazone derivatives against

- tropical infective diseases: Chagas disease, human African trypanosomiasis (HAT), leishmaniasis, and malaria," *European journal of medicinal chemistry*, vol. 162, pp. 378-395.
- ✚ **Schofield, P., Mbugua, D.M. et Pell, A.N.** (2001). "*Analysis of condensed tannins*" a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* Vol. (91), page : 21.
 - ✚ **Sebai, M et Boudali, M.** (2012). *La Phytothérapie entre la confiance et méfiance*. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical, Alger.p 9.
 - ✚ **Shaheen, S., Mushtaq, A., Haroon, N., Khan, F., Hussain, A., Zafar, M., Ramzan, S., Rabail, A. et Khalid, K.** (2012). Systematic and ethnopharmacognostic investigation of selected medicinal plants of family Asteraceae. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. V (6), pp. 3184-3194.
 - ✚ **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N.V., Zucca, P., Varoni, E. M, Dini L, Panzarini, E, et Sharifi-Rad, J.** (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
 - ✚ **Smati, D., Longeon, A et Guyot, M.** (2004). " 3β -(3, 4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 95, pp. 405-407.
 - ✚ **Sofiane, I., Seridi, R., Cortes, M.D.M. et Cabedo, N.** (2018). Phytochemical Composition and Evaluation of the Antioxidant Activity of the Ethanolic Extract of *Calendula suffruticosa subsp. Suffruticosa Vahl*. *A Multifaceted Journal in the field of Natural Products and Pharmacognosy*. 10(1):64-70.
 - ✚ **Sofiane I.** (2018). Propriétés phytochimiques et pharmacologiques de deux Plantes Médicinales du Nord-est d'Algérie : *Calendula suffruticosa subsp suffruticosa Vahl*. Et *Fumariacapreolata*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.,pp. 70-72-119.
 - ✚ **Stamler, J-S et Slivka, A.** (1996). Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutrition Reviews*, 54 (1), 1 – 30.
 - ✚ **Sun, B., Richardo-da-Silvia, JM. et Spranger, I.** (1998). "*Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins*" *J. of Agriculture and Food Chemistry* Vol. (46), p: 4267.

T

- ✚ **Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. et Polissiou, M.** (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa Miller* (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.
- ✚ **Thormar, H.** (2011). Lipids and essential oils as antimicrobial agents.
- ✚ **Torres, R.** (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*; *Phytochemistry*.67: 984-987.
- ✚ **Toussaint, J-F., Jacob, P., Lagrost, L. et Chapman, J.** (2003). L'athérosclérose physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques. Edition Masson. P : 776
- ✚ **Trease, GE et Evans, IC.** (1983).Text book of pharmacognosy. 12th edn. London: Bailliere Tindall. P: 21–2.
- ✚ **Tsimogiannis, O.V.** (2006).Characterization of flavonoid subgroups and hydroxy substitution by HPLC -MS/MS. *Molecules*. 12: 593-606.
- ✚ **Tutin, T et Heywood, H.** (1976). *Flora Europaea: Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*.Cambridge University Press.p 534.

W

- ✚ **Wagh, S.S., Jain, S.K., Patil, A.V. et Vadhre, G.P.** (2012). In vitro free radical scavenging and antioxidant activity of *Cicer arietinum L.* (Fabaceae), *Int. J. Pharm Tech. Res.*, 4 (1) pp. 343-350.