

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة محمد بوضياف/المسيلة
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE
MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE
FILIERE:SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION:BIOCHIMIE APPLIQUEE

Présenté par

Bey Chaima
Ghersallah Merzaka

Thème :

**Evaluation de l'activité antioxdante *in vitro* des
extraits de la plante *Inula viscosa* L.**

DEVANT LE JURY :

M^r. HARRAR Abde El Nacer

Présidente

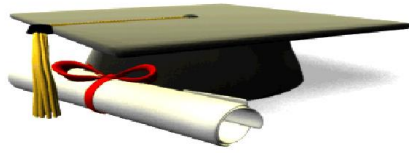
M^r. BENSLAMA Abde Rahim

Rapporteur

M^r. EKHERBACHE Abdallah

Examineur

Promotion : 2019-2020



Remerciements

*Au terme de ce travail, nos remerciement le dieu de nous avoir donné le courage et
la patience pour le réaliser et finir*

*Nos remerciements du profond de cœur notre encadreur M^r BENSLAMA Abde
Rahim enseignant à l'université de M'sila, Faculté des sciences, Département de
microbiologie et biochimie, à sa disponibilité, son aide, son encouragement et ses
conseils scientifiques qui on contribué à la réalisation de ce mémoire*

Un merci spécial à M^{me} AOUINA Nabila et M^{lle} BAALI Faiza

*Nous s'adressons Nos remerciements à tous l'équipe pédagogique de département
de microbiologie et Biochimie-faculté des sciences*

*Mes vifs remerciements vont aux membres de jury pour avoir accepté de juger ce
mémoire :*

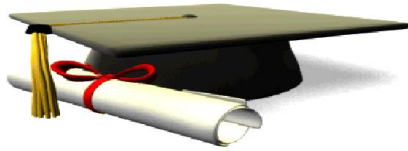
M^r. HARRAR Abde El Nacer

M^r. EKHERBACHE Abdallah

*Nos remerciements à tous ceux qui nous ont aidée et encouragée de près ou de loin
à la réalisation de ce travail*

Chaima et Merzaka





Dédicace

Je dédie ce travail

*À ma famille, Particulièrement à mon cher père Bey Salah qui m'a doté d'une
éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui:*

À mes très chères sœurs : Samira, Nossayba

*À tous ceux qui m'ont appris, pris ma main et m'ont illuminé le chemin de la
connaissance et du succès*

À toute la promotion Biochimie appliquée : 2019/2020

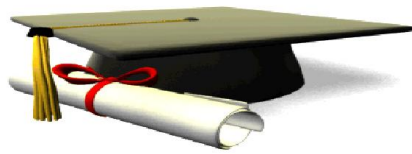
*À mon binôme Ghersallah Merzaka qui est partagée avec moi les moments difficiles
pour réaliser ce travail*

À mes chères et adorables amies de toujours :

Khawla, Samra, Asala, Chahira, Nour

Chaima





Dédicace

Je dédie mon travail accompagné d'un profond amour

À la lumière de ma vie, mes très chers parents

*À mes adorables sœurs Souad et Warda et à mon frère Zakaria, qui n'ont pas cessé
de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études que dieu les
protège et leurs offre la chance et le bonheur*

À mes amies et mes camarades

*À mon binôme Chaima pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension
tout au long de ce travail*

À tous mes proches

Merzaka



Liste des figures

Figure 1 : Caractéristiques morphologiques de la plante <i>I. viscosa</i>	3
Figure 2 : Origine endogène et exogène des radicaux libres dérivés de l'oxygène.....	9
Figure 3 : Différentes cibles des espèces Réactives de l'oxygène.	11
Figure 4 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.	13
Figure 5 : La structure chimique et mécanisme d'action des vitamines E	14
Figure 6 : La structure chimique et mécanisme d'action des vitamines C	15
Figure 7 : Structure de l'acide hydroxycinnamique	17
Figure 8 : Structure les acides hydroxybenzoïques.....	17
Figure 9 : Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	18
Figure 10 : Structure Tanins hydrolysables.....	20
Figure 11 : Structure les tanins condensés.	20
Figure 12 : Propriétés biologiques des polyphenols.....	21
Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique	26
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	27
Figure 15 : Valeurs des IC50 des extraits de <i>I. viscosa</i> et d'EDTA	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes de flavonoïdes.....	18
Tableau 2 : Rendement, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes de l'EAq et Mth d' <i>I. viscosa</i>	28

Liste des abréviations

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

CAT : Catalase.

EDTA : Ethylènediaminotétraacétique.

ERN : Espèces réactives de l'azote.

ERO : Espèces réactives oxygénées.

GPx : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxyde.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HO• : Radical hydroperoxyde.

L• : Radical alkyle.

LH : Acide gras polyinsaturés.

LOO• : Radical peroxyde.

LOOH : Hydroxyperoxyde lipidique.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NO• : Monoxyde d'azote.

NOS : NO synthases.

O₂^{•-} : Anion superoxyde.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

ROO• : Radicaux libres peroxydes.

SOD : Superoxyde Dismutase.

Résumé

Inula viscosa L. est une plante méditerranéenne qui appartient à la famille des Astéracées et largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour ses vertus curative et ses propriétés biologiques attribuées essentiellement aux polyphénols. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et de déterminer la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits de la partie aérienne de *I. viscosa* L. La partie aérienne de cette plante a été soumise à une extraction par deux méthodes l'une la macération dans le méthanol 70% (EMth) et l'autre la décoction dans l'eau distillée (EAq). Les rendements d'extraction sont d'ordre de 9,6% et 16,4% pour l'EMth et l'EAq respectivement. Le dosage quantitative des polyphénols totaux a été évalué par la méthode colorimétrique de Folin–Ciocalteu et la teneur en polyphénols totaux de l'EAq et L'EMth sont respectivement 29,0728µg EAG/mgE et 47,255µg EAG/mgE. La teneur en flavonoïde a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium, L'EAq contient un teneur 1,709µg EQ/mgE et l'EMth 7,019µg EQ/mgE. L'activité antioxydante a été évaluée par le test de chélation de fer, l'EAq et l'EMth ont montré une activité chélatrice avec une EC50 d'ordre de 51,12µg/ml et 35,06µg/ml respectivement, ces activités chélatrice demeurent inférieure à celle du chélateur standard EDTA avec EC50% (6,05µg/ml).

Les mots clés : activité antioxydante, *Inula viscosa* (L), polyphénols, flavonoïdes.

ملخص

هو نبات متوسطي ينتمي إلى عائلة asteraceae ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر لخصائصه العلاجية وخصائصه البيولوجية المنسوبة أساساً إلى مادة البوليفينول. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة وتحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد من مستخلصات الجزء الجوي من نبات *I. viscosa* L. تعرض الجزء الجوي من هذا النبات للاستخلاص بعمليتين إحداهما النقع في 70٪ ميثانول (EMth) والأخرى مغلي في الماء المقطر (EAq). تبلغ عائدات الاستخراج حوالي 9.6٪ و 16.4٪ لكل من EMth و EAq على التوالي.. تم تقييم التحديد الكمي لمجموع البوليفينول بواسطة طريقة القياس اللوني لـ Folin - Ciocalteu حيث يكون محتوى البوليفينول الكلي لـ المائي و الميثانولي على التوالي 29.0728 ميكروغرام مكافئ حمض جاليك/ملغ مادة طازجة و 47.255 ميكروغرام مكافئ حمض جاليك/ملغ مادة طازجة. كما تم تحديد محتوى الفلافونويد بواسطة طريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم ، يحتوي EAq على 1.709 ميكروغرام مكافئ كرسيتين / ملغم مادة طازجة و EMth 7.019 ميكروغرام مكافئ كرسيتين/ ملغم مادة طازجة. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار استخلاص الحديد ، حيث ان EMth و EAq أظهرت نشاط مخلب مع EC50 بترتيب 51.12 ميكروغرام / مل و 35.06 ميكروغرام / مل على التوالي هذه الأنشطة المخلبية تبقى أقل من مخلب EDTA القياسي مع EC50% (6.05 ميكروغرام / مل).

الكلمات الرئيسية: نشاط مضادات الأكسدة *Inula viscosa* (L), البوليفينول, الفلافونويد.

Summary

Inula viscosa L. is an Algerian medicinal plant which belongs to the Asteraceae family, and widely used in traditional medicine for the treatment of several diseases. The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity and to determine the content of polyphenols and flavonoids of extracts of *I. viscosa* L. The aerial part of the plant was subjected to extraction by two processes, one the maceration in methanol and distilled water to give the aqueous extract (EAq) and methanolic extract (EMth). The extraction yields are of order 9,6% and 16.4% respectively. the quantitative determination of total polyphenols was evaluated by the colorimetric method of Folin – Ciocalteu where the polyphenol contents of EAq and Mth are 29.0728 μ g EAG / mgE and 47.255 μ g EAG / mgE respectively The flavonoid content was determined by the aluminum trichloride method, EAq contains 1,709 μ g EQ / mgE and EMth 7,019 μ g EQ / mgE. The antioxidant activity was evaluated by the iron chelation test, EAq and EMth showed chelating activity with EC50% of the order of 51,12 μ g / ml and 35,06 μ g / ml respectively, these chelating activities remain inferior to that of the standard EDTA chelator with EC50% (6,05 μ g / ml).

key words: antioxidant activity, *Inula viscosa*, polyphenols, flavonoids.

Sommaire

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

Partie bibliographie

Chapitre I: la plante médicinale *Inula viscosa* L.

1. La plante médicinale <i>I. viscosa</i> L	2
2. Taxonomie	2
3. Caractéristiques morphologiques	2
4. Composition chimique d' <i>I. viscosa</i> (L)	3
5. La répartition géographique de la plante <i>I. viscosa</i>	3
6. L'utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutique	4

Chapitre II: le stress oxydatif et antioxydants

I. Stress oxydatif	5
1. Les radicaux libres	5
2. Nature des radicaux libres	5
2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	5
2.2. Les espèces réactives nitrogènes (ERN)	6
3. Principales sources des radicaux libre	7
3.1. Les radicaux libres endogènes	7
3.2. Les radicaux libres exogènes	8
4. Les cibles biologiques des radicaux libres	9
4.1. Les lipides	9
4.2. Les protéines	10
4.3. Les acides nucléiques	10
II. Les Antioxydants	12
1. Classification des antioxydants	12
1.1. Les antioxydants endogènes	12
1.1.1. Systèmes antioxydants enzymatiques	12
1.1.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques	13

1.2.	Les antioxydants exogènes	14
Chapitre III: les composés phénoliques		
1.	Les composés phénoliques	16
2.	Classification et structure des composés phénoliques	16
2.1.	Les acides phénoliques simples	16
2.2.	Flavonoïdes	17
2.3	Tannins	19
3.	Les propriétés biologiques des polyphenols	20
Partie Expérimentale		
Chapitre IV : Matériel et Méthodes		
1.	Matériels	23
1.1.	Matériel végétal	23
1.2.	Appareils et produits chimiques	23
2.	Méthodes	23
2.1.	Préparation des extraits	23
2.2.	Dosage des polyphénols totaux	24
2.3.	Dosage des flavonoïdes	24
3.	L'activité antioxydant par le test de chélation de fer	25
Chapitre V: Résultats et discussion		
1.	Le rendement d'extraction	26
2.	Teneur en polyphénols totaux des extraits d' <i>I.viscosa</i>	26
3.	Teneur en flavonoïdes	27
4.	L'activité antioxydante par le test de chélation de fer	28
	Conclusion	30
	Références bibliographiques	31

Introduction

Les plantes médicinales sont largement utilisées en médecine traditionnelle. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte des nouvelles molécules nécessaires au développement des futurs médicaments. Cette matière végétale avec leur nombre illimité représente une importante immense variété de substances naturelles, qui sont la base de leurs effets curatifs et leurs activités biologiques divers. Ces substances comprenant: les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes, les polyphénols, les coumarines et les saponines. Ces composés photochimiques ont des intérêts multiples mis à profit dans différents industries; alimentaire, cosmétologie et pharmacie (Meziou, 2016).

L'espèce *I. viscosa* L. est une plante appartient de la famille des Astéracées, elle est utilisée en médecine populaire dans le traitement des plusieurs maladies et ayant divers activités biologiques. Largement répondeur dans la région méditerranéennes (Chahmi *et al.*, 2015).

L'utilisation des antioxydants de synthèse est actuellement remise en cause, en raison des risques toxicologie potentiels de ces molécules, les changements socio-économique et culturels des consommateurs et des industriels au cours de temps. Cela a bouleversé le milieu scientifique et l'a poussé à l'investiguer dans la recherche des nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels qui intervenant la neutralisation des Espèces réactives oxygénées(ERO) et les endommagement cellulaire qui sont induire (El-Haci *et al.*, 2012).

Les objectifs de la présente étude sont:

- La préparation de l'extrait méthanolique et aqueux de la partie aérienne de la plante *I. viscosa* et la détermination de rendement d'extraction.
- Le dosage quantitatif des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'EAq et l'EMth de la plante *I. viscosa*.
- L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits de la plante *I. viscosa* par le test de chélation de fer ferreux.

1. La plante médicinale *I. viscosa* L

I. viscosa L. Aiton (syn: *Dittrichia viscosa* L greuter) c'est une plante médicinale utilisé en médecine traditionnelle en raison du ces multiples bienfaits thérapeutiques notamment dans la lutte contre les maladies. Elle est appartient d'une importante famille de plantes qui comprend un grand nombre d'espèces appelé: la famille des astéracées (composées), cette plante répondu en Algérie est connu sous le nom de magramen, amagramen ou mersitt .C'est une plante méditerranéenne endémique qui pousse dans des habitats perturbées (bords de route, bordures de champs et des jardins de rocaille) (Dor et Hershenhorn, 2012 ; Messaoudi *et al.*, 2016 ; Ozkan *et al.*,2019).

2. Taxonomie

La systématique de l'espèce *I. viscosa* L. Selon (Bock, 2015) est la suivante:

- **Règne** : Plantae
- **Sous règne** : Tracheobionta
- **Embranchement**: Spermatophyte
- **Sous embranchement**: Angiospermes
- **Classe**: Dicotylédones
- **Sous classe**: Astérides
- **Ordre**: Astérales
- **Famille** : Astéracées (compositae)
- **Genre**: *Inula*
- **Espèce** : *Inula viscosa* L.

3. Caractéristiques morphologiques

La plante médicinale *I.viscosa* c'est une plante annuelle, herbacée, glandulaire, frutescentes et visqueuse de croissance touffue peut atteindre 50cm à 1m de hauteur, cette plante est constitue des feuilles sont entières ou dentées, aigues, sinueuses avec un couleur verte on trouve les fruites sont des akènes velus, de 2mm de long. La tige amplexicaule plus largement. Les feuilles et les tiges sont recouvertes d'une résine collante sécrétée par les poils glandulaires poussant à la surface des feuilles ainsi que la plante possèdent de nombreuses capitale à fleurs jaunes au sommet de la tige et caractérise par une odeur forte et ligneuse à la base (Figure 1) (Meziou, 2016; Salim et Rimawi, 2017).

**A. La Feuille****B. La Fleure****C. La partie aérienne****Figure 1** : Caractéristiques morphologiques de la plante *I. viscosa*

4. Composition chimique d'*I. viscosa* (L)

Des divers études réalisé montre que la plante médicinale *I. viscosa* est la principale source de nombreux composés biologiquement actifs qui ayant un grand intérêt comme; les polyphénolotale, flavonoïde et tanin condensé, acide caféylquinique, les triterpénoides, acides sesquiterpinique, lactone, alcaloïdes, terpènes. Aussi caractérise par la biosynthèse des molécules odorantes c'est l'huile essentiel (Dor et Hershenhorm, 2012; haoui *et al.*, 2016; Rhimi *et al.*, 2017).

5. La répartition géographique de la plante *I. viscosa*

Dans le monde

La plante *I. viscosa* (L). est largement répandue dans tout le monde dans la région de sud de l'italier, Palestine, Jordanie et en Maroc, en Egypte, en plus la région

de sud d'Espagne et Turquie et toute la région méditerranéen (Fontana *et al.*, 2007 ; Salim et Rimawi, 2017).

En Algérie

La plante *I. viscosa* est largement réponde dans le nordé et se trouver aussi dans divers région, dans les rocailles et les terrains argileux que sableux (Meziou, 2016)

6. L'utilisation traditionnelle et propriétés pharmaceutique

La plante médicinale *I. viscosa* est actuellement utilisée par la médecine traditionnelle dans déférents remède grâce à sa composition par des substances bioactive et ses effets thérapeutique qui étaient faites a partir des travaux antérieur réaliser. Permet de traiter le diabète de l'inflammation, la tuberculose, l'anémie, les inflammations cutanées, et les trouble gastroduodénaux. Aussi entrainer dans le traitement des maladies de la peau, les plaies, les troubles pulmonaires, les douleurs rhumatismales, le cancer, la bronchite, l'hypertension, et l'infertilité *I. viscose* à été largement utilisé à des fins thérapeutique en médecine populaire comme: anti-gale, anti-inflammatoire, antipyrétique, antiseptique, et antiphlogistique, antianémique et aussi présente des propriétés antifongique, antioxydant, antiulcérogène l'utilisation de la plante reste très vaste en phytothérapie (Talib *et al.*, 2012 ; Chalmi *et al.*, 2015 ; Ozkan *et al.*,2019).

I. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les ERO en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les antioxydants. Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels. La synthèse d'ERO dans notre organisme est augmentée considérablement à cause des comportements quotidiens et aussi l'alimentation inappropriée, tout cela mène à un risque accru de l'apparition de diverses pathologies comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, œdème pulmonaire et le cancer. Donc il est nécessaire de disposer d'un système permettant de mettre correctement en évidence le statut de stress oxydatif d'un individu afin d'optimiser nos défenses antioxydantes et de diminuer les dommages oxydatifs des macromolécules (Kumar et Pandey, 2015).

1. Les radicaux libres

Un radical libre peut être défini comme n'importe quelle espèce moléculaire capable d'exister indépendamment qui contient un électron non apparié dans une orbite atomique. La présence d'un électron non apparié entraîne certaines propriétés communes qui sont partagées par la plupart des radicaux. De nombreux radicaux sont instables et très réactifs. Ils peuvent soit donner un électron à ou accepter un électron provenant d'autres molécules, se comportant donc comme des oxydants ou des réducteurs (Khan *et al.*, 2018).

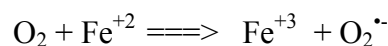
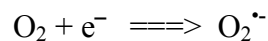
2. Nature des radicaux libres

2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

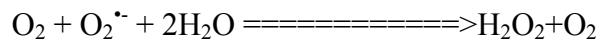
Le terme ERO réfère aux espèces oxygénées qu'elles soient radicalaires tels l'anion superoxyde et le radical hydroxyle ou non radicalaires tel l'oxygène singlet, le peroxyde d'hydrogène.

2.1.1. Anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

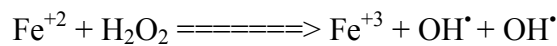
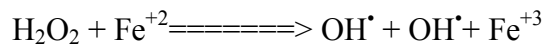
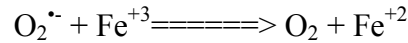
Le radical anion superoxyde est le ERO le plus répandu formé par le processus enzymatique, la réaction d'auto-oxydation et par des réactions de transfert d'électrons non enzymatiques dans lesquelles un électron est transféré en oxygène moléculaire. Il est principalement produit dans les mitochondries et sa réactivité avec les biomolécules est faible (Phaniendra *et al.*, 2014).



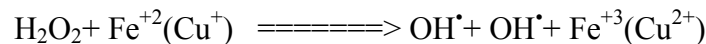
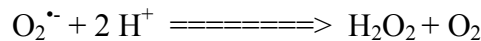
Cu Zn Mn _SOD

**2.1.2. Le radical hydroxyle (OH[•])**

Le radical hydroxyle est la forme neutre de l'ion hydroxyde et est un radical libre hautement réactif. OH[•] est produit par deux réactions biochimiques majeures appelées réaction de Haber-Weiss et réaction de Fenton (Obeagu, 2018).

**2.1.3. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)**

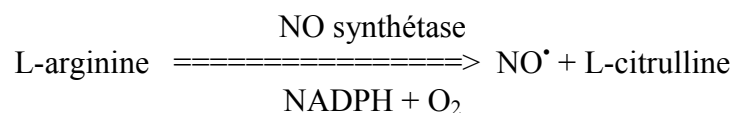
Le peroxyde d'hydrogène est formé *in vivo* dans une réaction de dismutation catalysée par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD). Ce n'est pas un radical libre mais il peut endommager la cellule à une concentration relativement faible. H₂O₂ n'a pas d'effet direct sur l'ADN mais peut endommager l'ADN en produisant un radical hydroxyle (OH[•]) en présence d'ions de métaux de transition (Phaniendra *et al.*, 2014).

**2.1.4. Oxygène singlet (¹O₂)**

L'oxygène singlet n'est pas un radical libre mais il peut se former dans certaines réactions radicalaires et en déclencher d'autres. Cela provient des molécules de peroxyde d'hydrogène. L'oxygène singlet lors de la décomposition génère des radicaux superoxyde et hydroxyle (Kumar, 2011).

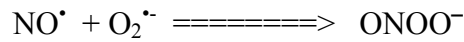
2.2. Les espèces réactives nitrogènes (ERN)**2.2.1. Le radical oxyde nitrique (NO[•])**

Il s'agit d'une petite molécule générée dans les tissus par différentes synthèses d'oxyde nitrique (NOS) qui convertissent la L-arginine en L-citrulline (Habib et Ali, 2011).

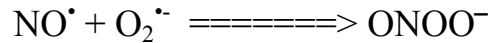


2.2.2. L'anion peroxynitrite (ONOO⁻)

L'anion peroxynitrite (ONOO⁻) est un radical qui formé selon la réaction :



Et par conséquence le OONO⁻ forme réagit avec le CO₂ ce qui entrainer la formation de radicaux CO₃^{•-} et NO₂^{•-} qui oxydent et nitrate les protéines (Velayutham *et al.*, 2011).



3. Principales sources des radicaux libre

Il existe essentiellement deux sources d'ERO auxquelles l'organisme sont exposés, endogène et exogène qui sont induit des grands dommages (Figure 2).

3.1. Les radicaux libres endogènes

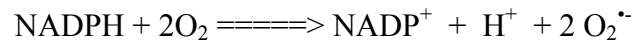
Dans les cellules, Les ERO sont normalement générés par des enzymes étroitement régulées (Figure2).

3.1.1. Source mitochondriale

Les mitochondries sont la source la plus vitale de production d'ERO. Au cours du processus physiologique de génération d'ATP via la chaîne respiratoire, l'oxygène moléculaire est réduit à deux molécules d'eau. Cependant, pendant la transduction d'énergie, certains électrons «fuient» prématurément, ce qui nécessite la conversion incomplète d'environ 1 à 2% de l'oxygène moléculaire en radical anion superoxyde qui est produit dans les divers sites de mitochondrie par l'intervention de l'enzyme de NADH déshydrogénase du complexe I et du site ubisemiquinone du complexe III (coenzyme Q). La réactivité chimique des radicaux superoxydes est relativement faible en raison de son incapacité à traverser la membrane lipidique et de sa conversion rapide en peroxyde d'hydrogène par le superoxyde dismutase (SOD) antioxydante. Néanmoins, le H₂O₂ produit peut conduire à la génération d'une molécule plus chimiquement réactive le radical hydroxyle par réaction de H₂O₂ avec le fer dans la réaction de Fenton (Phaniendra *et al.*, 2014; Obeagu, 2018).

3.1.2. Le NADPH oxydase

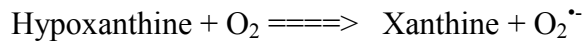
Le NADPH oxydase est la source prédominante de l'anion superoxyde (O₂^{•-}) qui est formé par la réduction à un électron de l'oxygène moléculaire, avec des électrons fournis par le NADPH, pendant la respiration cellulaire (Liguori *et al.*, 2018).



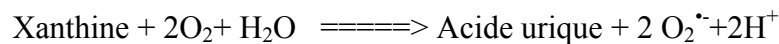
3.1.3. La xanthine oxydase

La xanthine oxydase est une molybdo-enzyme, oxydoréductase entraîne dans la catalyse d'oxydation de deux réactions

- la première réaction concerne: l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine au cours du métabolisme des purines :



- Dans la deuxième réaction; l'oxydation de xanthine en acide urique



Dans les deux réaction l'oxygène moléculaire joue un d'accepteur d'électrons qui produisant l'anion superoxyde (Snezhkina *et al.*, 2019).

3.2. Les radicaux libres exogènes

Les ERO exogène appartient de plusieurs facteurs environnementaux comme. La pollution atmosphérique gazeuse , la fumée de cigarette et des gaz oxydants tels que l'ozone, le dioxyde d'azote et le dioxyde de soufre et aussi l'augmentation de la consommation de l'oxygène durant l'effort physique entraîne une formation accrue d'ERO au niveau des mitochondries des cellules musculaires, l'exposition au rayonnement UV et les radiations ionisantes (Figure 2) (Pincemail *et al.*, 2001).

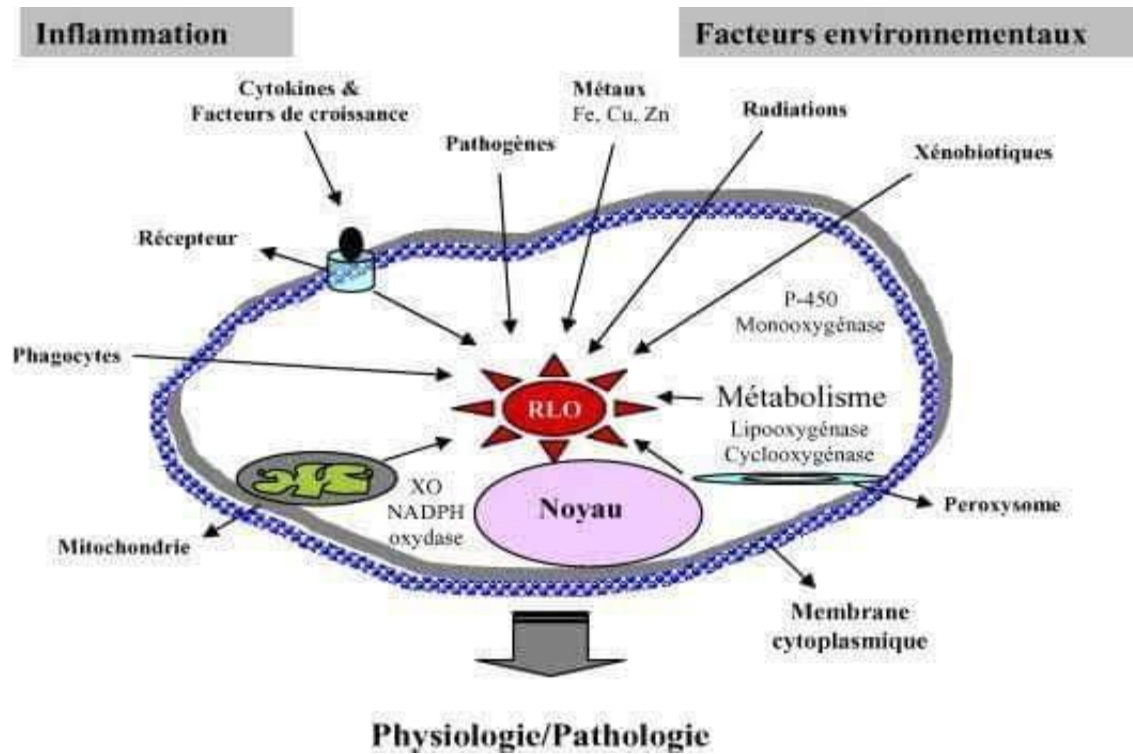


Figure 2 : Origine endogène et exogène des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.*, 2007)

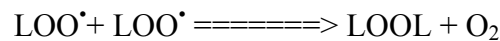
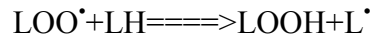
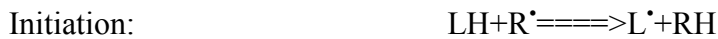
4. Les cibles biologiques des radicaux libres

La superproduction des radicaux libres, induit des grands lésions des principaux composés biologiques de l'organisme (les lipides, les protéines, l'ADN). Et par conséquence, l'altération des fonctions cellulaires et même entrainer la mort des cellules ou de tissus. Ce qui conduire à l'apparition des diverses pathologie (Figure 3).

4.1. Les lipides

Toutes les membranes cellulaires sont généralement vulnérables aux dommages oxydatifs car elles sont très riches en acides gras insaturés. Les dommages lipidiques dus aux ERO, généralement connus sous le nom de peroxydation lipidique, se produisent en trois étapes. La première étape, connue sous le nom d'initiation, implique l'attaque d'un métabolite réactif de l'oxygène capable d'extraire un atome d'hydrogène d'un groupe méthylène dans le lipide en raison de la présence d'une double liaison faible. En tant que tel, le radical acide gras restant conserve un électron et se stabilise par réarrangement de la structure moléculaire. Au stade de la propagation, le radical acide gras réagit avec l'oxygène pour former ROO^\bullet . Le ROO^\bullet est capable d'extraire un autre atome d'hydrogène d'une molécule d'acide gras voisine, ce qui conduit à nouveau à la production de radicaux d'acide gras. Ces réactions de propagation se produisent de manière répétée conduisant à la peroxydation de plusieurs lipides insaturés dans la membrane. La dernière étape qui est la

terminaison de chaîne survient suite à l'interaction d'une ROO[•] avec un autre radical (Engwa, 2012 ; Qazi et Molvi, 2018).



4.2. Les protéines

Les ERO oxydent différents acides aminés présents dans les protéines, provoquant la formation de liaisons croisées protéine-protéine, entraînant la dénaturation et la perte de fonctionnement des protéines, la perte d'activité enzymatique, la perte de fonction des récepteurs et des protéines de transport. Les acides aminés contenant du soufre tels que la méthionine et la cystéine sont plus sensibles à l'oxydation par les ERO et sont convertis respectivement en disulfures et en sulfoxyde de méthionine. Cependant, dans les systèmes biologiques, seules ces deux formes oxydées de protéines peuvent être reconverties à leur forme native par deux enzymes différentes, à savoir les disulfure réductases et la méthionine sulfoxyde réductases respectivement (Phaniendra *et al.*, 2014).

4.3. Les acides nucléiques

Bien que l'ADN soit une molécule stable, le ERO peut interagir avec lui pour provoquer plusieurs types de dommages, notamment des cassures d'ADN double et simple brin, la modification des bases d'ADN, la réticulation ADN-protéine, des dommages à la sucre désoxyribose et les dommages au système de réparation de l'ADN. Le radical hydroxyle est l'ERO le plus nocif qui affecte les acides nucléiques. Par exemple, l'OH[•] peut attaquer la guanine et l'adénine pour donner un produit d'oxydation, respectivement la 8-hydroxydeoxyguanosine et l'hydroxyadénine. De plus, les radicaux hydroxyles peuvent attaquer les pyrimidines conduisant à la formation de peroxyde de thymine, de thymine glycols et d'autres produits similaires. Les ERO tels que O₂^{-•} et H₂O₂ n'ont pas d'interaction directe avec l'ADN et n'entraînent donc pas des dommages à leurs concentrations physiologiques. Les métaux de transition tels que le fer qui ont une forte affinité de liaison avec les sites d'ADN peuvent catalyser la production d'OH[•] qui à son tour attaque l'ADN (Sharma *et al.*, 2012 ; Khan *et al.*, 2018).

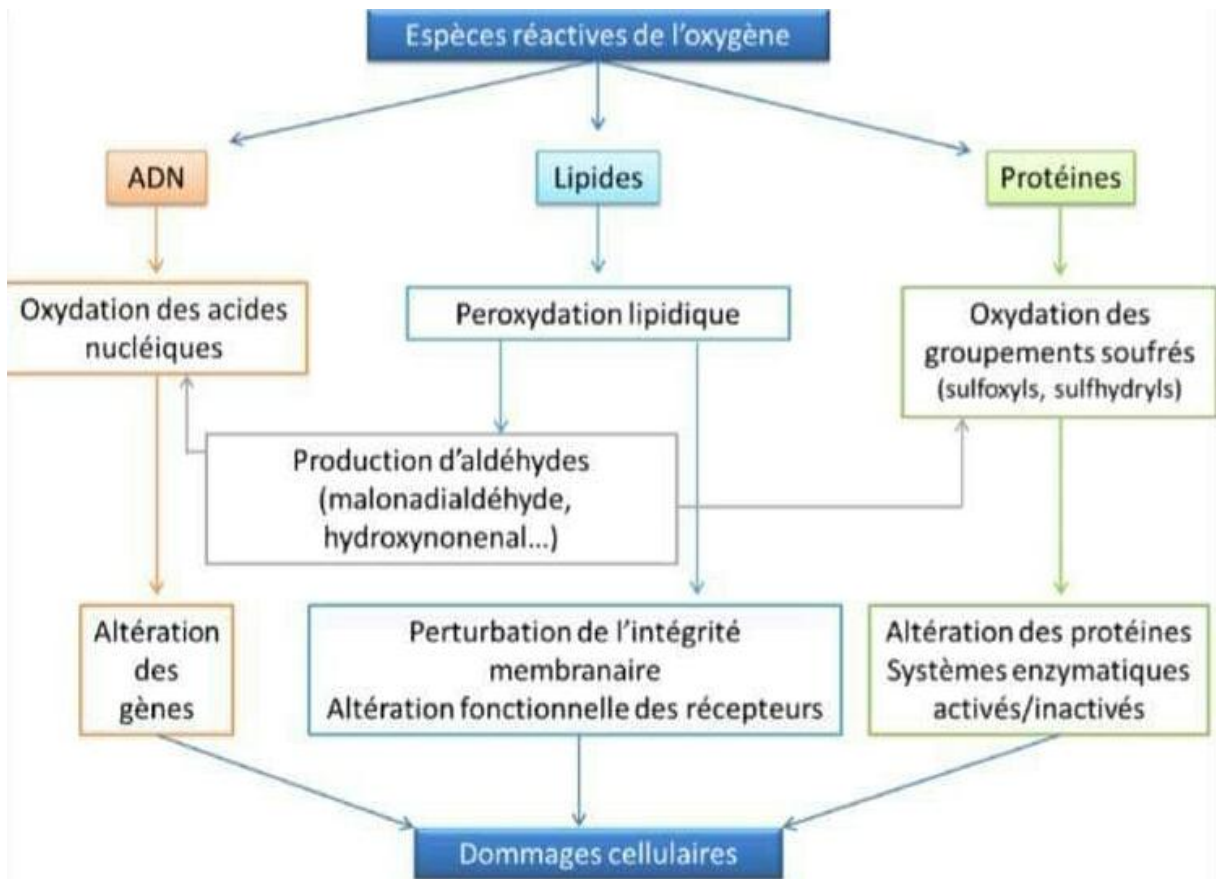


Figure 3: Différentes cibles des espèces Réactives de l'oxygène (Poisson, 2013).

II. Les Antioxydants

Antioxydant signifie "contre l'oxydation". Toute substance à de faibles concentrations par rapport à celle d'un substrat oxydable qui retarde ou empêche de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant. Les antioxydants jouent un rôle essentiel dans la préservation de la qualité des aliments et le maintien de la santé de l'être humain (Sarma *et al.*, 2010).

1. Classification des antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défense très efficaces contre la surproduction des ERO. Ces systèmes peuvent être endogènes ou exogènes.

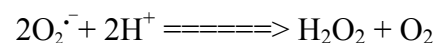
1.1. Les antioxydants endogènes

1.1.1. Systèmes antioxydants enzymatiques

La superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase sont Les trois principaux antioxydant enzymatique intracellulaire qui possèdent un capacité de neutralisation des ERO (Figure 4).

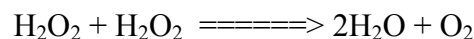
1.1.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Superoxyde dismutase sont une classe d'enzymes étroitement apparentées qui catalysent la dégradation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (Sun *et al.*, 2012).



1.1.1.2. Catalase

Il s'agit d'une enzyme antioxydant cytosolique qui protège les cellules contre les effets toxiques du H_2O_2 en catalysant sa décomposition en O_2 et H_2O (Beigi Harchegani *et al.*, 2018).



1.1.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase contient un seul résidu sélénocystéine dans chacune des quatre sous-unités identiques, ce qui est important pour l'activité enzymatique. Le GPx est une enzyme intracellulaire impérative qui catalyse H_2O_2 en eau et les peroxydes lipidiques en alcools correspondants principalement dans les mitochondries et parfois dans le cytosol (Tahmasbpour *et al.*, 2016).

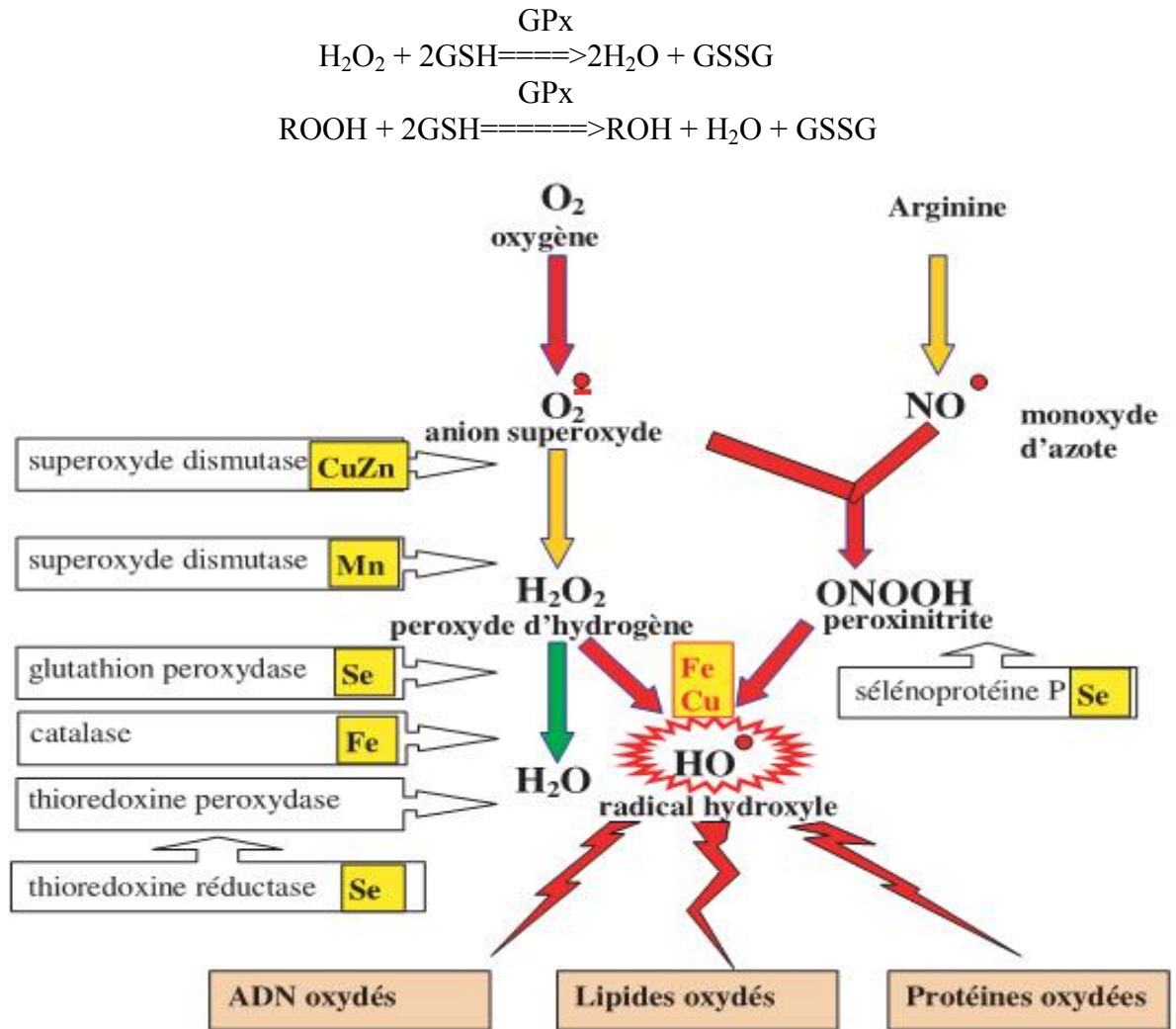


Figure 4 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

1.1.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

1.1.2.1. Glutathion

Le glutathion (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine; GSH) est un tripeptide et est l'antioxydant intracellulaire le plus abondant protégeant les cellules normales contre les dommages oxydatifs en raison de son rôle de substrat des enzymes de piégeage des ERO. Le glutathion est principalement présent sous sa forme réduite (GSH) dans des conditions normales, avec seulement une petite quantité à l'état complètement oxydé (GSSG) (Escribano *et al.*, 2015).

1.1.2.2. L'acide urique

L'acide urique est un antioxydant majeur dans le plasma et un produit enzymatique final dans la dégradation des nucléosides puriques et des bases libres chez l'homme qui

protège les cellules des dommages oxydatifs, contribuant ainsi à une augmentation de la durée de vie de notre espèce et à une diminution du risque de cancer. L'acide urique est un puissant piègeur d'oxygène singlet, des radicaux peroxydes et radicaux hydroxyles dans l'environnement hydrophile, mais perd sa capacité à piéger les radicaux lipophiles et ne peut pas rompre la propagation de la chaîne radicalaire dans les membranes lipidiques. En même temps, les radicaux peroxynitros sont extrêmement diffusibles à travers la membrane, et l'environnement hydrophobe est également plus favorable à la nitration de la tyrosine. Ainsi, ces découvertes pourraient expliquer pourquoi les effets antioxydants de l'acide urique se manifestent uniquement dans l'environnement hydrophile de fluides biologiques tels que le plasma (Sautin et Johnson, 2008).

1.2. Les antioxydants exogènes

1.2.1. Les oligo-éléments

Les oligoéléments antioxydants sont des micronutriments qui sont fortement impliqués dans l'homéostasie énergétique. Ce sont des cofacteurs indispensables pour des réactions métaboliques d'enzymes antioxydantes comme le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. Il s'agit principalement du cuivre, du manganèse, du sélénium et du zinc (Pastre, 2005).

1.2.2. Vitamine E

La vitamine E est un antioxydant liposoluble majeur et fonctionne comme le plus important antioxydant lié aux membranes, Elle est neutralisant les radicaux libres et empêchant l'oxydation des lipides des membranes et par conséquent la vit E assure la prévention de l'organisme contre les diverses pathologies induire par ERO. L' α -tocophérol est la principale forme de vit E avec des fonctions antioxydants et immunitaires (figure 5) (Ojeda, 2016 ; Obeagu, 2018).

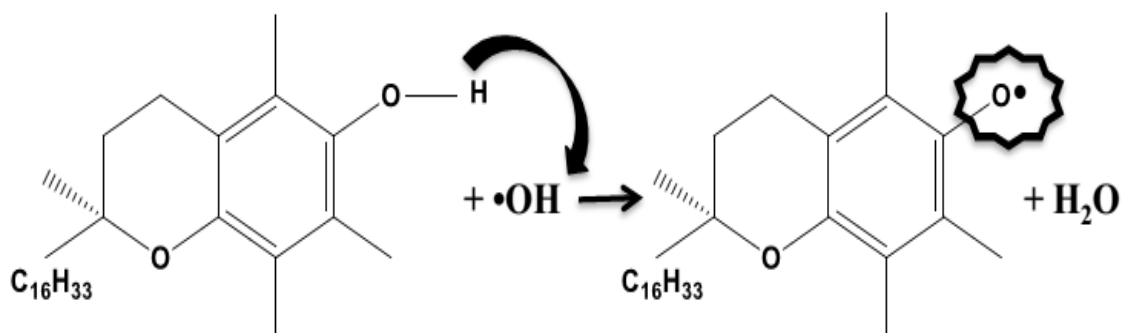


Figure 5 : La structure chimique et mécanisme d'action des vitamines E (Vara et Pula, 2014).

1.2.3. Vitamine C

L'acide ascorbique ou «vitamine C» est un antioxydant monosaccharide et hydrosoluble. Elle est produite de manière endogène dans tous les organismes, à l'exception de l'organisme humain. Le vit C s'oxyde facilement en acide déhydroxyascorbique en présence d'ERO. En plus de ses effets antioxydants directs, l'acide ascorbique est également un substrat de l'enzyme antioxydant ascorbate peroxydase (figure 6). La vit C ayant une fonction particulièrement importante dans la résistance au stress chez les plantes (Lobo *et al.*, 2010).

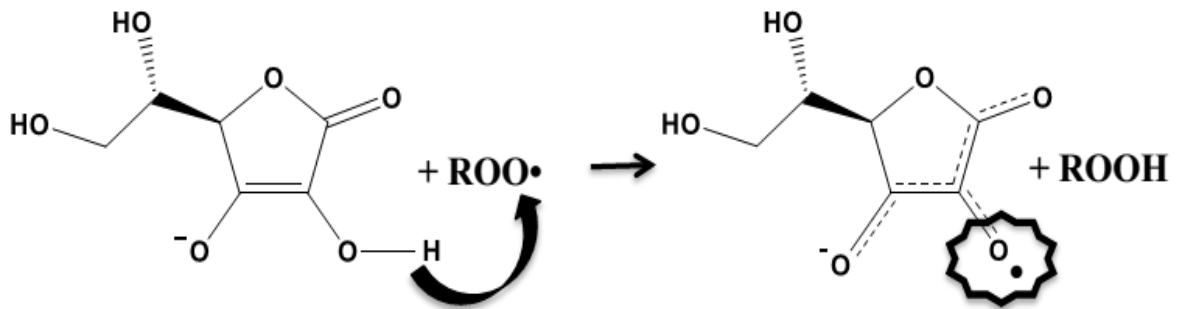
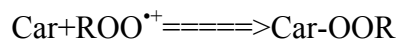
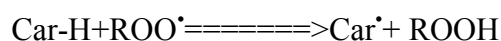
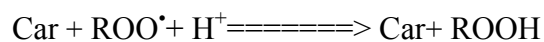


Figure 6 : La structure chimique et mécanisme d'action des vitamines C (Vara et Pula, 2014).

1.2.4. Caroténoïdes

Les caroténoïdes un groupes des pigments liposolubles aux couleurs vives (jaune, orange et rouge) que l'on trouve largement dans les fruits et légumes .elles sont comprennent l' α -carotène, Le β -carotène, la β -cryptoxanthine, le lycopène, la lutéine et la zéaxanthine. Ces substances liposolubles se retrouvent dans les plantes et jouent un rôle dans la photosynthèse (Lohan *et al.*, 2018).

Le β -carotène est le caroténoïde le plus actif; après consommation, il est converti en rétinol, une forme facilement utilisable de vitamine A. Le β -carotène possède des propriétés antioxydantes, des effets anticancérogènes et des effets positifs sur le système immunitaire (Simioni *et al.*, 2018).



1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, présents dans les plantes et les aliments et boissons d'origine végétale. Ils présentent une grande diversité de structures, y compris des molécules assez simples (par exemple la vanilline, l'acide gallique, l'acide caféique) et des polyphénols tels que les stilbènes, les flavonoïdes et les polymères dérivés de ces différents groupes. Par exemple, plus de 8 000 molécules ont été signalées dans la seule famille des flavonoïdes et la liste continue de s'étendre. Bien que le terme polyphénol soit souvent utilisé comme synonyme de composé phénolique, il devrait être limité aux molécules portant au moins deux cycles phénoliques (Cheynier, 2012; Stagos, 2019).

2. Classification et structure des composés phénoliques

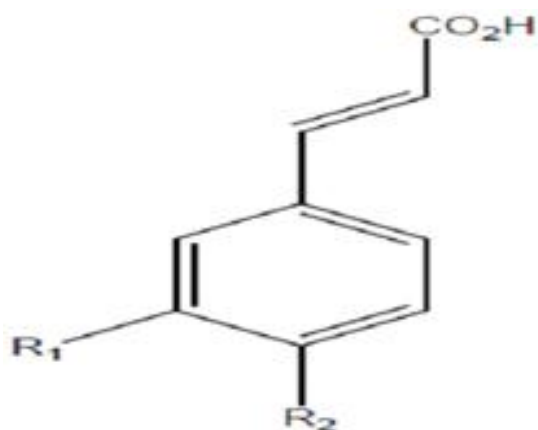
Les composés phénoliques est divisé en plusieurs sous-groupes les plus importantes sont : Les acides phénoliques simples, les flavonoïdes et les tanins.

2.1. Les acides phénoliques simples

Les acides phénoliques simples sont une classe importante de polyphénols divisés en deux groupes principaux: les acides hydroxycinnamiques et les acides hydroxybenzoïques. On les trouve dans différents légumes comme le brocoli, les épinards, le chou frisé, dans divers fruits comme les baies et les pommes, dans l'huile d'olive ou le café et les jus d'agrumes (Moga *et al.*, 2016).

2.1.1. Les acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques ayant une formule de base C6-C3 et dérivés de l'acide cinnamique, présents dans les aliments souvent sous forme d'esters simples avec de l'acide quinique ou du glucose (figure 7). L'acide hydroxycinnamique lié soluble le plus abondant présent est l'acide chlorogénique (une forme combinée d'acides caféique et quinique). Les quatre acides hydroxycinnamiques les plus courants sont l'acide férulique, caféique, p-coumarique et sinapique (Kumar et Goel, 2019).



R1=R2=H Acide cinnamique (non phénolique)

R1=H, R2=OH Acide p-coumarique

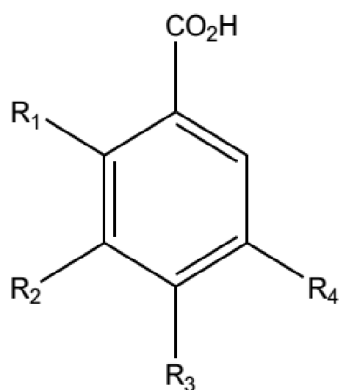
R1=R2=OH Acide caféique

R1=OCH3, R2=OH Acide férulique

Figure 7 : Structure de l'acide hydroxycinnamique (Abbas *et al.*, 2016).

2.1.2. Les acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques possèdent une structure commune de C6-C1 et dérivé de l'acide benzoïque. Ils se trouvent sous forme soluble (conjuguée à des sucres ou à des acides organiques) et liés à des fractions de paroi cellulaire sous forme de lignine. Les acides hydroxybenzoïques le plus connu on a les acides p-hydroxybenzoïque, gallique, protocatéchique, vanillique et syringique (figure 8) (Kumar et Goel, 2019).



R1=R2=R4=H, R3=OH Acide p-hydroxybenzoïque

R1=R4=H, R2=R3=OH Acide protocaatéchique

R1=R4=H, R2=OCH3, R3=OH Acide vanillique

R1=H, R2=R3= R4=OH Acide gallique

R1=OH, R2=R3= R4=H Acide salicylique

Figure 8 : Structure les acides hydroxybenzoïques (Abbas *et al.*, 2016).

2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe des composés phénoliques végétaux, représentant plus de 4000 composés phénoliques naturels. Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire, constitués de quinze atomes de carbone, disposés selon une configuration en C6-C3-C6 (figure 9). Essentiellement, la structure est

constituée de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont à 3 carbones, généralement sous la forme d'un cycle hétérocyclique, C.

Les flavonoïdes sont en outre divisés en sous-classes basées sur la connexion d'un cycle aromatique au cycle hétérocyclique, ainsi que l'état d'oxydation et les groupes fonctionnels du cycle hétérocyclique. Dans chaque sous-classe, les composés individuels sont caractérisés par des modèles d'hydroxylation et de conjugaison spécifiques. Parmi les principales classes de flavonoïdes, les flavones et les flavonols sont les composés les plus répandus et structurellement diversifiés (Tableau 1) (Shahidi *et al.*, 2019).

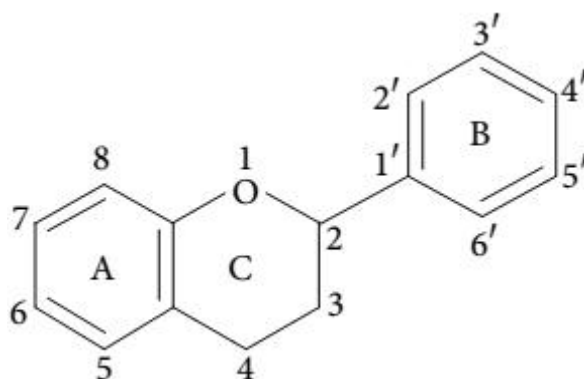
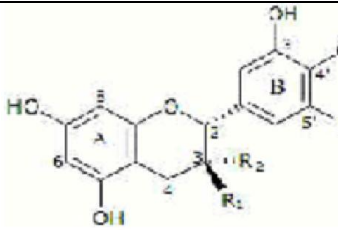
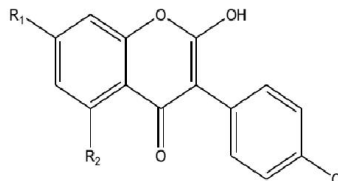
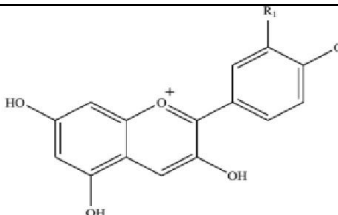


Figure 9 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Kumar, et Pandey, 2013).

Les principales classes de flavonoïdes

Tableau 1 : Principales classes de flavonoïdes (Tsao, 2010).

Classes	Structures	Substitutions	Exemples
Flavanone		R1=H R1= OH R1=OCH3	Naringénine Eriodictyol Héspéritine
Flavonols		R1=H R1= OH R1=OCH3	Kaempférol Quercétine Isorhamnète

Flavanols		R2=R3=H, R1=OH R1=R3=H R2=OH	Catéchine Épicatéchine
Isoflavone		R1=OH, R2=H R1=OGlu, R2=H	Genisteine Daidzeine
Anthocyanidines		R1=H R1=OH	Pélagonidie Cyanidine

2.3 Tannins

En général, les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, ils ont un poids moléculaire compris entre 500 et 3000. Ont des propriétés spéciales telles que la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Falcão et Araújo, 2018).

Il est classé en deux groupes à savoir :

2.3.1. Tanins hydrolysables

Les Tanins hydrolysables sont les classes importantes des tanins avec l'alcool polyhydrique comme élément central de leur structure. Ils sont contiennent de l'acide gallique dans leur structure qui est parmi les acide phénolique. Il existe deux autres subdivisions des Tanins hydrolysables: les ellagitannins et les gallotannins (Figure 10). Les Tanins hydrolysables se trouvent également dans les plantes terrestres, les bananes, les raisins et autres fruits (Amarowicz *et al.*, 2018).

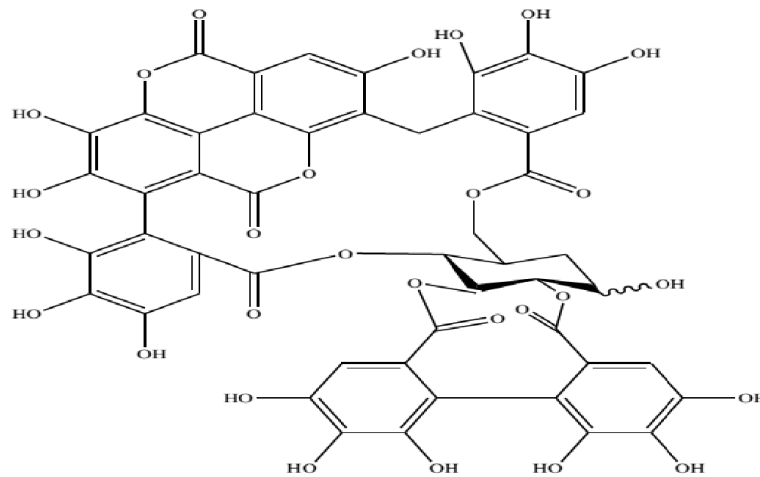


Figure 10 : Structure Tanins hydrolysables (Basli *et al.*, 2012).

2.3.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés (TC) sont des polymères produits par condensation de flavanes. Ils sont également appelés proanthocyanidines (Figure 11). Ce sont les polymères du flavane-3-ol et sont d'éminents antioxydants naturels. Les tanins condensés sont des polyphénols dans la nature et se trouvent dans les fruits, les graines, les noix, les légumes, l'écorce, les fleurs et le thé noir (Hussain *et al.*, 2019).

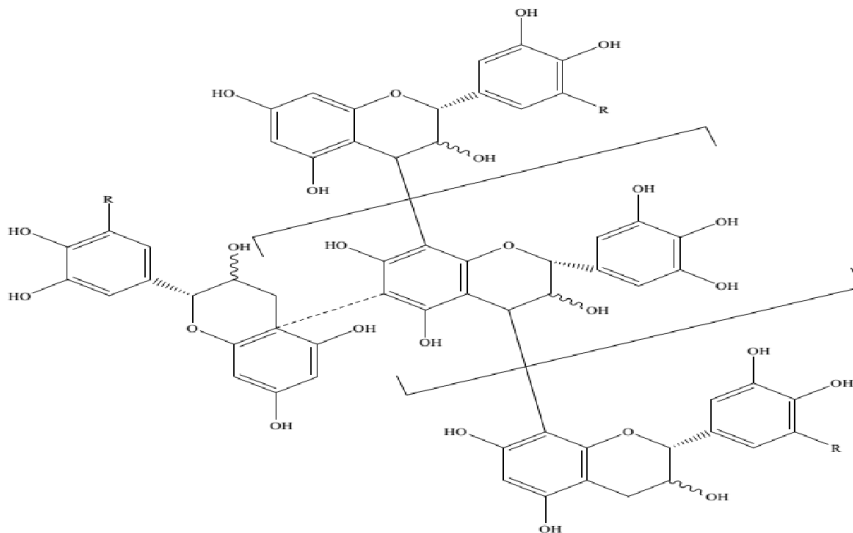


Figure 11 : Structure les tanins condensés (Basli *et al.*, 2012).

3. Les propriétés biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques ont de nombreuses propriétés qui sont bonnes pour la santé humaine, notamment une activité anti-inflammatoire, une inhibition enzymatique, antimicrobienne, antiallergique, vasculaire et cytotoxique, mais l'action la plus importante des phénols est leur activité antioxydante (Figure12). De plus, les composés phénoliques

possèdent d'autres propriétés telles que la production de peroxyde d'hydrogène en présence de certains minéraux, la capacité de piéger les électrophiles et d'inhiber les réactions de l'azote et des minéraux chélateurs, ils agissent donc en empêchant le déclenchement de nombreuses maladies humaines (Cartea *et al.*, 2010).

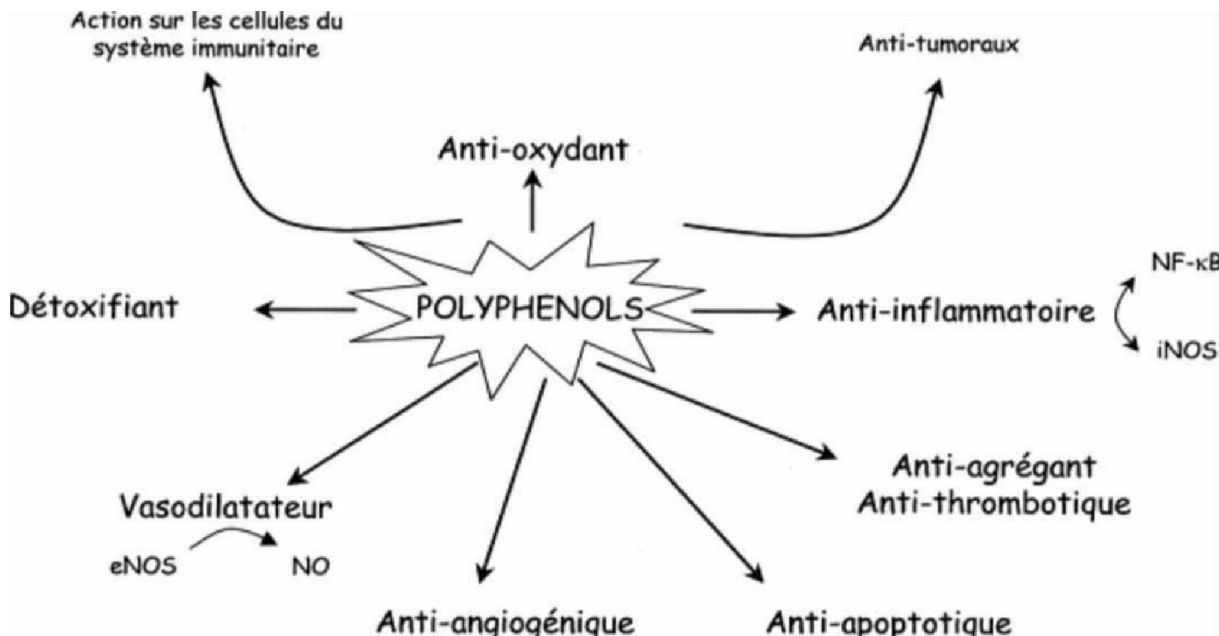


Figure 12 : Propriétés biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

3.3. Activité antioxydante

Les polyphénols sont des antioxydants puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Le système hautement conjugué et certains modèles d'hydroxylation tels que le groupe 3-hydroxy dans les flavonols sont considérés comme importants dans les activités antioxydantes. Les polyphénols suppriment la génération de radicaux libres, réduisant ainsi le taux d'oxydation en inhibant la formation ou en désactivant les espèces actives et les précurseurs des radicaux libres. Plus fréquemment, ils agissent comme des piégeurs de radicaux directs des réactions en chaîne de peroxydation lipidique (casseurs de chaîne). Les briseurs de chaîne donnent un électron au radical libre, neutralisant les radicaux et devenant eux-mêmes des radicaux stables (moins réactifs), arrêtant ainsi les réactions en chaîne (Tsao, 2010).

3.2. Activité anti-inflammatoire

Il a été démontré que de nombreux composés phénoliques inhibent la production de composés pro-inflammatoires (l'interleukine (IL), la cyclooxygénase (COX) -2, le facteur de nécrose tumorale TNF - α et la prostaglandine E2 (PG-E2) sont générées). Par exemple,

les acides phénoliques, tels que l'acide gallique et les acides féruliques, ont été signalés pour supprimer l'enzyme COX-2, et il a été démontré que l'acide férulique inhibe la production de TNF- α . Il a été rapporté que la flavone apigénine et la lutéoline inhibent la production de COX-2 et inhibent le facteur de transcription (facteur nucléaire kappa B) qui active la production de ces composés pro-inflammatoires. Il a également été démontré que les 3-désoxyanthocyanidines suppriment la production de COX-2 et de PG-E2. On pense que les effets inhibiteurs contre les composés pro-inflammatoires sont importants pour la prévention des maladies (Xiong *et al.*, 2019).

3.3. Activité anticancéreuse

L'effet des polyphénols sur les lignées cellulaires cancéreuses humaines, est le plus souvent protecteur et induit une réduction du nombre de tumeurs ou de leur croissance, ces effets ont été observés en divers sites, notamment la bouche, l'estomac, le côlon, le foie, le poumon, la glande mammaire ou peau. De nombreux polyphénols, tels que la quercétine, les catéchines, les isoflavones, les lignanes, les flavanones, l'acide ellagique et la curcumine ont été testés; tous ont montré des effets protecteurs dans certains modèles, bien que leurs mécanismes d'action se soient avérés différents (Pandey et Rizvi, 2009).

Matériels et Méthodes

Le travail expérimental a été réalisé pour déterminer le contenu en polyphénols totaux et en flavonoïde, et évalue l'activité antioxydant *in vitro* de la plante médicinale "*I.viscosa*".

1. Matériels

1.1.Matériel végétal

L'espèce sélectionnée *I. viscosa* a été récoltées dans la région de Hammam D'alàa-M'sila la fin de Mars 2019 .Elle a été séchée à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil, à une température ambiante. Les partie aériennes (feuille, tige, fleur) d'*I. viscosa* sont récupérées et réduit en poudre fine à l'aide broyeur électrique, la conservation de poudre obtenu est à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des flacons hermétiquement fermés pour qu'elle soit prête pour l'extraction.

1.2. Appareils et produits chimiques

Produits chimiques

Réactif de folin-ciocalteu, carbonate de sodium, quercétine, acide gallique, méthanol, trichlorure d'aluminium, ferrozine, chlorure de fer (II) et EDTA.

Appareillage

Spectrophotomètre, rotavapeur, balance de précision, bain marie et agitateur magnétique.

2. Méthodes

2.1.Préparation des extraits

2.1.1. Préparation de l'extrait aqueux (EAq)

L'EAq de la plante *I.viscosa* a été préparé selon la méthode de (Zbadi *et al.*, 2018). Brièvement, Un quantité de 50g de matériel végétal broyé a été pesée et mélangés avec 500 ml d'eau distillé dans erlenmyer pendant 10 min sous agitation sur plaque chauffant. En suite, on le refroidit (15min) puis filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est séché dans l'étuve 40C° pendant un jour pour débarrasser de l'eau résiduelle. Puis conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

2.1.2. Préparation de l'extrait méthanolique (EMth)

L'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*I.viscosa* a été préparé à partir de 50g de broyat des tiges et des feuilles, qui ont été mis à macérer dans 500 ml (70%) de méthanol à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures. Le mélange a été filtré à travers du papier filtre. Le filtrat soumis à une évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif puis séché dans une étuve à 40°C pendant 24heurs. L'extrait sec a été récupéré, pesé et conservé au réfrigérateur jusqu'à son (Atere *et al.*, 2018).

Le rendement d'extraction de chaque étape est calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement d'extraction(\%)} = ((P_1 - P_0) / P_2) 100$$

P_0 : poids vide du cristalliseur ou boîte de pétri(g).

P_1 : poids d'extrait après évaporation(g).

P_2 : poids de la poudre de la phase précédente(g).

2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu des EAQ et EMth en polyphénols totaux est à été effectué par la méthode de folin-ciocalteu, selon le protocole qui décrite par (Li *et al.*, 2007) un volume de 0,2 ml des solutions d'extraits à différentes concentrations sont mélange avec un volume de 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après 4min, 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium (7,5%) a été ajoutée au milieu réactionnel. Après deux heures d'incubation à la température du laboratoire, la lecture de l'absorbance est mesurée à 765nm. On répétée la même avec tous les standards solutions d'acide gallique (20-160ug/ml) pour établir la gamme d'étalonnage les résultats sont exprimé en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

2.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes dans les EAQ et EMth d'*I.viscosa* est estimée par la méthode de (Benslama et Harrar, 2016). Un volume de 0,4 ml de la solution de l'extrait ou quercétine a été mélangée avec 0,4 ml de solution d'ALCL₃ (2%). Après l'incubation 10 min à température ambiante, l'absorbance est lue à 430 nm. La quercétine à différentes concentration (2-40ug/ml) comme standard dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en μg équivalent de quercétine par mg d'extrait (μg EQ/mg E).

3. L'activité antioxydant par le test de chélation de fer

Principe

La ferrozine réagit avec le fer est former un complexe (ferrozine- Fe^{+2}), chromophore violet ayant un maximum d'absorption à 562 nm. En présence d'agents chélateurs, la formation de ce complexe est perturbée aboutissant à une diminution de la couleur violette qui est suivie au spectrophotomètre.

Mode opératoire

Le pouvoir chélateur des extraits des plants est déterminé selon la méthode de Le et ses collaborateurs (2007). La méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-ferrozine après le traitement des échantillons avec les ions Fe^{+2} . 500 μl de solutions d'extraits ou du standard (EDTA) à différentes concentrations sont mélangées avec 100 μl de FeCl_2 chlorure de fer (0.6 mM dans l' H_2O) et 900 μl de méthanol. Après 5min d'incubation .100 μl de ferrozine (5mM) sont ajoutées au milieu réactionnel, le mélange est agité et laisse réagir pendant 10min pour première la complication du fer résiduel. L'absorbance du complexe Fe^{+2} ferrosine est mesurée à 562nm le contrôle négatif est préparé de la même manière en remplaçant l'échantillon à teste par la méthode.

L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\text{Activité chélatrice (\%)} = ((\text{Ac}-\text{Ae})/\text{Ac}) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle

Ae : absorbance des échantillons

La concentration (EC50) des deux extrais qui produisent 50% d'activité ont été calculées.

Résultats et discussion

1. Le rendement d'extraction

L'extraction par décoction de la partie aérienne de la plante *I. viscosa* a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brut avec un rendement de 16.4% et le rendement de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*I. viscosa* après macération a été estimé à 9.6% (Tableau 2).

Le rendement de l'EAq plus élevé par rapport à l'EMth, donc la différence de rendement entre les deux extraits a cause de ; les méthodes appliquée et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée(le solvant extracteur, condition de séchage) le contenu chimique de chaque extrait. L'espèce végétale (la région de collecte, la période) la partie de la plante choisie pour l'extraction (Zbadi *et al.*, 2018).

2. Teneur en polyphénols totaux des extraits d'*I.viscosa*

La détermination de la teneur de polyphénols totaux de l'EAq et l'EMth de la plante *I. viscosa* a été réalisée par la méthode spectrophotométrique de Folin_Ciocalteu et l'acide gallique a été utilisé comme standard. La courbe d'étalonnage représente une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations avec une équation de type $y=0,005x+0,050$ sachant que $R^2=0,990$, qui permet de calculer la teneur de polyphénols de chaque extrait où les résultats exprime en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) (Figure 13).

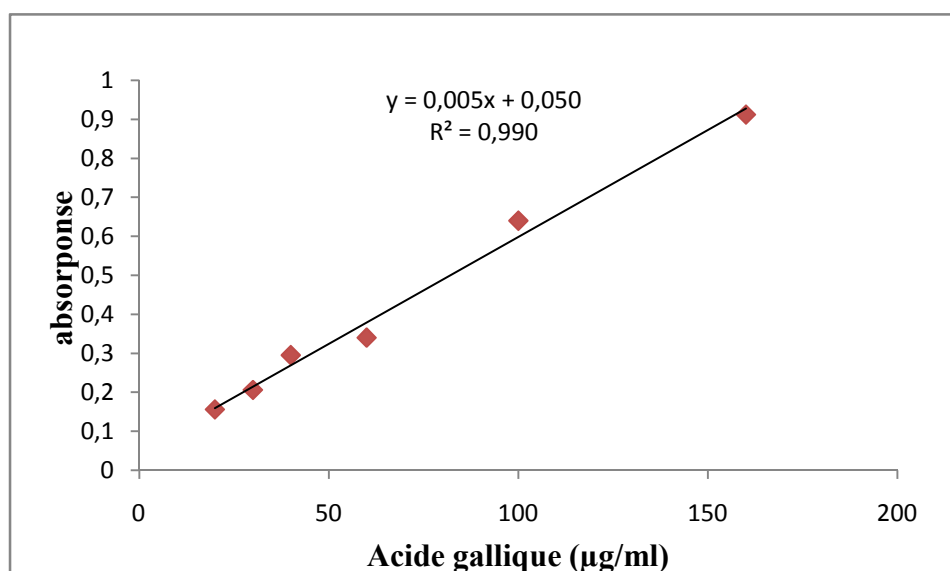


Figure 13: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

3. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes suivi d'une étude quantitative de l'EAq et EMet, qui réalisé au moyen de dosage spectrophotométrique selon la méthode de trichlorure d'aluminium pour la détermination de teneur totale de flavonoïde. La courbe d'étalonnage a été tracée pour ce objectif qui suit une équation de type $y=0,032x+0,026$ sachant que $R^2=0,994$, et la quantité de flavonoïde obtenus est exprimée en microgramme équivalent de quercétine par un milligramme d'extrait ($\mu\text{gEQ}/\text{mgE}$) (Figure 14).

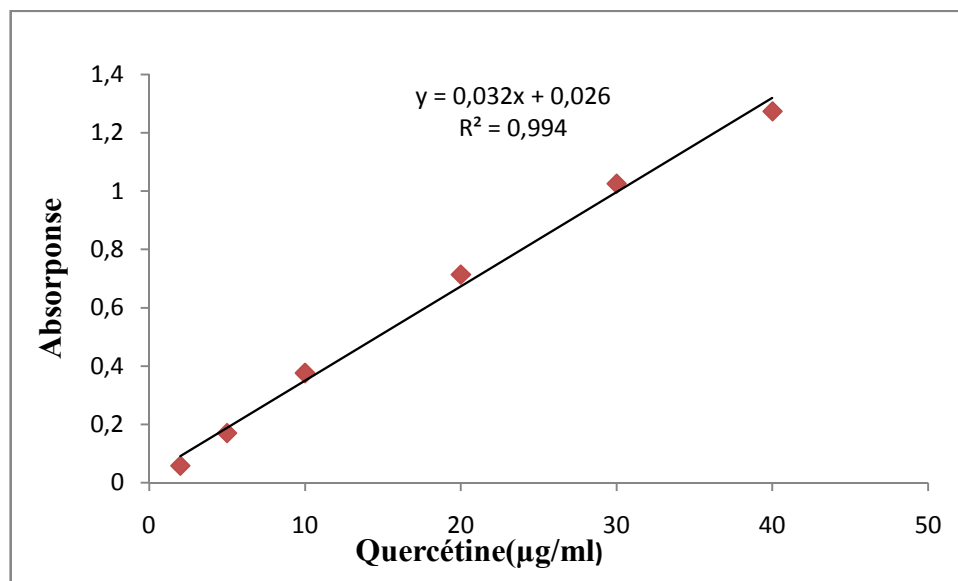


Figure 14: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

D'après les résultats obtenus montrent que l'EMth possède la teneur des composés phénoliques le plus élevées par rapport de l'EAq d'*I. viscosa* (tableau 2) ces résultats concordant avec les travaux sur la même espèce végétale *I. viscosa* (Bekkara *et al.*, 2008) qui montre que l'extrait méthanolique a une teneur en polyphénols de 2.745 ± 0.38 mg EAG/gE alors que notre extrait obtenus par macération a une meilleur teneur en polyphénols et d'autre étude sur *I. viscosa* montre que la méthode d'extraction par le méthanol donne une meilleur extraction des molécules polyphénoliques (Mohti *et al.*, 2019).

La différence de la teneur en composés phénolique totaux entre l'EAq et l'EMth en raison de la variation dans la solubilité des composés phénoliques dans le solvant extracteur polaire et dans notre étude il est devenu que l'addition de l'eau au solvant organique (méthanol) augment la solubilité des polyphénols. Généralement la solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupement hydroxyles, de poids

moléculaires et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (Mahmoudi *et al.*, 2013)

Tableau 2 : Rendement, les teneurs en polyphénols et flavonoïdes de l'EAq et Met d'*I. viscosa*.

	Le rendement en (%)	Polyphénols (µg EAG/mgE)	Flavonoïdes (µg EQ/mgE)
EAq	16,4%	29,073	1,709
EMth	9,6%	47,255	7,019

4. L'activité antioxydante par le test de chélation de fer

L'évaluation de la capacité chélatrice de l'EAq et EMth de la plante *I. viscosa* L à été réalisée par un dosage spectrophotométrique, en utilisant la ferrozine qui forme un complexe avec le fer résiduel (Fe^{+2} -ferrozine) de couleur violet dans le milieu réactionnelle ayant une maximale absorption à 562nm. En présence d'agents chélateurs la formation de ce complexe est perturbée à une diminution de la couleur violet. L'activité antioxydant de l'EAq, l'EMth et EDTA de a été estimée en pourcentage d'inhibition .Nos résultats (Figure 15).

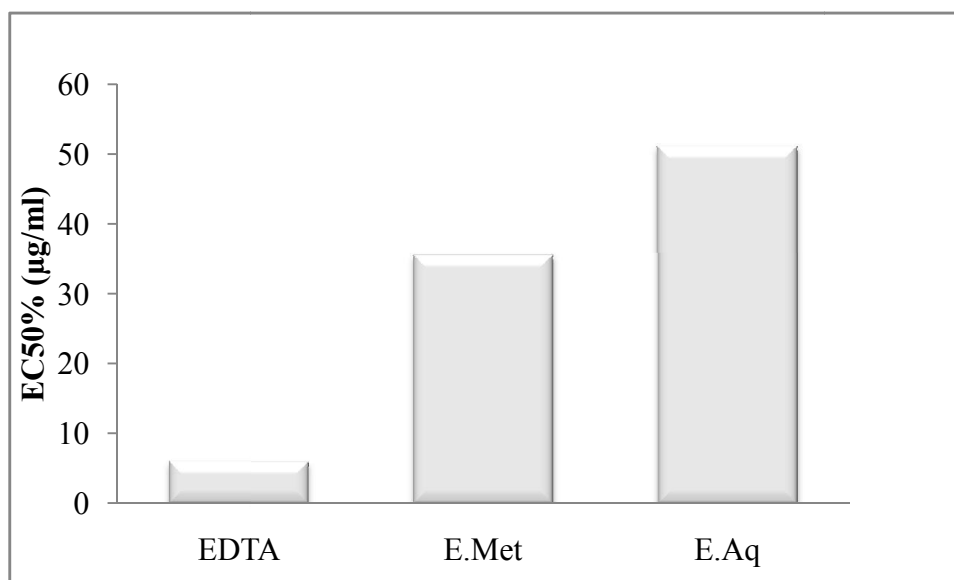


Figure 15: Valeurs des IC50 des extraits de *I. viscosa* et d'EDTA .

Les résultats démontrent que le pouvoir chélateur de métal de transition Fe^{+2} exercé par l'EAq et l'EMth de la partie aérienne d'*I. viscosa* est significativement différent en

comparaison avec activité chélatrice de molécule de référence EDTA. Le pouvoir chélateur est exprimé en valeur d'EC50 (la concentration la plus faible correspondant l'activité antioxydant la plus importante).

Le chélateur standard EDTA exerce une activité chélatrice de EC50 à une concentration très faible de 6,05ug/ml cette valeur reflétant sont puissante effet chélatrice par rapport aux deux extraits testés dans les mêmes conditions et qui elle assure une inhibition totale de la formation de complexe Fe^{+2} -ferrosine qui est traduit par une diminution de l'intensité de la couleur violet de ce complexe

Les extraits polaires (EAq et l'EMth) présentent une faible activité chélatrice par rapport le chélateur standard EDTA. Où les valeurs d'EC50 de l'ordre de 35,6µg/ml pour l'EMth qui est élevé par rapport à 51,12µg/ml pour l'EAq.

La variation dans la capacité de chélation des ions ferreux dans l'EAq et l'EMth étaient fortement corrélés avec les teneurs des composés phénoliques qui sont des agents chélateur de métal de transition et sont efficace comme des antioxydants naturels où on trouve l'extrait de teneur plus élevé en composés phénolique possèdent aussi la meilleure activité chélatrice (l'EMth) (Haddouchi *et al.*, 2014)

Conclusion

la médecine populaire implique l'utilisation des divers plantes médicinales qui possèdent plusieurs effets thérapeutiques grâce à leur composition et sont riches en molécules bioactives telles que; les polyphénols, les flavonoïdes, terpenoïdes ...ex qui sont caractérisés par un grand intérêt et représente la source principale des antioxydants et anti-inflammatoires naturels, aussi sont utilisés dans les différentes industries et la production des médicaments pour le traitement de plusieurs maladies.

Notre travail était intéressé à étudier l'activité antioxydante d'une plante médicinale reconnue pour son importance médicinale elle est appelée *I. viscosa* ou dans la partie pratique de notre étude implique

La réalisation d'une extraction de la plante *I.viscosa* part de deux processus sont la décoction et la macération pour produire deux extraits: l'un aqueux et l'autre méthanolique qui donnent un rendement différent avec un pourcentage de 16,4% pour l'EAq et 9.6% pour l'EMth puis la réalisation d'un dosage colorimétrique pour la détermination de teneur des polyphénols, et des flavonoïdes qui donnent des teneurs considérables et différents de ces métabolites entre les deux extraits. Où les résultats montrent que les deux extraits sont riches en composés phénoliques avec la prédominance de ces derniers dans l'extrait méthanolique en raison de leur solubilité plus élevée dans le solvant méthanolique.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits d'*I. viscosa* selon un seul test, test de chélation du fer, les résultats montrent une forte activité chélatrice vis-à-vis du fer ferreux.

Références bibliographiques

- Abbas M., Saeed F., Anjum F.M., Afzaal M., Tufail T., Bashir M.S., Ishtiaq A., Hussain S., Suleria, HAR (2016). Polyphénols naturels: un aperçu. *J Inter Proprs Alim*, 20 (8), 1689-1699.
- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue Du Rhumatisme*, 74(7), 636–643.
- Amarowicz R., Janiak M. (2018). Hydrolysable Tannins. In *Encyclopedia of Food Chemistry*; Elsevier: *New York, NY, USA*, pp. 337–343.
- Ashfaq U.A., Mumtaz A., Qamar T.ul., Fatima T. (2013). MAPS Database: Medicinal plant activities, phytochemical and structural database. *Bioinformation*, 9 (19): 993-5
- Atere T.G., Akinloye O.A., Ugbaga R.N., Ojo D.A., Dealtry A. (2018). *In vitro* antioxydant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer leaf*. *Food Scien and Human Wel*, 7 :266-272.
- Basli A., Soulet S., Chaher N., Mérillon J.M., Chibane M., Monti J.P., et Richard T. (2012). Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection. *Médecie oxydative et longévité cellulaire*, 1–14.
- Benslama A., Harrar A.(2016). Gratuit radicals action de nettoyagevity et réduire la puissance de deux algériens Sahara médicinal extraits de plantes. *Int J Her Med*, 4 (6): 158-161.
- Beigi Harchegani A., Tahmasbpour E., Borna H., Imamy A., Ghanei M., Shahriary A. (2018). Free radical production and oxidative stress in lung tissue of patients exposed to sulfur mustard: an overview of cellular and molecular mechanisms. *Chem. Res. Toxicol*, 31(4), 211–222.
- Bekkara F.A., Benhammou N., Panovska T. K. (2008). Activités biologiques de l'huile essentielle et de l'extrait éthanolique d'*inula viscosa* de la région tlemcen d'algerie. *Advances in Food*.
- Belaïch R., Boujraf S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 10(1), 38–42.

Bock B. (2015). Fiche de flore de *dittrichia viscosa* subsp. *Viscosa*. tela botanica vol 3 :pp6.

Cartea M.E., Francisco M., Soengas P., et Velasco P. (2010). Phenolic compounds in brassica vegetables. *Molecules*, 16 (1), 251–280.

Chahmi N., Anissi J., Jennan S., Farah A., Sendide K., & Hassouni M. E. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3), 228–233.

Cheyrier V. (2012). Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochem Rev*, 11 (2-3), 153–177.

Dor E., Hershenhorn J. (2012). Allelopathic effects of *Inula viscosa* leaf extracts on weeds. *Allelopathy Journal*, 30(2):281-290.

El-Haci I. A., Atik-Bekkara F., Didi A., Gherib M., & Didi M. A. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280–285.

Engwa G. A. (2018). Free radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*.

Escribano A., Amor M., Pastor S., Castillo S., Sanz F., Codoner-Franch P., and Dasi F. (2015). Decreased glutathione and low catalase activity contribute to oxidative stress in children with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Thorax*, 70,82–83.

Falcão L., Araújo M. (2018). Vegetable Tannins Used in the Manufacture of Historic Leathers. *Molecules*, 23(5), 1081.

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimentale dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutiques. *L'actualité chimique*. 108-115.

Fontana G., La Rocca S., Passannanti S., Pia Paternostro M. (2007). Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, 21(9), 824–827.

Goszcz K., Deakin S.J., Duthie G.G., Stewart D., Leslie S.J., Megson I.L. (2015). Antioxidants in Cardiovascular Therapy: Panacea or False Hope? *Front. Cardiovasc. Med*, 2.

- Habib S., Ali A. (2011). Biochemistry of Nitric Oxide. *Ind J Clin Biochem*, 26(1), 3–17.
- Haddouchi F., Chaouche T. M., Ksouri R., Medini F., Sekkal F. Z., & Benmansour A. (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas subsp. rupestre* and *Phagnalon saxatile subsp. saxatile*. *Chin J Nat Med*, 12(6), 415–422.
- Haoui I. E., Derriche R., Madani L., Oukali Z. (2016). Extraction of essential oil from *inula viscosa* (l.) Leaves: composition, antifungal activity and kinetic data. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(1), 108–118.
- Hussain G., Huang J., Rasul A., Anwar H., Imran A., Maqbool J., Sun T. (2019). Putative Roles of Plant-Derived Tannins in Neurodegenerative and Neuropsychiatry Disorders: An Updated Review. *Molecules*, 24(12), 2213.
- Jamwal K., Bhattacharya S., Puri S. (2018). Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9, 26–38.
- Khan F., Garg V.K, Singh A.K., Kumar T. (2018). Role of free radicals and certain antioxidants in the management of huntington’s disease: a review. *J Anal Pharm Res*, 7(4):386–392.
- Kumar N., Goel N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, e00370.
- Kumar S. (2011). Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. *Adv. Appl. Sci. Res*, 2 (1):129-135
- Kumar S., Pandey A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 1–16.
- Kumar S., Pandey A.K. (2015). Free radicals: health implications and their mitigation by herbs. *Adv. Appl. Sci. Res*, 7 (6), pp. 438-457.
- Le K., Chiu F., & Ng K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105(1), 353–363.
- Li J.W., Fan L.P., Ding S.D., Ding X.L. (2007). Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube. *Food Chem*, 103 : 454-60.

Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L., Della-Morte D., Testa G., Cacciatore F., Bonaduce D., Abete P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, volume 13, 757–772.

Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Phcog rev*, 4(8), 118.

Lohan S.B., Vitt K., Scholz P., Keck C.M., Meinke M.C. (2018). ROS production and glutathione response in keratinocytes after application of beta-carotene and VIS/NIR irradiation. *Chem Biol Interact*, 280:1–7.

Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51 :304-315.

Messaoudi M., Chahmi N., El Mzibri M., Gmouh S., Amzazi S., Benbacer L., El Hassouni M. (2016). Cytotoxic Effect and Chemical Composition of *Inula viscosa* from Three Different Regions of Morocco. *European Journal of Medicinal Plants*, 16(4): 1-9.

Meziou C.N. (2016). Contributions to Study of the Antimicrobial Activity of *Inula Viscosa* Harvested in Boumerdes (Algeria). *Int J Adv Chem Eng Biol Sci*, 3, 2349-1507.

Moga M., Dimienescu O., Arvatescu C., Mironescu A., Dracea L., Ples L. (2016). The Role of Natural Polyphenols in the Prevention and Treatment of Cervical Cancer—An Overview. *Molecules*, 21(8), 1055.

Mohti H., Taviano M. F., Cacciola F., Dugo P., Mondello L., Marino A., Miceli N. (2019). *Inula viscosa* (L.) Aiton leaves and flower buds: Effect of extraction solvent/technique on their antioxidant ability, antimicrobial properties and phenolic profile. *Natural Product Research*, 1–7.

Obeagu E.I. (2018). A review on free radicals and antioxidants. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci*, 4(2): 123-133.

Ojeda M.L., Pinilla M.C., Borrero M.L., Sequeda G., Castro V.M., García A.S., Rodríguez J.C., Diez O, Lucci P. (2016). Rexaltation entre apport en vitamines et antioxydant total capacité chez les personnes âgées. *Univ. Sci*, 21 (2): 167-177.

Ozkan E., Pehlivan Karakas F., Birinci Yildirim A.B., Tas I., Eker I., Zeynep Yavuz M. Ucar Turker A. (2019). Promising medicinal plant *Inula viscosa* L.: antiproliferative, antioxidant, antibacterial and phenolic profiles. *Progress in Nutrition*, 21, 3, 652-661.

Pandey K. B., Rizvi S. I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.

Pastre J.O.C. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*. 120p.

Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Ind J Clin Biochem*, 30(1), 11–26.

Pincemail J., Defraigne J.O., Limet R. (2001). Vitamins, fatty acids and prevention of cardiovascular disease. *Medi Sphere*. 130.

Poisson C. (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique; innovation thérapeutique: du fondamental à l'appliqué.

Qazi M.A., Molvi K.I. (2018). Free Radicals and their Management. *Am. J. Pharm Health Res*. 6(04).

Rhimi W., Ben Salem I., Immediato D., Saidi M., Boulila A., Cafarchia C. (2017). Chemical Composition, Antibacterial and Antifungal Activities of Crude *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter Leaf Extracts. *Molecules*, 22(7), 942.

Rong T.(2012). Antioxidant properties *in vitro* and *in vivo*: realistic assessments of efficacy of plant extracts. *CAB Reviews* ,7(9).

Salim,H., Rimawi, WH.(2017). Arwa Mjahe.Analyse d'extraits d'inula viscosa palestinienne pour leur teneur phénolique, flavonoïde et lipidique, activité antioxydante et antibactérienne. *Journal of Chemistry and Biochemistry*.

Sarma A.D., Mallick A.R., Ghosh A.K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: An overview. *IJPSR*, 1(3), 185-192.

Sautin Y. Y., & Johnson R. J. (2008). Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 27(6-7), 608–619.

Shahidi F., Varatharajan V., Oh W.Y., Peng H. (2019). Phenolic compounds in agri-food by-products, their bioavailability and health effects. *J. Food Bioact*, 5, 57–119.

Sharma P., Jha A. B., Dubey R. S., & Pessarakli M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 1–26.

Simioni C., Zauli G., Gonelli A., Neri M.N., Martelli M.A., Vitale M., Sacchetti M. (2018). Oxidative stress: Role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. *Oncotarget*, 9(24), 17181-17198.

Snezhkina A.V., Kudryavtseva A.V., Kardymon O.L., Savvateeva M.V., Melnikova N.V., Krasnov G.S., Dmitriev A.A. (2019). ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–17.

Stagos D. (2019). Antioxidant activity of polyphenolic plant extracts. *Antioxidants*, 9(1), 19.

Sun W. H., Liu F., Chen Y., Zhu Y. C. (2012). Hydrogen sulfide decreases the levels of ROS by inhibiting mitochondrial complex IV and increasing SOD activities in cardiomyocytes under ischemia/reperfusion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 421, 164–169.

Tahmasbpour E., Ghanei M., Qazvini A., Vahedi E., and Panahi Y. (2016) Gene expression profile of oxidative stress and antioxidant defense in lung tissue of patients exposed to sulfur mustard. *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 800–801, 12–21.

Talib W. H., Abu Zarga M.H., Mahasneh A. M. (2012). Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from *Inula viscosa*. *Molecules*, 17, 3291-3303.

Tsao R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. *The International Journal of biochemistry and Cell Biology*, 39: 44-48.

Vara D and Pula G. (2014). Oxygen species: physiological roles in the regulation of vascular cells. *Current Molecular Medicine*, 14, 1-23

Velayutham M., Hemann C. Zweier J. (2011). Removal of H₂O₂ and generation of superoxide radical: Role of cytochrome C and NADH. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(1), pp.160-170.

Xiong Y., Zhang P., Warner R.D., Fang Z. (2019). Sorghum Grain: From Genotype, Nutrition, and Phenolic Profile to Its Health Benefits and Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.

Zbadi R, Mohti H, Moussaoui F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales.*mt*, 24 (2) :134-41.