



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 محمد البشير الإبراهيمي برج بوعروريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Dosage des polyphénols totaux et activité
antioxydante de *Cyclamen sp.***

Présenté par : DADOUCHE Mouna
MEBARKIA Hadjer

Devant le jury :

Président :	M. DIAFAT Abdelouahab	Université de Bordj Bou Arréridj
Directeur :	M. DJENIDI Rédha	Université de Bordj Bou Arréridj
Examineur :	M ^{me} BENOUADAH Zohra	Université de Bordj Bou Arréridj

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Avant tout, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères tout d'abord au « Bon Dieu ALLAH » le Tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance, la foi et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé sur le chemin de la réussite.

*Nous tenons à remercier le **Dr DIAFAT Abdelouahab** qui a eu l'amabilité d'accepter de présider le présent jury.*

Nous remercions notre encadreur.

*Nous adressons nos remerciements au **Dr BENOUADAH Zohra** qui a bien voulu examiner ce travail. Nous sommes honorées que vous ayez accepté de juger notre mémoire. Vos compétences scientifiques seront d'une valeur inestimable pour enrichir ce travail.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont au **Dr FELLAH Fahima** pour son assistance, son soutien, sa patience, ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire ainsi que sa précieuse aide qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail. Nous sommes tellement satisfaits de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante, merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les manipulations au laboratoire et les corrections que vous avez apportées à ce manuscrit ; nous ne pouvons, Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude. Sans vous ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. C'est un honneur pour nous d'avoir travaillé avec vous.*

*Nous rendons un hommage particulièrement important au **Laboratoire de recherche de Biochimie Appliquée de l'Université de Béjaia**, Faculté SNV et à la **Professeure Aicha ZEBOUJ-DEHBI** en tant que **Directrice de Laboratoire**, sans laquelle ce travail n'aurait pas pu se faire. Nous ne pourrions jamais assez les remercier d'avoir été à l'origine du sujet, pour leur fourniture en produits chimiques et réactifs, en appareils, en matériel de laboratoire, en verrerie et en équipements, indisponibles dans notre laboratoire de Biochimie. Cette aide a été plus que précieuse, pour ne pas dire vitale pour la réalisation de ce mémoire. Nous leur disons MERCI d'avoir eu la gentillesse de nous prendre en charge matériellement et scientifiquement au nom de la solidarité scientifique.*

*Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également au responsable des laboratoires de notre faculté Monsieur **MEKHOUKH Nacer Eddine**, pour son aide, sa sympathie et ses conseils.*

Sans oublier d'exprimer nos vifs remerciements et toute notre gratitude à tous nos enseignants la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de le Terre et de l'Univers et particulièrement de spécialité Biochimie qui ont contribué à notre formation pendant cinq ans.

Nous tenons également à remercier tous les étudiants de notre promotion

(2019-2020).

Un grand merci va également à nos familles pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour nous pendant la durée de nos études.

Enfin nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

Quel que soit la longueur du serpent, il a toujours une tête ! « Proverbe Ivoirien ». La voilà donc dans notre cas, cette ... tête (le mémoire) soutenue après de longues épreuves et de beaucoup de sacrifices, aussi de joies partagées avec une équipe, des amis et une famille.

Dédicaces

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient montrer la gratitude, la reconnaissance, le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toutes les personnes à qui je dédie ce travail :

- ♥ *À mes très chers parents **Mohamed** et **Farida** qui m'ont tout donné sans rien en retour, Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la source de tendresse, le symbole de la bonté par excellence, la lumière qui illumine mon chemin. sans votre affection, vos conseils, vos encouragements, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières, vos efforts et vos soutiens que vous avez déployés durant le long chemin de mes études et de toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, J'implore Dieu le tout puissant, de vous accorder une bonne santé, beaucoup de bonheur, une longue vie et vous bénisse pour moi. je vous aime énormément.*
- ♥ *À mon cher frère **Samir**, son épouse **Messaouda** et les petits **Aissa** et **Nada**, En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et de mon attachement indéfectible. Que Dieu vous accorde santé et félicité pour faire de vous un couple uni et heureux à jamais. Que Dieu protège Aissa et Nada et les bénisse.*
- ♥ *À mes très chers frères **Moumene** et **Nassim**, Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de réussite.*
- ♥ *À mes meilleurs amies **Asma**, **Hanane**, **Yassmine**, **Dounia**, **Jassmine** et **Maroua** en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.*
- ♥ *À mon adorable nièce **Youssra** qui m'encourage dans mes études afin de réaliser mes projets. Aussi à ma meilleur cousine **Rania** qui je lui souhaite une belle vie.*
- ♥ *À mon âme sœur **Meriem** tu étais toujours présente pour les bons conseils et le soutien moral. Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de bonheur.*
- ♥ *À ma binôme **hadjer** et à toute sa famille.*
- ♥ *Ainsi à tous ceux ou celles qui m'ont apporté leur soutien, réconfort moral et leur contribution dans l'élaboration de ce mémoire et le long de mes années d'étude.*

Mouna

Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed paix et salut sur lui le seau des prophètes ainsi que ses compagnons pour nous avoir apporté une religion

Comme l'Islam

♥ *À la plus belle créature que Dieu a crée sur terre...*

*À cette source de tendresse, de patience et de générosité et placitude à ma **mère** !*

*Tous les mots ne me suffisent pas pour exprimer mon amour, mon respect et ma reconnaissance à ma chère **maman**, je demande à **Dieu** de le garder pour moi et de prolonger sa vie. je n'oublierai pas ton sacrifice, ton soutien permanant, ta bonneté m'ont donné confiance, courage et tous les efforts que tu as fait pour mon bonheur et ma réussite dans ma vie. Merci infiniment ma très chère **maman**.*

♥ *À mon cher **père** Abbes qui m'a donné sans rien en retour et qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles. Je suis fière pour tout ce que tu nous as donné, à toi mon **père**.*

♥ *À toi ma **grande mère maternelle**, mon trésor et la chose la plus chère de ma vie. Qu'Allah te garde et te procure une bonne santé et une longue vie.*

♥ *À mes **frères**, qui ont été mon ombre durant toutes les années d'études, et qui ont veillé tout au long de ma vie à m'encourage, à me donner l'aide. Surtout a très chère sœur **IMAN** avec ses enfants **WAIL & MANI** qui ont toujours été présents pour moi et qui m'ont toujours soutenu et encouragée psychologiquement.*

♥ *À mes **meilleures tantes** et **AIDA** en particulier, a qui je trouve en vous une source de ma fierté, vos conseils et votre position avec moi sont précieux. Énorme remerciement pour vous et tous **ma famille**.*

♥ *À ma **meilleure amie**, ma binôme **MOUNA** qui me partage ce mémoire, nos souvenirs ensemble sont inoubliables.*

♥ *À tous mes **chers amis** surtout **FATIMA** et **IMAN** pour leurs encouragements pour ne pas échouer quand ma mère est tombée malade.*

À toutes les personnes qui m'aiment et que j'aime.

Hadjer

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 1	Principales propriétés des espèces réactives radicalaires et non radicalaires	6

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Teneur en polyphénols totaux (TPC) des extraits de <i>Cyclamen sp</i>	18
Figure 02	Capacité antioxydante totale (TAC) des extraits de <i>Cyclamen sp</i>	19
Figure 03	Activité anti-radicalaire au DPPH des extraits de tubercule de <i>Cyclamen sp</i>	20
Figure 04	Test de blanchissement du β -carotène des extraits de <i>Cyclamen sp</i>	21
Figure 05	Cinétique du blanchissement du β -carotène en présence et en absence des extraits de <i>Cyclamen sp</i> et de BHA	21
Figure 06	Pouvoir réducteur des extraits de <i>Cyclamen sp</i>	22
Figure 07	Activité chélatrice du fer par les extraits de <i>Cyclamen sp</i>	23

LISTE DES ABREVIATIONS

OMS :	Organisation mondiale de la santé.
AVC :	Accident vasculaire cérébral.
BHA :	Hydroxy-anisole butylé.
DPPH :	2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl.
EAG :	Equivalent acide gallique.
ERO :	Espèces réactives à l'oxygène.
HPLC :	Chromatographie en phase liquide à haute performance.
MS :	Matière sèche.
PPT :	Polyphénols totaux.
C:	Cyclamen.
TAC :	Activité antioxydante totale
t:	Temps
UV :	Ultra-violet.
CCM :	Chromatographie sur couche Mince.
NO :	Monoxyde d'azote.
rpm:	Rotation par minute

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1. Le genre Cyclamen	3
I.1.1. Description et classification du genre Cyclamen	3
I.1.2. Position systématique	3
I.1.3. Répartition géographique	4
I.1.4. Propriétés biologiques du genre Cyclamen	4
I.2. Stress oxydatif	5
I.2.1. Radicaux libres	5
I.2.2. Stress oxydant	7
I.3. Antioxydants	8
I.3.1. Définition	8
I.3.2. Système antioxydant	9
I.3.2.1. Système antioxydant endogène	9
I.3.2.2. Système antioxydant exogène	9
a. Acide ascorbique (vitamine C)	9
b. α-tocophérol (vitamine E)	9
c. Caroténoïdes	9
d. Composés phénoliques	9
-Acides phénoliques	10
-Flavonoïdes	10
-Tannins	10
e. Mécanisme d'action des polyphénols	11
-Chélation des métaux	11

-Neutralisation des radicaux libres.....	11
-Inhibition d'enzymes.....	11
CHAPITRE II- MATERIEL ET METHODES.....	12
II.1 Matériel.....	12
II.1.1 Matériel végétal.....	12
II.1.2 Réactifs.....	12
II.2 Méthodes.....	12
II.2.1 Méthode d'extraction.....	12
II.2.1.1 Principe.....	12
II.2.1.2. Préparation de la poudre de <i>Cyclamen sp</i>.....	13
a. Séchage.....	13
b. Broyage.....	13
c. Tamisage.....	13
II.2.2 Dosage des polyphénols totaux.....	13
a-Principe.....	13
b-Mode opératoire.....	13
II.2.3 Evaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>.....	14
II.2.3.1 L'activité antioxydante totale (TAC).....	14
II.2.3.2 Test de piégeage du radical DPPH.....	14
II.2.3.3 Test de blanchissement du β-carotène.....	15
a-Principe.....	15
b-Mode opératoire.....	15
II.2.3.4 Pouvoir réducteur.....	16
a-Principe.....	16
b-Mode opératoire.....	16
II.2.3.5 Test de chélation des ions ferreux.....	16
a-Principe.....	16
b-Mode opératoire.....	17
II.2.4 Analyse statistique.....	17
CHAPITRE III : RESULTATS.....	18
III.1. Teneur en polyphénols totaux.....	18
III.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés.....	18

III.2.1. Activité antioxydante totale (TAC).....	19
III.2.2. Activité anti-radicalaire au DPPH.....	20
III.2.3. Blanchissement du β-carotène.....	20
III.2.4. Pouvoir réducteur.....	22
III.2.5. Chélation de fer ferreux.....	22
CHAPITRE IV : DISCUSSION.....	24
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	31
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	33
ANNEXES	
RESUMES	

INTRODUCTION

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales qui constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques, ont été le principal recours de la médecine de nos grands-parents (**Benyahia, 2017**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2008**), plus de 80% de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour ses besoins de soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Pierangeli et al., 2009**). Ainsi les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (**Ghnimi, 2015**).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté, cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une énorme variété de molécules naturels bioactives (**Bahrroun et al., 1996**).

Aujourd'hui, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales en raison de leur réservoir immense en composés potentiels et en molécules bioactives. A côté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires. Ces derniers représentent une source importante de molécules, dont les polyphénols. Ces métabolites sont très utilisés dans les industries alimentaires (goût, couleur), cosmétiques, pharmaceutiques et biomédicaux et font partie des médicaments, colorants, arômes, parfums et des insecticides (**Aziri et Djenad, 2017**).

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du stress oxydant, ainsi qu'une recrudescence d'intérêt est à remarquer concernant les effets biologiques des antioxydants naturels qui agissent contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (molécules prooxydantes très réactives causent des dommages cellulaires graves) (**Manallah, 2012**). Ces derniers sont inclus dans la lutte contre le stress oxydatif qui est le centre de nombreuses pathologies par l'intermédiaire de la dénaturation des protéines, lipides, sucres et même de l'ADN (**Benidiri et Benmammar, 2016**). Ce stress est impliqué dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaires (AVC), l'ostéoporose, les maladies inflammatoires, et les maladies neurodégénératives (**Manallah, 2012**).

L'indispensabilité de l'oxygène moléculaire pour notre survie et notre développement n'est plus à démontrer, et ce, lors d'une prise régulière, mais à fortes doses, il peut être très toxique. Cette toxicité est le corollaire de la formation inéluctable de diverses espèces chimiques qui, le plus souvent, sont des radicaux libres, dotés de propriétés oxydantes importantes (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

L'organisme se protège toujours contre la formation et l'agression de ces oxydants grâce à un système de défense hyper efficace, complété par des apports alimentaires en substances antioxydantes exogènes comme que les caroténoïdes, les vitamines et les composés phénoliques.

La capacité des polyphénols à piéger les radicaux libres, précurseurs du stress oxydatif, a fait l'objectif de nombreuses études, et plus récemment un grand intérêt, en raison de leurs puissantes activités antioxydantes (Li et al., 2006 ; Govindarajan et al., 2007).

Dans cette optique, nous avons entrepris l'étude de l'activité antioxydante des extraits de la partie souterraine (tubercule) de *Cyclamen sp* qui est une plante largement exploitée en médecine traditionnelle.

L'objectif essentiel de notre travail vise à démontrer la richesse de cette plante en polyphénols et de déterminer leur activité antioxydante, ce qui consiste à répondre à la problématique suivante : Pouvons-nous considérer la plante *Cyclamen sp* comme une source naturelle d'antioxydants ? Autrement dit : cette plante est-elle une source naturelle d'antioxydants ?

Pour cela notre étude est organisée deux parties :

- La première est une recherche bibliographique de quelques rappels comportant des généralités sur la plante étudiée, sur les radicaux libres, le stress oxydatif et les antioxydants.
- La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, qui porte sur l'extraction, le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux) de la partie souterraine (tubercule) de *Cyclamen sp*, et sur l'évaluation de leur activité antioxydante *in vitro*.

A la lumière des résultats obtenus, l'étude s'achève par une conclusion générale suivie par des perspectives de recherche qui seront envisagées pour de futures études sur le sujet.

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Le genre *Cyclamen*

Le cyclamen est une plante médicinale tubéreuse adaptée aux conditions méditerranéennes. Le nom vernaculaire français est Cyclamen, alors qu'en arabe c'est Khobzet ed dib et Hadibi (**Anonyme, 2009**). Cette plante pousse spontanément en Algérie et appartient à la famille des Primulaceae (**Mazouz, 2014**). Elle est endémique à l'Afrique du Nord, et commune dans la région de Bejaia. Ses cycles de développement, de floraison et de repos sont bien définis. Sa floraison est principalement hivernale et sa période naturelle de repos débute au printemps.

I.1.1. Description et classification du genre *Cyclamen*

Le nom *Cyclamen* vient du grec *cyclos* qui signifie cercle en allusion au pédoncule floral roulé en cercle (**Anonyme, 2009**). Les plantes appartenant à ce genre sont vivaces, elles sont caractérisées par de grosses tiges tubéreuses circulaires et aplaties d'où naissent les racines. Les feuilles, ovales-cordées, peu anguleuses ou non, sont généralement vertes foncées et marbrées au-dessus, pourprées au-dessous. Les fleurs pentamères, sont vivement colorées (rose, rouge, blanc). Le calice est campanulé et les divisions de la corolle (20-40mm) brusquement réfléchies ; les étamines sont incluses, la gorge souvent renflée, anguleuse ou dentée (**Bruneton, 2005**). La tige s'enroule sur elle-même pour former une sorte de ressort au moment de formation des graines, à l'exception du *Cyclamen* de Perse, dont la tige reste droite (**Bonduel, 1990**).

I.1.2. Position systématique

Selon **Quezel et Santa (1963)**, la position systématique du *Cyclamen* est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous-classe : Magnoliidae

Ordre : Primulales

Famille : Primulaceae

Genre : Cyclamen

I.1.3. Répartition géographique

Le genre *Cyclamen* regroupe 23 espèces (**Takamura et al., 2005**) qui sont réparties dans certaines parties de l'Europe, l'Asie occidentale et l'Afrique du Nord (**Sugiyama et al., 2008**). Le *Cyclamen* d'Afrique est une espèce endémique à l'Afrique du Nord, commune dans le Tell algérien et le littoral Algéro-constantinois. Il est présent dans les forêts et les broussailles (**D. G. F., 2003 ; Anonyme, 2009**).

I.1.4. Propriétés biologiques du genre *Cyclamen*

- **Utilisation en médecine traditionnelle**

Les Égyptiens, Grecs et Romains connaissaient déjà les cyclamens et les utilisaient en médecine. Le *Cyclamen* est recommandé en extrait alcoolique contre les bourdonnements d'oreille. Cette même teinture s'emploie utilement contre les migraines rebelles et les névralgies (**Fournier, 1999**). Cet auteur préconise aussi que les adeptes de l'homéopathie utilisent l'essence homéopathique du tubercule frais récolté au printemps, contre toute une série de maux : douleurs de tête et d'oreilles, coryza, maux de dents, troubles de la digestion (météorisme), crises de coliques, chlorose liée à l'aménorrhée, douleurs rhumatismales et goutteuses sans manifestations fébriles, certaines névroses, teigne, aménorrhée, dysménorrhée, crampes des membres inférieurs et diverses maladies de la peau.

La racine du *Cyclamen* réduite en pulpe est un bon résolutif, on l'applique sur les tumeurs scrofuleuses, les engorgements indolents et l'œdème (**Cazin, 1868**).

Le *Cyclamen hederifolium* est utilisé contre les verrues (**Pieroni, 2004**) et contre les engelures (**Guarrera et al., 2008**), tandis que *Cyclamen mirabile* est utilisé comme un agent antifongique contre les espèces *Candida* et *Cryptococcus neoformans* (**Pawar et al., 2011**).

- **Activités biologiques reconnues**

Le genre *Cyclamen* est riche en saponines, connues pour avoir des activités biologiques intéressantes. Peu de travaux relatifs aux activités biologiques du *Cyclamen*

d'Afrique sont rencontrés dans la littérature, cependant certaines espèces appartenant à ce genre possèdent des activités biologiques reconnues, parmi elles le *Cyclamen mirabile Hildebr* récolté en Turquie, dont l'extrait de feuille a montré une forte activité antioxydante (Sarikurku, 2011). D'après les travaux de Speroni *et al.*, (2007), les tubercules de *C. repandum* S. et S. possèdent des potentiels anti-inflammatoires et anti-nociceptifs grâce à la présence de saponines triterpéniques.

D'autre part, les travaux de Emre *et al.*, (2013) ont mis en évidence l'activité larvicide des extraits de tubercules isolés à partir de deux espèces de *Cyclamen*: *C. mirabile Hildebr* et *C. alpinum* Dammann et Sprenger contre *Culex pipiens* L.

En outre, les saponines triterpéniques: Saxifragifolin B et Cyclamine isolées du *C. libanoticum Hildebr* et du *C. persicum Mill* ont été décrites pour la première fois et on ont montré de fortes activités cytotoxiques contre des lignées cellulaires du cancer du sein et le carcinome du poumon.

I.2. Stress oxydatif

I.2.1. Radicaux libres

Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches périphériques, rendant ainsi ces espèces particulièrement instables (Durand *et al.*, 2013). Ils sont très réactifs et peut ainsi réagir avec d'autres atomes ou molécules et se comporter, selon le cas, comme un oxydant ou comme un réducteur, afin d'apparier leur électron célibataire. Ils auront donc tendance soit à donner leur électron, soit à créer une liaison pour combler leur orbitale.

- **Principaux radicaux libres**

De manière plus synthétique, les principales espèces réactives et leurs propriétés sont récapitulées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Principales propriétés des espèces réactives radicalaires et non radicalaires.

Nomenclature	Symbole	Propriétés et principales réactions	Référence
Anion superoxyde	$\cdot\text{O}_2$	Le radical $\text{O}_2 \cdot^-$ se dismute spontanément au pH physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène, il est généré par la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire. Cette réaction semble surtout être catalysée par des NADPH oxydases membranaires.	Pisoschiet Pop (2015)
Radical hydroxyle	$\cdot\text{HO}$	Les voies conduisant à la formation de ce radical: réaction de fenton (celle qui implique les métaux de transition) et réaction d'Haber et Weiss (L' H_2O_2 peut aussi réagir avec le radical superoxyde, aboutissant à la production du $\text{HO}\cdot$)	Toro et Rodrigo (2009)
Monoxyde d'azote (oxyde nitrique)	$\cdot\text{NO}$	Synthétisé dans les cellules endothéliales à partir de l'arginine et l' O_2 grâce à l'action d'enzymes NO synthase. Il peut réagir avec la plupart des espèces oxygénées et se transformer en dioxyde d'azote (NO_2), lequel peut donner du trioxyde d'azote (N_2O_3), Pour enfin aboutir à un ion nitrate stable (NO_2^-) ; de plus, le monoxyde d'azote forme avec $\text{O}_2 \cdot^-$ le peroxyde nitrite.	Lismont et al. (2015)
Radicaux alkyles	$\cdot\text{R}$	Généralement issus de l'action des radicaux hydroxyles sur les substrats biologiques (par arrachement d'atome d'hydrogène ou addition sur les doubles liaisons).	Delattre et al. (2005)
Radicaux peroxy	$\cdot\text{ROO}$	Les radicaux peroxydes sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone $\text{R}\cdot$.	Delattre et al. (2005)
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène formé à la dismutation de $\text{O}_2 \cdot^-$ par le superoxyde dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l' H_2O_2 donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle $\text{HO}\cdot$ hautement réactif.	Birben et al. (2012)
Oxygène singulet	$(^1\text{O}_2)$	Oxygène avec des spins antiparallèles. Produit à des pressions importantes en oxygène sous l'effet de l'absorption des rayons UV. Il disparaît trop vite pour être toxique <i>in vivo</i>	Chu et al. (2010)
Acide hypochlorique	HOCl	Produit dans les neutrophiles, sa toxicité s'effectue à travers des réactions d'halogénations et d'oxydations.	Chu et al. (2010)
Peroxyde nitrite	$\cdot\text{ONOO}$	Produit dans les neutrophiles, sa toxicité s'effectue à travers des réactions d'halogénations et d'oxydations.	Lismont et al. (2015)

- **Rôle physiologique des espèces réactives**

Les EOR et ERN jouent un rôle bénéfique dans les systèmes biologiques et indispensables aux organismes vivants (**Valko et al., 2007**) lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires. À titre d'exemple, le $\text{NO}\cdot$ joue un rôle dans plusieurs processus physiologiques tels que la protection cardiaque, la régulation de la pression artérielle, la neurotransmission et les mécanismes de défense (**Holmström et Finkel, 2014**). Ces espèces réactives ($\text{O}_2\cdot^-$, H_2O_2 , NO) interviennent aussi dans la maturation, l'hyperactivation des spermatozoïdes et la fusion du spermatozoïde avec l'ovocyte (**Bae et al., 1997**), la signalisation cellulaire et la régulation de nombreux facteurs de transcription tels que l'AP1 (Activator protein-1) et HSF1 (heatshock factor 1) qui activent des gènes protecteurs de la cellule (**Delattre et al., 2005**). Les espèces réactives oxygénées et azotées participent aussi dans la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'immunité et la défense contre les micro-organismes (**Steinbeck et al., 1993**).

I.2.2. Stress oxydant

- **Définition**

C'est la perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, qui se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant soit d'un manque de capacité antioxydante, soit d'une surabondance des RL, nommé stress oxydant (**Biesalski et al., 1997**). Ce déséquilibre pro-oxydant/antioxydant peut avoir une origine exogène : molécules oxydantes, toxines comme les métaux lourds toxiques ou une origine endogène : dysfonctionnements de certaines sources de production et systèmes d'élimination des ROS (**Favier, 2003; Servais, 2004**).

- **Conséquences du stress oxydatif**

Le stress oxydant entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides.

-Dommages oxydatifs à l'ADN

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres. L'attaque de l'ADN va entraîner la modification des bases puriques et pyrimidiques ou des cassures au niveau de la double hélice et des mutations ponctuelles, qui peuvent avoir de

graves conséquences sur la synthèse des protéines et sur la transmission de l'intégrité du patrimoine génétique (**Thanan *et al.*, 2014**).

-Dommages oxydatifs aux lipides

Les lipides sont une cible privilégiée des radicaux libres. Ceux-ci provoquent en effet l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires (principaux constituants des membranes des cellules), mais aussi des organites cellulaires et des noyaux. Ce phénomène est appelé peroxydation lipidique ou lipopéroxydation aboutissant à la formation de LDL oxydées qui sont captées par des macrophages, et forment le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**).

-Dommages oxydatifs aux protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des radicaux libres. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (**Haleng *et al.*, 2007**).

I.3. Antioxydants

I.3.1. Définition

C'est l'ensemble des substances ou molécules capables d'inhiber la production, limiter la propagation ou destruction d'ERO. Les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant l'espèce ou en la piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (**Favier, 2003**).

I.3.2. Système antioxydant

I.3.2.1. Système antioxydant endogène

Les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des radicaux libres tels que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. Alors que les antioxydants non enzymatiques comme le glutathion et l'acide urique (Michiels *et al.*, 1994) jouent le rôle de cofacteur de plusieurs enzymes antioxydants.

I.3.2.2. Système antioxydant exogène

a. Acide ascorbique (vitamine C)

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs des ERO. Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyle), qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Mak *et al.*, 2002).

b. α -tocophérol (vitamine E)

Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situés dans les lipoprotéines et dans les membranes (Delattre *et al.*, 2005). Lors de la peroxydation lipidique, elle va permettre l'inhibition de l'étape de propagation, et ainsi assurer un rôle de protection des membranes contre l'oxydation lipidique (Herrera et Barbas, 2001).

c. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments fabriqués par les végétaux. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène et le lycopène. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet (Causse, 2008).

d. Composés phénoliques

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon *et al.*, 1996 ; He *et al.*, 2008). On les trouve dans les plantes, des racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont

pas strictement indispensables à la vie du végétal, mais ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (**Hynes et O’Coinceanainn, 2004**), contribuant ainsi à la survie de l’organisme dans son écosystème. Le terme phénol englobe environ 10000 composés naturels identifiés (**Hynes et O’Coinceanainn 2001 ; Mochizuki et al., 2001**). L’élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d’au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Kakhlon et Cabantchik, 2002 ; Welch et al., 2002**).

- **Acides phénoliques**

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes dérivées de l’acide hydroxybenzoïque et de l’acide hydroxycinnamique (**Thompsen et Mottola, 1984**).

- **Flavonoïdes**

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés phénoliques (**Seyoum et al., 2006**). Ces derniers possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d’un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (**De Souza et De Giovani, 2004**). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (**Korkina et Afanas’ev, 1997**). Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d’aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides (**Afanas'ev et al., 2001**).

- **Tannins**

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Karamac et Pegg, 2009**). Ils existent dans toutes les parties de la plante : l’écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (**Scalbert, 1991**). Historiquement, le terme tanin

regroupe des composés phénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (Manach *et al.*, 2004). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : tanins hydrolysables et tanins condensés (Monteiro *et al.*, 2004).

e. Mécanisme d'action des polyphénols

Les composés phénoliques agissent comme donneurs de protons ou d'électrons, comme chélateurs de métaux de transition (Márquez-García *et al.*, 2009), et comme inhibiteurs d'enzymes génératrices de radicaux libres et inducteurs de la synthèse d'enzymes antioxydantes (Hennebelle *et al.*, 2004). L'activité antioxydante des composés phénoliques augmente avec le degré de polymérisation et diminue avec le degré de méthylation et de glycosylation au niveau des groupements hydroxyles (Macheix *et al.*, 2005).

- Chélation des métaux

Les composés phénoliques inhibent la formation de radicaux libres par la chélation des métaux tels que : le Cuivre, le Fer et l'Aluminium. Ces ions métalliques renforcent les effets nocifs du stress oxydant, en stimulant la production des radicaux hydroxyles (OH). Ces composés, en chélatant les ions métalliques, forment des complexes de coordination avec ces métaux, en occupant tous les emplacements et peuvent ainsi convertir les ions métalliques en complexes insolubles, empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (Virgili *et al.*, 2001 ; Lee *et al.*, 2004).

- Neutralisation des radicaux libres

Les composés phénoliques sont des piègeurs efficaces de radicaux libres, et ceci grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif contre l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et l'oxygène singulet, selon la réaction suivante : Flavonoïde (OH) + R. → flavonoïde (O.) + RH (Heim *et al.*, 2002). Les flavonoïdes préviennent la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux libres (Havsteen, 2002).

- Inhibition d'enzymes

Les composés phénoliques affectent l'activité de nombreux systèmes enzymatiques impliqués dans le stress oxydant. Certains flavonoïdes comme l'apigénine, la quercétine et la myricétine inhibent la xanthine oxydase, qu'est considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique (Nijveldt *et al.*, 2001).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

La plante *Cyclamen sp* a été récoltée au mois de mars dans la région de Beni Maouche (Bejaia), au village d'El-Djabia, dans le Nord-Est algérien. L'identification a été faite par Dr. Fellah. La partie souterraine (tubercule) est nettoyée, séchée à l'ombre et à la température ambiante puis à l'étuve à une température de 40°C, suivi du broyage et du tamisage. Enfin la poudre de Cyclamen est stockée à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation ultérieure.

II.1.2 Réactifs

Les réactifs utilisés dans cette étude sont : Folin-Ciocalteu, Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Trichlorure de fer (FeCl_3), Acide trichloracétique (TCA), Hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4), Dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4), Ferricyanure ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$), Chlorure ferreux (FeCl_2), Ferrozine, 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH), β - carotène ($\text{C}_{40}\text{H}_{56}$), Tween 40, Acide linoléique ($\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$), Chloroforme (CHCl_3), Hydroxyanisole butylé (BHA), Acide sulfurique (H_2SO_4), Molybdate de diammonium ($\text{H}_8\text{MoN}_2\text{O}_4$), Méthanol (CH_3OH), Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et Acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$).

II.2 Méthodes

II.2.1 Méthode d'extraction

II.2.1.1 Principe

L'extraction des principes actifs est effectuée par l'agitation de 500 mg de poudre dans 50 ml d'acétone à 25% et d'éthanol 25% qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact avec les deux solvants : acétone et éthanol sur une plaque agitatrice pendant 30 minutes à 25 °C. Puis le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes et le surnageant est filtré jusqu'à l'obtention d'une solution limpide qui sera conservée au réfrigérateur.

II.2.1.2. Préparation de la poudre de *Cyclamen sp*

Elle comprend plusieurs étapes depuis la récolte jusqu'à l'obtention de la poudre qui servira aux analyses biochimiques.

a. Séchage

Après avoir bien nettoyé les racines de *Cyclamen*, on procède à leur séchage à l'étuve à une température de 40 °C.

b. Broyage

Après le séchage, l'échantillon sec obtenu est broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.

c. Tamisage

Le tamisage est effectué afin d'obtenir une poudre d'une granulométrie inférieure à 125 µm. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre, fermés hermétiquement pour éviter que la poudre n'absorbe l'humidité, à l'abri de la lumière pour réduire le taux d'oxydation dû à la lumière.

II.2.2 Dosage des polyphénols totaux

a-Principe

Le dosage des polyphénols totaux est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu, en milieu alcalin, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ces hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe molybdo-tungstique bleu. La coloration bleue obtenue est mesurée au spectrophotomètre à 760 nm, l'absorption étant proportionnelle à la quantité de phénols présents (**Ribéreau-Gayon *et al.*, 1968**).

b-Mode opératoire

Une quantité de 0,2ml de l'extrait brut est introduite dans des tubes à essais, à laquelle on ajoute 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Après 3 à 5 minutes, on ajoute 0,4 ml de carbonate de sodium à 7,5%. Les tubes sont agités et incubés pendant 120 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant

l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de matière sèche (mg EAG/100g MS).

II.2.3 Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits a été réalisée par différentes techniques à savoir : l'activité antioxydante totale (TAC), le pouvoir réducteur du fer, le piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir chélateur du fer, la détermination de l'activité inhibitrice du peroxyde d'hydrogène et le test de blanchissement du β -carotène.

II.2.3.1 L'activité antioxydante totale (TAC)

Une quantité de 0,3 ml d'extrait est mise dans des tubes à essais à laquelle on ajoute 3 ml d'une solution contenant de l'acide sulfurique 0,6 M, du phosphate de sodium 28 mM et du molybdate d'ammonium 4 mM. Les tubes sont incubés à 95°C au bain-marie pendant 90 min. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 695 nm.

II.2.3.2 Test de piégeage du radical DPPH

Le pouvoir anti radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH \cdot de l'extrait, est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

Un volume de 500 μ l d'extrait est additionné à 1 ml d'une solution de DPPH (60 μ M dans le méthanol absolu). Le mélange réactionnel est agité au Vortex pendant 1 minute puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à 517 nm. L'activité scavenger est exprimée en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS).

La courbe d'étalonnage réalisé en parallèle dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait de la plante Cyclamen par de l'acide gallique comme contrôle positif.

II.2.3.3 Test de blanchissement du β -carotène

a-Principe

Le β -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de qualité de ces produits (**Bougatef et al., 2009**). Cependant, dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend 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 aqueuse avec pour résultat le blanchiment du β -carotène (**Unten et al., 1997**). La présence des antioxydants comme les polyphénols 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.

b-Mode opératoire

Le test de blanchiment du β carotène a été évalué selon la méthode de **Sun et Ho (2005)**. Une quantité de 2 mg de β -carotène est dissous dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1ml de cette solution dans une fiole contenant préalablement 200 mg Tween 40 et 20 μ l d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapor jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 ml de l'eau oxygénée diluée est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Un volume 0,2 ml de chaque extrait est ajouté à un volume de 4 ml de l'émulsion du β carotène/acide linoléique. Après agitation, l'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à t = 0 min contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène. Les tubes bien fermés sont placés dans un bain-marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à t = 120 min. Le control négatif est constitué de 200 μ l de solvant d'extraction au lieu de l'extrait. L'activité antioxydante (%) des extraits est évaluée en termes de blanchissement du β - carotène en employant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [(AA (120) - Cc (120)) / (Cc (0) - CC (120))] * 100$$

AA (120) : représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min ;

Cc (120) : représente l'absorbance du contrôle à 120 min ;

Cc (0) : représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

II.2.3.4 Pouvoir réducteur

a-Principe

Le pouvoir réducteur est la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Blázovics *et al.*, 2003). En solution, cette forme réduite prend une couleur vert-bleue, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Ferruzzi et Blakeslee, 2007).

b-Mode opératoire

Le test a été déterminé en utilisant la technique d'Oyaizu (1986). 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH= 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$ à 1%). Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, 1 ml d'acide trichloracétique TCA (10%) est ajouté au mélange avant d'être centrifugé à 700 g pendant 10 minutes à température ambiante. 1 ml de surnageant est additionné à 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique ($FeCl_3$, 0.1%). L'absorbance est lue à 700 nm. Une courbe d'étalonnage a été établie pour l'acide gallique dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons.

II.2.3.5 Test de chélation des ions ferreux

a-Principe

Le pouvoir chélateur du fer est une méthode utilisée pour évaluer le pouvoir chélateur d'un extrait donné. En effet, la ferrozine forme avec le fer libre présent dans un milieu réactionnel un complexe ferrozine- Fe^{2+} de couleur violette intense. La quantification de ce complexe par spectrophotométrie à 562 nm dans un milieu de concentration connue en fer, renseigne sur la quantité de fer non chélaté et donc sur la capacité des extraits à chélater cet élément. Plus la coloration de la solution contenant l'extrait testé est claire, plus le pouvoir chélateur est important. (Zhao *et al.*, 2010).

b-Mode opératoire

La capacité chélatrice des extraits a été estimée par la méthode modifiée de **Dinis *et al.* (1994)**. Pour 1 ml de l'extrait, 2,7 ml d'eau distillée et 0,1 ml de chlorure ferreux 2 mM ont été ajoutés. Après 3 min, 200 µl de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) sont additionnées au milieu réactionnel. Le mélange est bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante. L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 562nm. Le contrôle contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol. La capacité de chélation est exprimée en milligramme (mg) équivalent d'EDTA par cent grammes de matière sèche (mg Eq-EDTA/100g MS).

II.2.4 Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type (SD) et l'analyse statistique a été effectuée en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 7. Nous avons effectué une comparaison de moyennes à l'aide du test de Student.

CHAPITRE III : RESULTATS

III.1. Teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus dans l'extrait de *Cyclamen sp.* Les extraits préparés ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV visible, pour leurs contenus en polyphénols totaux.

La quantité des polyphénols correspondante de chaque phase a été exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche (mg EAG/100g MS) (**Annexe I**). Les résultats obtenus par la méthode de Folin-Ciocalteu sont illustrés dans la **Figure 1**.

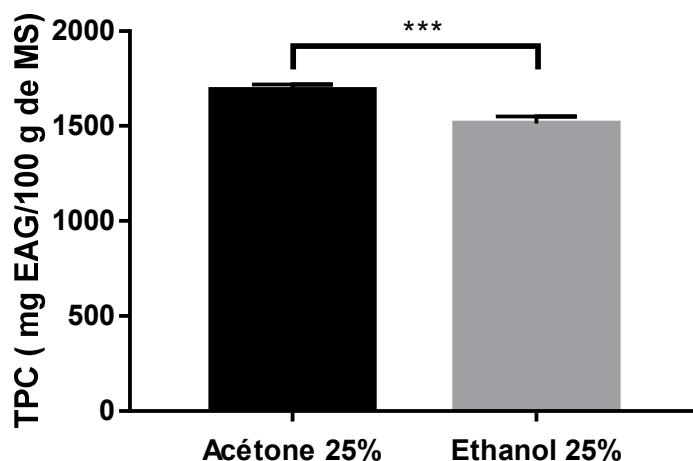


Figure 1 : Teneur en polyphénols totaux (TPC) des extraits de *Cyclamen sp.*

D'après nos résultats, nous remarquons que pour les extraits phénoliques de *Cyclamen sp* obtenus, la teneur la plus élevée en polyphénols totaux est enregistrée pour l'acétone avec une moyenne de $1690,82 \pm 28,450$ mg EAG/100g MS, tandis que pour l'extrait d'éthanol elle est de $1512,58 \pm 38,272$ mg EAG/100g MS. Le test de Student a montré une différence très hautement significative entre les deux extraits ($p < 0,001$).

III.2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés

Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits

pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructive et même nécessaire.

III.2.1. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode du Phosphomolybdène. Les résultats de l'activité antioxydante totale des composées de notre plante *Cyclamen sp* correspondant à sa capacité à inhiber l'oxydation, sont présentés dans la **Figure 2**.

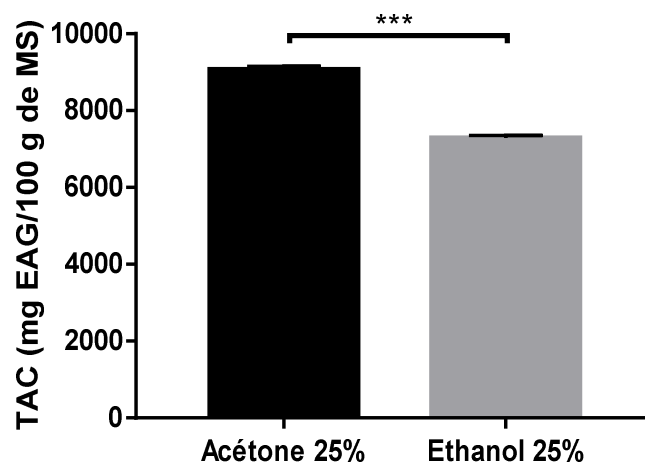


Figure 2 : Capacité antioxydante totale (TAC) des extraits de *Cyclamen sp*.

A partir de cette représentation graphique, l'activité la plus élevée a été enregistrée pour l'extrait acétonique avec une moyenne de $9072,10 \pm 82,51$ mg EAG/100g MS, tandis que l'extrait éthanolique a donné une moyenne de $7289,78 \pm 65,08$ mg EAG/100g MS. L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative entre les deux solvants ($p < 0.001$).

III.2.2. Activité anti-radicalaire au DPPH

Ce test est largement utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, précisément la capacité anti radicalaire des composés phénoliques, en raison de sa stabilité et de la simplicité de l'analyse.

La capacité antiradicalaire des extraits acétonique et éthanolique de *Cyclamen sp* est présentée dans la **Figure 3**.

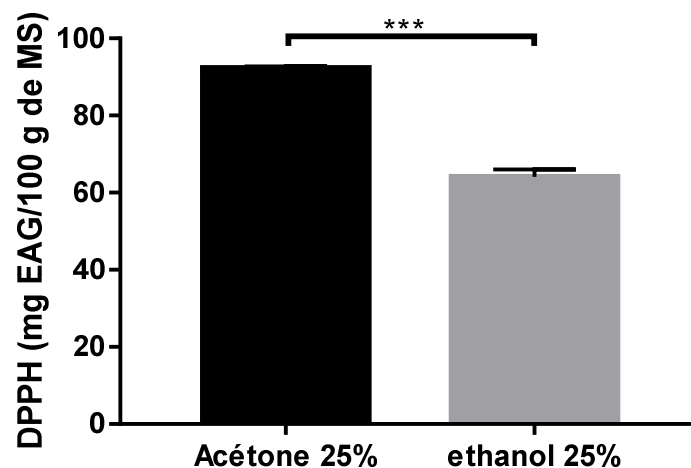


Figure 3 : Activité anti-radicalaire au DPPH des extraits de tubercule de *Cyclamen sp*.

D'après ces résultats, on remarque que les deux extraits de *Cyclamen sp* ont montré un effet scavenging contre le radical DPPH. Sachant que l'activité antiradicalaire de DPPH la plus élevée est enregistrée pour l'acétone avec une moyenne de $92,251 \pm 0,422$ mg EAG/100g MS. Par contre, celle de l'éthanol est de $64,110 \pm 1,913$ mg EAG/100g MS. Le test Student a montré une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre les deux solvants.

III.2.3. Blanchissement du β -carotène

Les résultats de l'inhibition de la décoloration de la solution de β -carotène des extraits sont illustrés dans la **Figure 4**. La cinétique du blanchissement ou de décoloration du β -carotène en présence et en absence des deux extraits de *Cyclamen sp* et une seule référence (BHA), ainsi que les pourcentages d'inhibition de la peroxydation lipidique (%IPL) sont présentés dans la **Figure 5**.

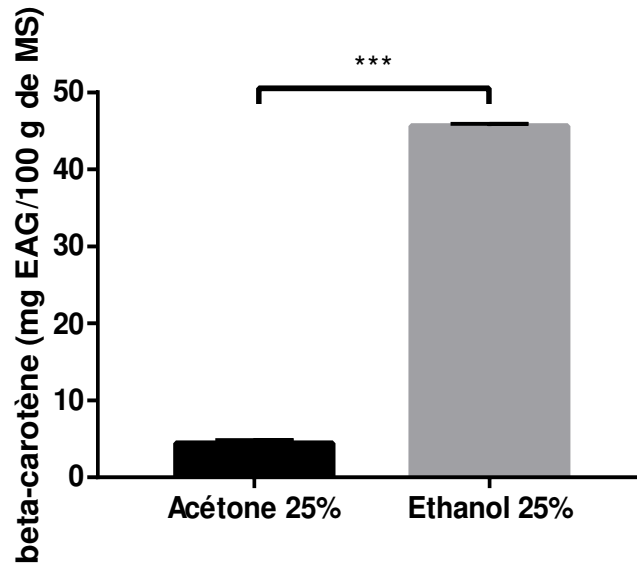


Figure 4 : Test de blanchissement du β -carotène des extraits de *Cyclamen sp.*

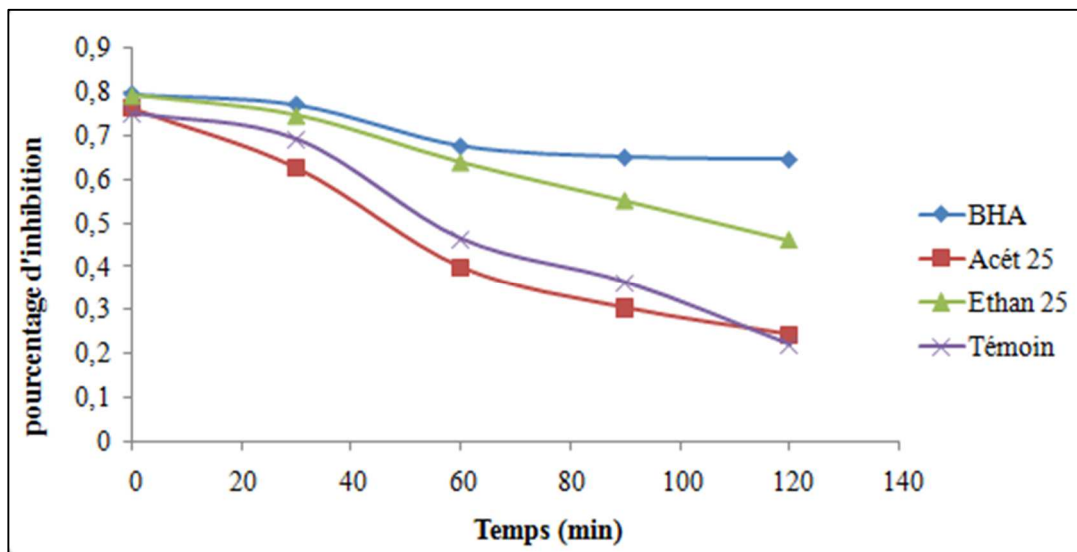


Figure 5 : Cinétique du blanchissement du β -carotène en présence et en absence des extraits de *Cyclamen sp* et de BHA.

D'après les résultats, une très importante activité anti-péroxydation lipidique a été obtenue avec l'éthanol : $45,323 \pm 2,166$ mg EAG/100g MS. Elle est par contre très faible pour l'acétone : $4,080 \pm 1,708$ mg EAG/100 g MS. L'analyse statistique a révélé une différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre l'éthanol et l'acétone.

III.2.4. Pouvoir réducteur

Ce test est un essai simple et reproductible, il est universel et peut être appliqué aux plantes et aux extraits organiques et aqueux.

Le pouvoir réducteur des échantillons de *Cyclamen sp* analysés est présenté dans la **Figure 6**.

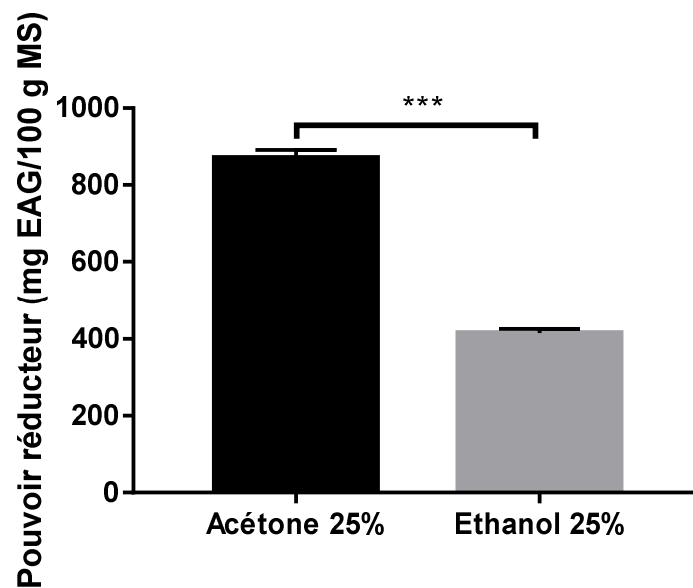


Figure 6 : Pouvoir réducteur des extraits de *Cyclamen sp*.

En se référant aux résultats illustrés ci-dessus, on remarque que le pouvoir réducteur le plus élevé a été enregistré pour l'acétone avec une moyenne de 870,212 ± 20,883 mg EAG/100g MS ; par contre pour l'éthanol est enregistrée une moyenne de 415,321 ± 11,088 mg EAG/100g MS. Le test Student a montré une différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre les deux solvants.

III.2.5. Chélation de fer ferreux

L'activité chélatrice est très importante du fait qu'elle réduit la concentration des métaux de transitions comme le fer et le cuivre impliqués dans la génération de radicaux libres.

L'activité chélatrice des extraits de *Cyclamen sp* est représentée par la **Figure 7**.

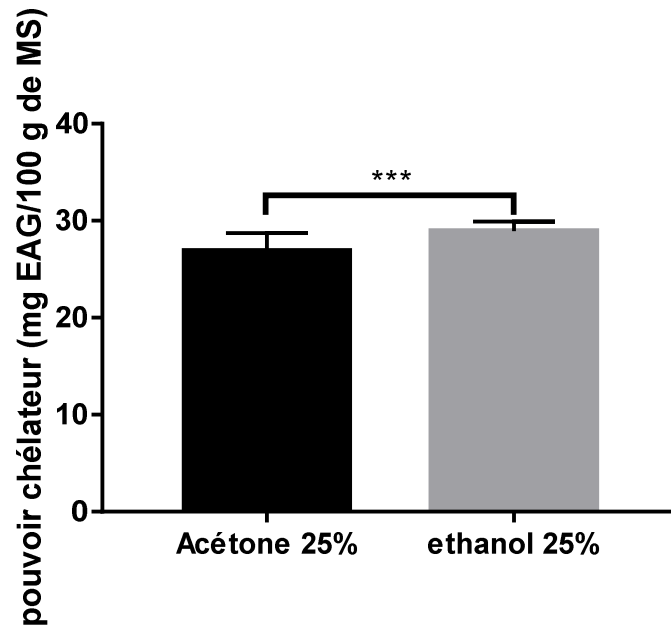


Figure 7 : Activité chélatrice du fer par les extraits de *Cyclamen sp.*

L'activité chélatrice des extraits la plus élevée est obtenue dans le cas de l'éthanol avec en moyenne $28,926 \pm 1,01$ mg EAG/100g MS, suivi par l'acétone avec une moyenne de $26,899 \pm 1,80$ mg EAG/100g MS. L'analyse statistique a indiqué une différence très hautement significative ($p < 0,001$).

CHAPITRE IV : DISCUSSION

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

Le présent travail qui a été réalisé sur la partie souterraine (tubercule) de *Cyclamen sp* a consisté à évaluer quantitativement leur teneur totale en polyphénols et leur activité antioxydante.

L'extraction des composés phénoliques des matrices végétales est une étape cruciale qui dépend de la méthode et du solvant approprié, pour leur quantification et leur classification (**Brun et al., 1992**). Selon **Mokrani (2009)**, l'objectif de l'étape d'extraction des composés phénoliques de la matrice végétale est de libérer ses composés à partir des structures vacuolaires où ils se trouvent, par la rupture du tissu végétal ou par le phénomène de diffusion.

Dans le but d'avoir une bonne extraction, nous avons utilisé une poudre très fine d'un diamètre inférieur à 125 μm pour augmenter la surface d'échange entre le solvant et la poudre (**Jayakumar et al., 2009**). Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et peu solubles dans les solvants organiques apolaires (**Bruneton, 1999 ; Makris et al., 2006**). Les extraits sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés selon l'essai utilisé. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus instructif et même nécessaire (**Ozturk et al., 2007**).

Afin de caractériser les extraits de *Cyclamen sp*, un dosage des polyphénols totaux a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur est attribuée (**Madoui, 2018**). La méthode de dosages des polyphénols totaux est celle de Folin-Ciocalteu (**Ribéreau-Gayon et al., 1968**) l'acide gallique ayant été utilisé comme standard. Le réactif de Folin-Ciocalteu est utilisé pour quantifier les PPT des extraits, se basant sur le mécanisme de transfert d'électrons et la capacité réductrice des phénols. Les niveaux de PPT déterminés ne sont pas des mesures absolues des quantités des phénols du matériel de départ, mais sont en fait basés sur la capacité réductrice relative à une capacité réductrice équivalente d'acide gallique. En effet,

l'absorbance molaire d'un phénol dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles, mais la capacité réductrice est augmentée quand deux groupes hydroxyles d'un phénol sont en position para ou ortho (**Mc Donard et al., 2001 ; Katalinis et al., 2006**). Au cours du dosage des polyphénols, après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue apparaît, ce qui confirme la présence des polyphénols dans les extraits de *Cyclamen sp.*

Le profil polyphénolique des extraits de plantes peut varier sous l'influence de divers facteurs, parmi lesquels la variété, la localisation géographique, les conditions climatiques de croissance, le stade de maturité (**Ryan et al., 1999 ; Anusuya et Manian, 2013**), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (**Perron et Brumaghim, 2009**), la température, le type et la polarité du solvant d'extraction (**Sousa et al., 2006 ; Conde et al., 2009**). La méthode d'extraction et la pureté des composés bioactifs, la granulométrie de l'échantillon, le pH du milieu et la concentration du solvant peuvent aussi influencer le taux d'extraction (**Nour et al., 2013**), ainsi que les techniques d'analyse et le substrat utilisé (**Prior et al., 1998 ; Amin et al., 2004 ; Zhao et al., 2007**). Selon **Alonso et al. (2007)**, la lumière augmente la biosynthèse des composés phénoliques qui s'accumulent dans les cellules des plantes. De plus, le facteur temps d'extraction est une considération très importante, car un temps long augmente la possibilité d'oxydation des composés phénoliques, à moins que des agents réducteurs sont ajoutés dans le système d'extraction (acide ascorbique, bisulfite à raison de 2%) (**Nacz et Shahbi, 2004 ; Obeid et al., 2005**). En outre, des réactions indésirables telles que l'oxydation enzymatique et la polymérisation pourraient être favorisées par un temps d'extraction prolongé.

Les teneurs en composés phénoliques varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi que d'une plante à une autre, et cela peut être expliqué par l'origine de la plante, par la méthode d'extraction (**Djeridane et al., 2013**), mais aussi par la polarité des solvants d'extraction (**Gao et Liu, 2005**). Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques comme le climat, la période de récolte et les conditions de stockage (**Podsędek, 2007 ; Falleh et al., 2008**).

Des études d'optimisation précédentes montrent que 25°C est la meilleure température pour l'extraction et que 30 min est la meilleure condition du temps pour cette expérience.

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autres, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé (**Mahmoudi et al., 2013**).

D'après les résultats que nous avons obtenus au test des polyphénols totaux, l'acétone est considérée comme étant le meilleur solvant pour l'isolement des composés phénoliques. Nos résultats ont montré que la teneur en polyphénols totaux ($1690.82 \pm 28.450 \text{ mgEAG}/100 \text{ g MS}$) était significativement plus élevée. Plusieurs auteurs, comme **Youcefi et al. (2008)**, ont montré que non seulement les organes de la plante diffèrent par leur composition chimique et la nature des polyphénols, mais aussi que chaque plante diffère de l'autre par ces compositions, et que chaque composé chimique est extractible par un solvant approprié. Dans notre étude, l'acétone est le bon solvant pour l'extraction des polyphénols totaux. D'après **Chaalal et al. (2012)**, l'acétone est le solvant le plus adéquat pour extraire les composés phénoliques, ce qui concorde avec les résultats de ce travail.

Les données récentes sur la biodisponibilité et les effets potentiels sur la santé des polyphénols, montrent clairement la nécessité de reconsidérer leur activité antioxydante. Les processus oxydatifs sont multiples et la nature de l'activité antioxydante peut être multiforme et attribuée à différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres, la chélation des ions métalliques de transition, la prévention de l'initiation d'une chaîne de réactions productrices des ERO et la décomposition des peroxydes (**Ozen, 2009**). Ainsi, la combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (**Ksouri et al., 2009**).

A travers ce travail, les extraits aqueux et organiques de *Cyclamen sp* ont été étudiés pour leurs activités antioxydantes en utilisant différentes méthodes basées sur la capacité des composés à piéger des radicaux libres synthétiques (DPPH), en générant des radicaux libres, la peroxydation des lipides (blanchiment du β -carotène), à chélater des métaux de transition (fer) et à tester le pouvoir réducteur de différents extraits.

Le test de DPPH est un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes (**Laguerre et al., 2007**). Cette technique est basée sur l'utilisation des radicaux très stables de DPPH et très utile et efficace à température ambiante en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants pour titrer le groupement oxydable des composés naturels ou synthétiques utilisés comme antioxydants.

L'activité antioxydante des différents extraits de *Cyclamen sp* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée au spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Cette décoloration se fait lorsque l'électron célibataire s'apparie. Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-

picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm, sachant que cette transformation est proportionnelle à la concentration et à l'efficacité de l'antioxydant. La capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires présents dans les extraits phénoliques (**Majhenic et al., 2007**).

Généralement, les polyphénols, avec un nombre élevé de groupements hydroxyles, présentent l'activité antioxydante la plus élevée (**Heim et al., 2002**) due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (**Torres de Pinedo et al., 2007**), ce qui peut expliquer en partie la faible activité antioxydante du tyrosol qui ne possède qu'un seul groupement hydroxyle (-OH) dans sa structure. Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (**Rodriguez-Bernaldo et al., 2009**).

Les résultats de l'activité antioxydante a révélé que les deux extraits de *Cyclamen sp* possèdent une activité anti-radicalaire significative ($p < 0.001$), sachant que l'extrait d'acétone a une activité anti-radicalaire plus forte que l'extrait d'éthanol.

D'après le test au DPPH, quand la concentration des polyphénols augmentent dans le milieu réactionnel, le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'inhibition presque totale du DPPH• présent dans ce milieu.

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β carotène, entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir la décoloration (l'oxydation) et le blanchissement du β carotène dans un système d'émulsion à base d'acide linoléique (**Manallah, 2012**).

D'après les résultats d'inhibition de décoloration de la solution de β -carotène, nous avons remarqué que dans le milieu réactionnel des blancs (Témoin), les pourcentages d'inhibitions diminuent rapidement au cours du temps, alors qu'en présence du standard BHA la diminution est négligeable, et en présence des extraits, la diminution est ralentie pour l'extrait l'éthanol et rapide pour l'extrait d'acétone.

A la lumière de ces résultats le BHA inhibe l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène. Par contre, pour les extraits de *Cyclamen sp*, l'inhibition la plus élevée est enregistré pour l'extrait éthanolique, suivie par l'extrait acétonique. Le standard BHA présente un pourcentage d'inhibition plus important. D'après ce dernier test, l'activité

antioxydante de l'extrait éthanolique est supérieure à celle de l'extrait acétonique. Il existe probablement des différences qualitatives dans la nature des composés phénoliques (qui entrent dans la composition des extraits) influençant le pouvoir antioxydant des extraits (**Sokol-Letowska, 2007**), en plus de la polarité des solvants qui change la capacité de dissoudre un groupement choisi des composés antioxydants, ce qui influence l'évaluation de l'activité antioxydante (**Turkmen et al., 2007**). En effet, les résultats obtenus peuvent être attribués au fait que, la plante le Cyclamen est riche en antioxydants polaires puissants, qui ne permettant pas d'inhiber l'oxydation de l'acide linoléique couplé au β -carotène, car le test de blanchissement du β -carotène est similaire à un système d'émulsion des lipides dans l'eau, d'où les antioxydants apolaires montrent des propriétés antioxydantes et ils se concentrent au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi la prévention de la formation des radicaux lipidiques et l'oxydation du β -carotène (**Frankel et Meyer, 2000**).

Des études récentes ont mis en évidence que la polarité et l'hydrophobicité des agents antioxydants sont deux facteurs importants dans les systèmes de biomembranes (**Terpinc et al., 2009**). C'est la raison par laquelle beaucoup de chercheurs qui travaillent sur l'activité antioxydante choisissent le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β -carotène comme modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (**Ferreria et al., 2006**).

Par contre l'apparition de l'activité antioxydante significative dans le test de DPPH car ce test est indépendant de la polarité des échantillons (**Kartal et al., 2007**) ce qui confirme en grand partie que chaque polyphénol répond différemment dans l'essai mis en œuvre.

Le test du pouvoir réducteur, qui est un essai simple, reproductible, universel et qui peut être appliqué aux plantes et aux extraits organiques et aqueux, met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir de donneurs d'électrons. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**). **Bentabet et al. (2014)** ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de certaines plantes. En effet, la capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Yildirin et al., 2001 ; Yan et al., 2008**). Ce processus d'autoxydation dépend de multiples paramètres tels que la concentration de l'ion métallique et du polyphénol, la température, le pH et la présence d'agents complexants (**Ghedadba et al., 2015**). Quelques études antérieures ont également

montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Jeong et al., 2004**).

Dans la présente étude, en comparant nos résultats du test du pouvoir réducteur du fer dont la capacité réductrice est de 870.212 ± 20.883 mg EAG/100 g avec les valeurs trouvées par **Bouabbache et al. (2018)** et **Himed (2015)**, sachant que le pouvoir réducteur de l'extrait d'acétone est le plus puissant, nous constatons que l'effet réducteur de notre plante est plus remarquable. Ceci peut être expliqué par la forte teneur en composés phénoliques de *Cyclamen sp.* Ces derniers, connus pour leur pouvoir réducteur, sont appelés réductones, et ils sont capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), céder des électrons et transformer les radicaux libres actifs en des produits stables (**Dorman et al., 2004 ; Singh et al., 2006**). Pour le premier auteur, il annonce une capacité réductrice de $0,115 \pm 0$ mg EAG/100 g. Cette différence entre les résultats peut être due à la concentration des extraits et cela était expliqué par l'étude du second auteur, qui a montré que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration en extrait s'élève, ce qui signifie que le pouvoir réducteur augmente avec l'augmentation des concentrations de nos échantillons. L'activité antioxydante des extraits de *Cyclamen*, d'après le test du pouvoir réducteur, a révélé que ces derniers exercent une importante activité.

L'activité chélatrice est très importante du fait qu'elle réduit la concentration des métaux de transition comme le fer et le cuivre impliqués dans la génération de radicaux libres, tels que les catalyseurs de la peroxydation lipidique. Cette activité est faite par les chélateurs qui peuvent prévenir les oxydations. Ces chélateurs forment des composés de coordination avec les métaux en inhibant ainsi le cycle redox du métal ou forment des complexes métalliques insolubles. En effet, le fer peut stimuler l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, et accélère également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxy et alcoxy qui peuvent à leur tour entretenir la réaction de peroxydation lipidique (**Kumaravel et al., 2013**). Les polyphénols sont de bons chélateurs du fer ce qui est un des mécanismes de leur activité antioxydante (**Ferrali et al., 1997**).

La ferrozine complexe le fer (II) et forme un composé rouge magenta (Fe^{2+} -ferrozine) permettant un dosage colorimétrique avec un maximum d'absorption à 562 nm. La formation de ce complexe est perturbée en présence d'agents chélateurs aboutissant à une diminution de la couleur rouge, qui est suivie par spectrophotométrie. La mesure du taux de réduction des couleurs permet d'estimer l'activité chélatrice. Nos résultats montrent que les extraits de *Cyclamen sp* possèdent une activité chélatrice en capturant les ions ferreux avant qu'ils ne soient complexés avec la ferrozine.

En comparant les résultats de l'activité antioxydante totale de la partie souterraine avec celle de la partie aérienne obtenus par (**Mazouz, 2014**) chez *Cyclamen sp*, il ressort que la partie souterraine (tubercule) a une activité plus importante pour l'acétone, avec une moyenne de 9072.10 ± 82.51 mg EAG/100g MS et pour l'éthanol de 7289.78 ± 65.08 mg EAG/100g MS. Cela s'explique probablement par le fait que la partie souterraine contient d'autres composés bioactifs qui jouent un rôle antioxydant mis à part les polyphénols. Par contre, les extraits méthanoliques de la partie aérienne (feuille) obtenus par **Mazouz (2014)** présente une faible activité antioxydante par rapport à celle des extraits éthanoliques et acétoniques de la même plante.

Selon **Prior et al. (2005)**, il n'y a pas de méthode simple et universelle par laquelle l'activité antioxydante est évaluée qualitativement et quantitativement. La combinaison de plusieurs méthodes est nécessaire pour réaliser cette évaluation. Elles sont connues par leur capacité à induire la réaction de Fenton et limiter ainsi la production des EOR (**Engelmann, 2005**). Les résultats variables des activités antioxydantes des polyphénols seraient dus à leur structure et la présence des groupements hydroxyles (**Sharififar et al., 2008**).

Le potentiel antioxydant des polyphénols est désormais munis d'un grand intérêt dû à son effet chimioprotecteur contre les maladies dégénératives telles que les maladies neurologiques et cardiovasculaires ainsi qu'à son effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des denrées alimentaires (**Bubonja-Sonje et al., 2011**). Les antioxydants issus des plantes sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques : ils n'induisent pas d'effets secondaires alors que les antioxydants synthétiques sont génotoxiques (**Rohman et al., 2010**).

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie ou en agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Les plantes médicinales continuent toujours d'être la provenance idéale des métabolites secondaires, ce qui explique leur exploitation accrue en industrie pharmaceutique. Les polyphénols sont les composés végétaux les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours. L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie comme dans le monde. Ceci montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances.

L'objectif principal assigné à cette étude a été d'évaluer les propriétés antioxydantes de la plante *Cyclamen sp* utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement de différentes maladies.

Des études précédentes ont montré que l'extraction par l'acétone à une concentration de 25% et éthanol 25%, une température ambiante de 25°C pendant 30 min d'agitation donne les meilleurs résultats d'extraction.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que le taux des polyphénols dans la partie souterraine de *Cyclamen sp* est important, ce qui implique la présence d'une activité antioxydante forte, si bien que les valeurs des tests du pouvoir réducteur du fer, du piégeage du radical libre DPPH, de l'activité chélatrice des ions ferreux, du piégeage du radical hydroxyle et du test de blanchissement du β -carotène ont été très élevés par rapport aux résultats d'autres travaux.

Enfin, il serait aussi intéressant d'orienter les recherches vers la réalisation des études approfondies afin d'isoler et d'identifier les molécules naturelles responsables de cette forte activité antioxydante. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Faire des travaux supplémentaires pour identifier et isoler les composés bioactifs en utilisant plusieurs techniques plus fines (CCM, HPLC) pour mieux quantifier et identifier les antioxydants de cette plante.

- Approfondir les recherches sur les propriétés pharmacologiques de *Cyclamen sp.*
- Faire des études *in vitro* et *in vivo* pour évaluer d'autres propriétés : antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anticancéreuses et autres.
- Déterminer de nouvelles molécules bioactives naturelles ayant la capacité de répondre aux différents problèmes de la santé et d'être l'alternative aux médicaments synthétiques.
- Etudier la composition chimique de toutes les parties de la plante : tiges, feuilles, fleurs, fruits et racines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afanas'ev I.B., Ostrakhovitch E.A., Mikhal'chik E.V., Ibragimova G.A., Korkina L.G., 2001.** Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals. *Biochemical Pharmacology*. 61(6): 677-684.
- Alonso M., Oliveros A., Calcagno M.P., 2007.** Phenolics and condensed tannins of high altitude *Pteridium arachnoideum* in relation to sunlight exposure, elevation, and rain regime. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35:1-10.
- Amin I., Zamaliah M.M., Chin W.F., 2004.** Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*. 87: 581-586.
- Anonyme, 2009.** Guide illustré de la flore algérienne. *Wilaya d'Alger et Mairie de Paris, avec le soutien du Ministère des Affaires Etrangères et Européennes de la République française*. 51p.
- Anusuya N., Manian S., 2013.** Antioxidant and free radical scavenging potential of different solvent extracts of *Indigofera tinctoria* L. leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 1, 142-147.
- Aziri H., Djenad F., 2017.** Etude comparative de la composition phénolique et de l'activité antioxydante de quelques infusions (Tisane et thé). *Mémoire de Master en Sciences Biologiques. Université de Bejaia*. 36 p.
- Bae Y.S., Kang S.W., Seo M.S., Baines I.C., Tekle E., Chock P.B., Rhee S.G., 1997.** Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. *Journal of Biological Chemistry*. 272 : 217-221.
- Bahroun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Pinkas M., 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*. 46 : 1086-1089.
- Benidiri S., Benmammar S., 2016.** Dosage des Composés Phénoliques et Détermination de L'activité Antioxydante de *Rhamnus alaternus* L et *Malva sylvestris* L. *Mémoire de Master en Sciences Biologiques. Option : Pharmacologie Moléculaire. Université de Bejaia*. 45 p.
- Bentabet N., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., 2014.** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*. 12(6), 364- 371.
- Benyahia H., 2017.** Etude phytochimique et dosage de quelques composés phénoliques des fruits d'*Elettaria cardamomum* et évaluation de son activité antioxydante. *Mémoire de Master en Biologie. Université de Tlemcen*. 39 p.

- Biesalski H.K., Böhles H., Esterbauer H., Fürst P., Gey F., Hundsdörfer G., 1997.** Antioxidant vitamins in prevention. Consensus statement. *Clin. Nutr.* 16: 151-155.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O., 2012.** Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal.* 5(1): 9-19.
- Blázovics A., Lugasi A., Szentmihályi K., Kéry A., 2003.** Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum fectorum* *in vitro* and *in vivo*. *Acta Biologica Szegediensis.* 47(1-4): 99-102.
- Blois M.S., 1958.** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200.
- Bonduel, 1990.** Les plantes bulbeuses. *Larousse. France.* p. 63.
- Bouabbache N., Khouchane D., 2018.** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de certaines plantes Aliaceae. *Mémoire de Master.* Université de Béjaia. 40p.
- Bougandoura N., Bendimerad N., 2012.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L) *Briq Rev. Nature Technologie. B-Sciences Agronomiques et Biologiques.* 9:14-19.
- Bougatef A., Hajji M., Lassoued I., Triki-Ellouz Y., Nasri M., 2009.** Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food. Chem.* 114 : 1198-1205.
- Brun N., Jay M., Merghem R., 1992.** A proposition for the study of phenolic and of legumes, *In: Proceeding of the 1st European Conference on Grain Legumes.* Angers. France. 393-394.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Edition *Tec et Doc. Paris.* 658p.
- Bruneton, J., 2005.** Plantes Toxiques, Végétaux Dangereux Pour L'homme et Les Animaux. *Tec & Doc Lavoisier.* 3^{ème} Edition. 461p.
- Bubonja-Sonje M., Giacometti J., Abram M., 2011.** Antioxidant and anti-listerial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry.* 127 : 1821-1827.
- Causse M., Renard C., 2008.** 2. Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes. *Paris. Ed Quae.* 43-60.
- Cazin F.J., 1868.** Traité Pratique et Raisonné des Plantes Médicinales Indigènes. 3^{ème} Edition. *P. Asselin.* 360p.
- Chaalal M., Touati N., Louaileche H., 2012.** Extraction of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant capacity of prickly pear seeds. *Acta Botanica Gallica.* 159 (4) : 467-475.

- Chu W.L., Lim Y.W., Radhakrishnan A.K., Lim P.E., 2010.** Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 10(53): 2-8.
- Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E., Dominguez H., 2009.** Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*. 114 (3): 806 -812
- De Souza R.F., De Giovanni W.F., 2004.** Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with metal ions. *Redox Report*. 9(2): 97-104.
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D., 2005.** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Edition Lavoisier TEC & DOC Editions Médicales Internationales*. Paris. 548 p.
- Dinis T.C., Madeira V.M., Almeida L.M., 1994.** Action of phenolic derivate (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives Biochemistry and Biophysics*. 315 : 161-169.
- D.G.F., 2003.** Fiche descriptive sur les Zones Humides Ramsar. *Direction Générale des forêts. Ministère de l'Agriculture. Algérie*. 16p.
- Djeridane A., Hamdi A., Bensania W., Cheifa K., Lakhdari I., Yousfi M., 2013.** The *in vitro* evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. *Diabetes & Metabolic Syndrome. Clinical Research & Reviews*. 9: 324-331.
- Dorman H.D., Bachmayer O., Kosar M., Hiltunen R., 2004.** Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52(4):762-770.
- Durand D., Damon M., Gobert M., 2013.** Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 48 : 218-224.
- Emre O., Koc S., Dusen O.D., Mammadov R., Cetin H., 2013.** Larvicidal activity of Cyclamen (Myrsinaceae) extracts against the larvae of West Nile virus vector *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 449-452.
- Engelman M.D., Hutchenson R., Cheng I.F., 2005.** Stability of ferric complexes with 3-Hydroxyflavone (flavonol), 5,7-Dihydroxyflavone (Chrysin) and 3',4'- Dihydroxyflavone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 2953–2950.
- Falleh H., Ksouri, R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331 : 372-379.
- Favier A., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. 108-115.

- Ferrali M., Signorini C., Caciotti B., Sugherini L., Ciccoli L., Giachetti D., Comporti M., 1997.** Protection against oxidative damage of erythrocyte membranes by the flavanoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Letters*. 416: 123– 129.
- Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M.L.M., Araujo M.E.M., 2006.** The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*. 108 : 31-37.
- Fournier P., 1999.** Plantes Médicinales et Vénéneuses de France. Tome II. *Société nationale d'horticulture de France*. 128 p.
- Frankel E.N., Meyer A.S., 2000.** The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 1925-1940.
- Gao M., Liu C.Z., 2005.** Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21: 1461-1463.
- Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., Aberkane M.C., Bousselesla H., Oued Moukhtar S.M., 2015.** Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé ex Coss. *Phytothérapie*. 13(2) : 118 -129.
- Ghimi W., 2015.** Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. *Thèse de Doctorat. Université de Lorraine. France*. 224p.
- Govindarajan R., Vijayakumar M., Rao C.V., Shirwaikar A., Kumar S., Rawat A.K., Pushpangadan P., 2007.** Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Desmodium gangeticum* fractions in carrageenan-induced inflamed rats. *Phytotherapy research*. 21(10) : 975-979.
- Guarrera P.M., Luchese F., Medori S., 2008.** Ethnophytotherapeutical research in the high Molise region (Central Southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 4: 7-18.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P., 2007.** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*. 62 : 628-38.
- Havsteen B.H., 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacological Therapy*. 96 : 67 - 202.
- He Z., Xia W., Chen J., 2008.** Isolation and structure elucidation of phénolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226: 1191-1196

- Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 572-584.
- Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F., 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 1: 3-6.
- Herrera E., Barbas C., 2001.** Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 57: 43-56.
- Himed H., 2015.** Etude des activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune. *Mémoire de Magister. Université de Constantine*. 94p.
- Holmström K.M., Finkel T., 2014.** Cellular mechanisms and physiological consequences of redox dependent signaling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 15(6): 411-421.
- Houghton P.J., 2000.** Use of small scale bioassays in the discovery of novel drugs from natural sources. *Phytotherapy Research*. 14: 419-423.
- Hynes M.J., O’Coinceanainn M., 2001.** The kinetics and mechanisms of the reactions of aluminium (III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and adrenaline. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 84:1-12.
- Hynes M.J., O’Coinceanainn M., 2004.** The kinetics and mechanisms of reactions of iron (III) with caffeic acid, chlorogenic acid, sinapic acid, ferulic acid and naringin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 98: 1457–1464.
- Jayakumar P.A., Thomas P., Geraldine P., 2009.** *In-vitro* antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Innovative Food Science and Emerging Technological*. 10(2) :228-234
- Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K., Ahn D., Lee S.C., 2004.** Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of agricultural and food chemistry*. 52(11):3389-3393.
- Kakhlon O., Cabantchik Z.I., 2002.** The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes1. *Free Radical Biology and Medicine*. 33(8): 1037–1046.
- Karamać M., Pegg R.B., 2009.** Limitations of the tetramethyl murexide assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(14): 6425-6431.
- Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A., 2007.** Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*. 100 : 584–589.

- Katalinis V., Milos M., Kusilic T., Jukic M., 2006.** Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. 94, 550-557.
- Koechlin-Ramonatxo C., 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20(4) :165-177.
- Korkina L.G., Afanas'ev I.B., 1997.** Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol*. 38:151-63.
- Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Bakrouf A., Magné C., Abdelly C., 2009.** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 2083-2091.
- Kumaravel R.S., Maleeka Begumb S.F., Parvathib H., Senthilkumar M., 2013.** Phytochemical screening and in vitro antioxidant activity of ethyl acetate leaf extracts of *Pterocarpus marsupium* Roxb (Fabaceae). *International Journal of Current Science*. 9: 46.
- Laguerre M., Leconte J., Villeneuve P., 2007.** Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lipid. Res.* 46(5):244-82
- Lee J., Koo N., Min D.B., 2004.** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3: 21-33.
- Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J., Cheng S., 2006.** Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry*. 96(2) : 254-260.
- Lismont C., Nordgren M., Van Veldhoven P.P., Fransen M., 2015.** Redox interplay between mitochondria and peroxisomes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 3: 1-19.
- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires Romandes. Lausanne. Suisse*. 192 p.
- Madoui S., 2018.** Activités biologiques des extraits de *Cytisus triflorus*. *Thèse de Doctorat es Sciences. Université Ferhat Abbas. Sétif*. 78 p.
- 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 and Technology*. 9 : 35-40.
- Majhenic L., Kerget M.S., Knez Z., 2007.** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104: 1258–1268

- Mak S., Egri Z., Tanna G., Colman R., Newton G.E., 2002.** Vitamin C prevents hyperoxia-mediated vasoconstriction and impairment of endothelium dependent vasodilation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 282: 2414-2421
- Makris D.P., Kallithraka S., Kefalas P., 2006.** Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19(5) : 396-404.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- Manallah A., 2012.** Activité antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. *Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas. Sétif*. 87p.
- Márquez-García B., Fernández M.Á., Córdoba F., 2009.** Phenolics composition in *Erica* sp. differentially exposed to metal pollution in the Iberian Southwestern Pyritic Belt. *Bioresource Technology*. 100 : 446–451.
- Mazouz W., 2014.** Etude de l'activité antioxydante et anti microbienne des extraits polaire du *Cyclamen africanum* Boiss et Reut. *Mémoire de Magister. Université d'Oum El Bouaghi*. 41p.
- Mc Donald S., Prenzler P.D., Antolovich M., Robards K., 2001.** Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*. 73 : 73-84.
- Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J., 1994.** Importance of Se-glutathione peroxydase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Medical Biology*.17 :235-248.
- Mochizuki M., Yamazaki S.I., Kano K., Ikeda T., 2001.** Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochim. Biophys. Acta -General Subjects*. 1569: 35-44.
- Mokrani A., 2009.** Etude Comparative du Pouvoir Antioxydant de Quelques Alliées. *Mémoire de Master. Université de Bejaia*. 61p.
- Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbel D., 1996.** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. *In : Polyphénols 96. Ed INRA*. 31-35.
- Monteiro M., Farah A., Perrone D., Trugo L.C., Donangelo C., 2004.** Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *Journal of Nutrition*.137: 2196-220.
- Nacz M., Shahidi F., 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054: 95-111.
- Nijveldt R.J., Nood E., Hoorn D., Boelens P.G., Norren K., Leeuwen P., 2001.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*. 74: 418-425.

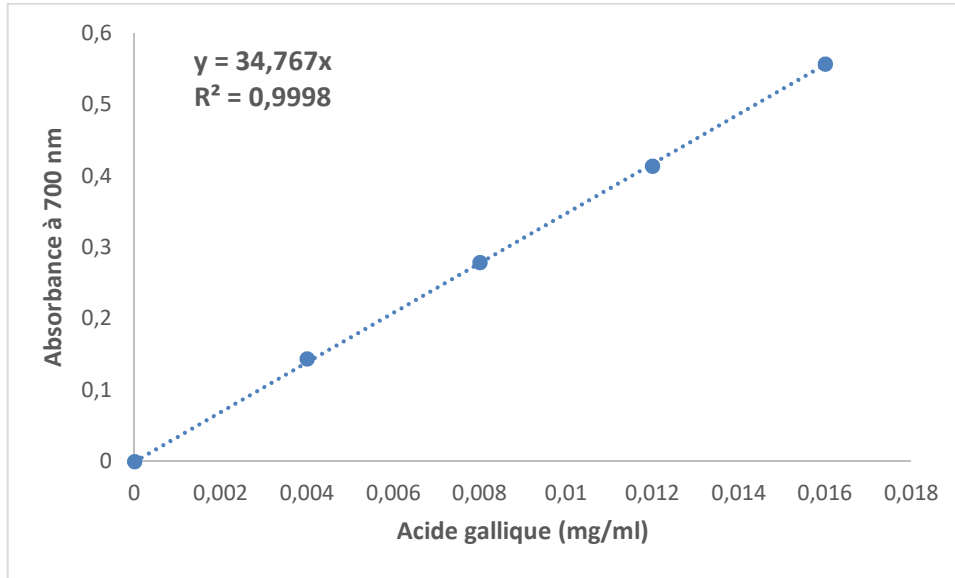
- Nour V., Stampar F., Veberic R., Jakopic J., 2013.** Anthocyanins profile, total phenolics and antioxidant activity of black currant ethanolic extracts as influenced by genotype and ethanol concentration. *Food Chemistry*. 141: 961–966.
- Obeid H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D. et Robards K., 2005.** Investigation of Australian olive mill waste for recovery of biophenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 9911-9920.
- OMS, 2008.** Statistiques sanitaires mondiales. Données de l'Observatoire de la santé mondiale. *Bibliothèque de l'Organisation Mondiale de la Santé*. 119p.
- Oyaizu M., 1986.** Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 44(6) :307-315.
- Ozen T., 2009.** Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts. *Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research*. 66 (2): 187-193.
- Ozturk M., Aydogmus-Ozturk F., Duru M.E., Topcu G., 2007.** Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem*. 103: 623-630.
- Pawar H.A., Shenoy A.V., Narawade P.D., Soni P.Y., Shanbhag P.P., Rajal V.A., 2011.** Preservatives from Nature: A Review. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*. 1(2): 82-83.
- Perron N.R., Brumaghim J.L., 2009.** A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 53(2), 75-100.
- Pierangeli G., Vital G., Rivera W., 2009.** Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata*. *Medicinal plants*. 3 (7): 511-518.
- Pieroni A., Quave C.L., Santoro R.F., 2004.** Folk Pharmaceutical knowledge in the Territory of the Dolomiti Lucane, Inland Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*. 95 : 373–384.
- Pisoschi A.M., Pop A., 2015.** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97: 55-74.
- Podsędek A., 2007.** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT. Food Science and Technology*. 40: 1-11
- Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Ehlenfeldt M., Kalt W., Krewer G., Mainland C.M., 1998.** Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of Vaccinium Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 2686-2693.

- Prior R.L., Wu X., Chaish K., 2005.** Standardized Methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 53: 4290–4302.
- Quézel P., Santa S., 1963.** Nouvelle Flore de l'Algérie et Des Régions Désertiques Méridionales. Tome II. *Centre Nationale de La Recherche Scientifique*. 722 p.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribéreau-Gayon P., 1968.** Sciences et techniques du vin. Tome 1. *Edition Dunod. Paris*. 671p.
- Rodriguez-Bernaldo de Quirs A., Lage-Yusty M.A., Lopez-Hernandez J., 2009.** HPLC-analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International*. 42 : 1018-1022.
- Rohman A., Triyana K., Sisindari S., Erwanto Y., 2011.** Differentiation of lard and other animal fats based on triacylglycerols composition and principal component analysis. *International Food Research Journal*. 19(2):475-479
- Ryan M.T., Muller H., Pfanner N., 1999.** Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry*. 274(29), 20619-20627.
- Sanchez-Moreno C., 2002.** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food. Sci. Tech. Int.* 8(3): 121-137.
- Sarikurkcü C., 2011,** Antioxidant Activities of Solvent Extracts from Endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. Tubers and Leaves. *African Journal of Biotechnology*. 10(5): 831-839.
- Scalbert A., 1991.** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 30: 3875-3883.
- Servais S., 2004.** Altération mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effet de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse de Doctorat de l'Université Claude Bernard. Lyon. p. 17-40.
- Seyoum A., Asres K., El-Fiky F.K., 2006.** Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058–2070.
- Sharifa A.A., Neoh Y.L., Iswadi M.I., Khairul O., Abdul Halim M., Jamaludin M., Mohamed Azman A.B., Hing H.L., 2008.** Effects of methanol, ethanol and aqueous extract of *Plantago major* on Gram positive bacteria, Gram negative bacteria and yeast. *Annals of microscopy*. 8: 41– 44.
- Singh J., Upadhyay A., Bahadur A., Singh B., Singh K., Rai M., 2006.** Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata). *Scientia Horticulturae*. 108(3): 233-237.

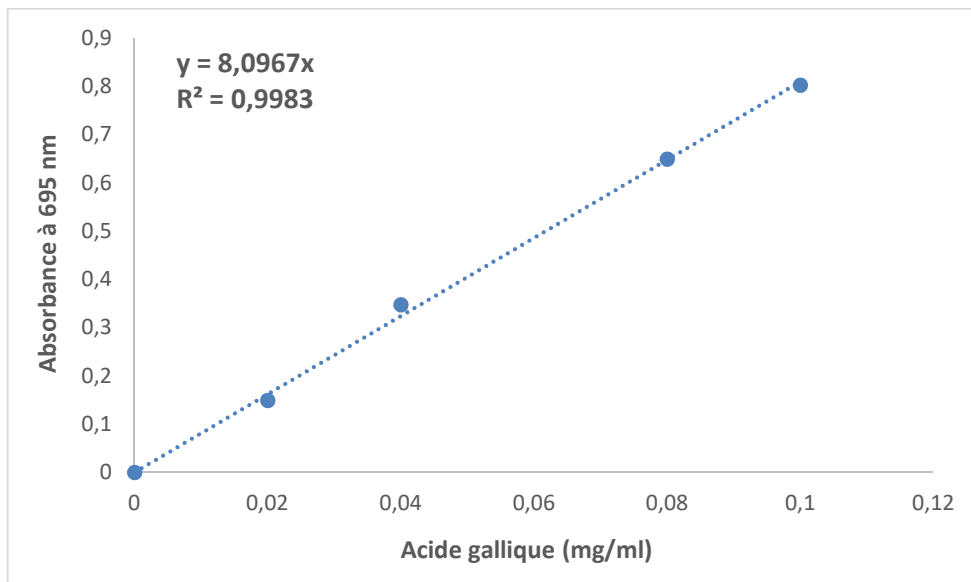
- Sokol-Letowska A., Oszmiansk J., Wojdylo A., 2007.** Antioxydant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry*. 103, 853-859.
- Sousa R., Dias S., Antunes C., 2006.** Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia*. 559: 135-148.
- Speroni E., Cervellati R., Costa S., Dall'Acqua S., Guerra M.C., Panizzolo C., Utan A., Innocenti G., 2007,** Analgesic and anti-inflammatory activity of *Cyclamen repandum* S. et S. *Phytother. Res.* 21(7) : 684-9.
- Steinbeck M.J., Khan A.U., Karnovsky M.J., 1993.** Extracellular production of singlet oxygen by stimulated macrophages quantified using 9, 10-diphenylanthracene and perylene in a polystyrene film. *The Journal of Biological Chemistry*. 268(21): 15649-15654.
- Sugiyama M., Saito H., Ichida H., Hayashi Y., Ryuto H., Fukunishi N., Terakawa T., Abe T., 2008,** Biological Effects of Heavy-Ion Beam Irradiation on Cyclamen. *Plant Biotechnology*. 25: 101–104.
- Sun T., Ho C.H., 2005.** Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food chemistry*. 90:743– 749.
- Takamura T., Aizawa M., Kim S.Y., Nakayama M., Ishizaka H., 2005.** Inheritance of Flower Pigment in Crosses between Cyclamen Cultivars and *Cyclamen purpurascens*. *Acta Horti*. 673: 437-441;
- Terpinc P., Bezjak M., Abramovic H., 2009.** A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*. 115 : 740-744.
- Thanan R., Oikawa S., Hiraku Y., Ohnishi S., Ma N., Pinlaor S., Murata M., 2014.** Oxidative stress and its significant roles in neuro degenerative diseases and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 193-217.
- Thompson J.C., Mottola H.A., 1984.** Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical Chemistry*. 56(4): 755-757.
- Toro J., Rodrigo R., 2009.** Oxidative stress: basic overview. *In: Rodrigo R. Oxidative stress and anti-oxidants: their role in human disease. First Edition. Nova Biomedical Books. New York. 124p.*
- Torres de Pinedo A., Pen Alver P., Morales J.C., 2007.** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidant: structure-activity relationship. *Food Chemistry*. 103 : 55-61.
- Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F., Polat G., 2007.** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. 12: 484-496.
- Unten L., Koketsu M., Kim M., 1997.** Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on β -carotene. *J. Agr. Food. Chem.* 45: 2009-2019.

- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J., 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39(1): 44-84.
- Virgili F., Scaccini C., Packer L., Rimbach G., 2001.** Antioxidants and health: Cardiovascular disease and nutritional phenolics. *In : Antioxidants in Food Practical Applications. Ed. CRC Press LLC. North and South America.* 87-96.
- Welch K.D., Davis T. Z., Aust S.D., 2002.** Iron Autoxidation and Free Radical Generation: Effects of Buffers, Ligands, and Chelators. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 397(02): 360–369.
- Yan J., Guo J., Yuan J., 2008.** *In vitro* antioxidant properties of rutin. *LWT*. 41: 1060-1066.
- Yildirim A., Mavi A., Kara A.A., 2001.** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49:4083-4089.
- Yousfi M., Djeridane A., Khacheba I., 2008.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'alpha -amylase. *Mémoire d'Ingénieur d'Etat en biologie. Université de Laghouat.*74 p.
- Zhao X., Iwamoto T., Carey E.E., 2007.** Antioxidant capacity of leafy vegetables as affected by high tunnel environment, fertilisation and growth stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87: 2692-2699.
- Zhao S., Zhao X., Su H., Liu X., Suo X., 2010.** Development of MTT assay for the detection of peripheral blood T cell proliferation of swine. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*. 37(12): 35-38.

ANNEXES



Annexe 1 : Courbe d'étalonnage pour le pouvoir réducteur



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage pour l'activité antioxydante totale

Résumé

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique courante depuis des millénaires. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles comme les polyphénols qui sont des métabolites secondaires de végétaux abondants dans l'alimentation.

Notre étude s'articule autour du dosage des composés phénoliques obtenus à partir des extraits de tubercules de *Cyclamen sp* (Primulaceae), et la détermination de l'activité antioxydante qui a été évaluée en utilisant les tests suivants : l'activité antioxydante totale, le DPPH, le blanchissement du β -carotène, le pouvoir réducteur et la chélation du fer, en utilisant deux solvants de différentes polarités : l'acétone et l'éthanol.

La teneur en polyphénols révèle leur existence dans tous les extraits de *Cyclamen sp*, l'extrait acétonique étant le plus riche en composés phénoliques avec une valeur de **1690.82 \pm 28.450 mg EAG/100g MS**. Ainsi, le résultat le plus remarquable de l'activité antioxydante a été enregistré pour l'extrait acétonique avec une moyenne de **9072.10 \pm 82.51 mg EAG/100g MS**. Le piégeage du radical DPPH et l'activité réductrice du fer sont plus intéressants aussi pour l'extrait acétonique. Par contre, l'activité chélatrice du fer la plus importante a été enregistrée pour l'extrait éthanolique.

Mots clés : *Cyclamen sp*, Polyphénols, Activité antioxydante, Extrait acétonique, Extrait éthanolique.

Abstract

The use of plants for therapeutic purposes has been common practice for millennia. A large part of the interest of current research relates to the study of natural antioxidant molecules such as polyphenols which are secondary metabolites of plants abundant in food.

Our study revolves around the determination of the phenolic compounds obtained from extracts of the tuber of *Cyclamen sp* (Primulaceae), and the determination of the antioxidant activity which was evaluated using the following tests : total antioxidant activity, DPPH, β -carotene bleaching test, reducing power and iron chelation, using two solvents of different polarities: acetone and ethanol.

The content of polyphenols reveals their existence in all extracts of *Cyclamen sp*, knowing that the acetone extract is the richest in phenolic compounds with a level of 1690.82 \pm 28.450 mg EAG / 100g DM. Thus, the most remarkable result of antioxidant activity was recorded for the acetonic extract with an average of 9072.10 \pm 82.51 mg EAG / 100g MS. The scavenging of the DPPH radical and the iron reducing activity are also more interesting in the acetonic extract. In contrast, the best iron chelating activity was recorded in the ethanolic extract.

Key words : *Cyclamen sp*, Polyphenols, Antioxidant activity, Acetonic extract, Ethanolic extract.

المخلص

كان استخدام النباتات للأغراض العلاجية ممارسة شائعة لآلاف السنين. مع العلم أن جزءًا كبيرًا من الاهتمام بالبحوث الحالية يتعلق بدراسة جزيئات مضادات الأكسدة ذات الأصل الطبيعي مثل البوليفينول وهي نواتج ثانوية للنباتات المتوفرة في الغذاء.

تدور دراستنا حول فحص المركبات الفينولية التي تم الحصول عليها من مستخلصات الجزء الجوفي (درنة) من نبتة \square بز الذيب "سيكلامان" التي تنتمي إلى عائلة Primulaceae، وتحديد نشاط مضادات الأكسدة التي تم تقييمها باستخدام الاختبارات التالية : النشاط الكلي لمضادات الأكسدة، \square تبار DPPH، \square تبار التبييض بيتا كاروتين، قوة أرجاع الحديد، واستخلاص الحديد، وذلك باستخدام مذيبات مختلفة القطبية : الأسيتون والإيثانول.

يكشف محتوى البوليفينول عن وجوده في جميع مستخلصات نبتة \square بز الذيب، مع العلم أن مستخلص الأسيتون هو الأغنى في المركبات الفينولية بمستوى 1690.82 ± 28.450 ملغ تكافئ حمض الفاليك / 100غ من المادة الجافة. وبالتالي، تم تسجيل النتيجة الأكثر بروزًا للنشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الأسيتون بمتوسط 9072.10 ± 82.51 ملغ تكافئ حمض الفاليك / 100غ من المادة الجافة. يعتبر احتجاز جذر DPPH ونشاط قوة أرجاع الحديد أكثر \square ارة للاهتمام في مستخلص الأسيتون. في المقابل، تم تسجيل نشاط مخلب الحديد في المستخلص الإيثانولي.

الكلمات المفتاحية : نبتة \square بز الذيب "سيكلامان"، بوليفينول، نشاط مضاد للأكسدة، \square لاصة الأسيتون، \square لاصة إيثانول.