



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BOURJ BOU ARRERIEJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BOURJ BOU ARRERIEJ

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 بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض 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



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BOURJ BOU ARRERIEJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BOURJ BOU ARRERIEJ

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Thème

**Etude de l'activité antioxydante de**

***Rhamnus alaternus L.***

Présenté par : GUENDOUZ Raihana  
SAIDI Sabrine

Devant le jury :

**President:** M<sup>r</sup> ZIAD Abd El Azziz MAA Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

**Encadrant :** M<sup>me</sup> BOUSSAHEL Soulef MCB Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

**Examineur :** M<sup>me</sup> BENOUDAH Zohra MCB Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

Année universitaire : 2017/2018

# Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction ..... 1

## Partie bibliographique

### Chapitre I

#### Systeme oxydant, stress oxydant et système antioxydant.

1. Le système oxydant .....	3
1.1. Les espèces réactives de l'oxygène.....	3
1.2. Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène.....	3
1.2.1. L'anion superoxyde.....	3
1.2.2. Le peroxyde d'hydrogène.....	4
1.2.3. Le radical hydroxyle HO <sup>•</sup> .....	4
1.2.4. Radicaux alkyles R <sup>•</sup> et peroxyde ROO <sup>•</sup> .....	4
1.2.5. L'oxygène singulet ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> ).....	5
1.2.6. Le monoxyde d'azote NO .....	5
1.3. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire .....	5
1.3.1. La phagocytose.....	5
1.3.2. La signalisation cellulaire.....	6
2. Le stress oxydant .....	6

2. 1. Conséquences biochimiques du stress oxydant .....	6
2.1.1. Oxydation de l'ADN .....	6
2.1.2. Oxydation des protéines .....	7
2.1.3. Peroxydation des lipides.....	7
3. Système de défenses antioxydant .....	7
3.1. Le Système antioxydant enzymatique .....	7
3.1.1. Les superoxydes dismutases.....	7
3.1.2. Catalase .....	8
3.1.3. Glutathion peroxydase (GPX).....	8
3.2. Le système antioxydant exogène .....	8
3.2.1. Vitamine E.....	9
3.2.2. Vitamine C .....	9
3.2.3.β carotène .....	9
3.2.4. Sélénium.....	9
3.2.5. Les polyphénols.....	10

## **Chapitre II**

### **Les métabolites secondaires**

1. Généralité sur les métabolites secondaires:.....	11
2. Structure des composés polyphénoliques .....	12
2.1. Composés polyphénoliques simples .....	12
2.1.1. Les acides phénoliques.....	12
2.1.2. Les stilbénes C6-C2-C6 .....	12
2.1.3. Les lignanes (C6-C3) <sup>2</sup> .....	12
2.1.4. Les coumarines C6-C3 .....	12
2.2. Composés polyphénoliques complexe.....	13
2.2.1. Les flavonoïdes .....	13
2.2.2. Les tanins.....	14
3. Biosynthèse des polyphénols.....	14

3.1. La voie de Shikimate .....	14
3.2. La voie de l'acétate malonate .....	14
4. Activité antioxydante.....	15
4.1. Piégeage des radicaux libres .....	15
4.2. Chélation des ions métalliques .....	16

## **Chapitre III**

### **Propriétés biologiques de *Rhamnus alaternus* L.**

1. Propriétés botaniques.....	17
1.1. Généralités .....	17
1.2. Classification .....	17
1.3. Nomenclature.....	17
1.4. Caractéristiques morphologiques.....	18
1.5. Ecologie et répartition géographique.....	18
2. Usage traditionnel.....	19
3. Propriétés biochimiques .....	19

## **Partie expérimentale**

### **Matériels et Méthodes**

1. Matériels .....	21
1.1. Matériel végétal .....	21
1.2. Appareils et produits chimiques .....	21
2. Méthodes .....	22
2.1. Préparation des extraits.....	22
2.2. Analyse chimique .....	25
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	25
2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	26
2.3. Etude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	27
2.3.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	27

2.3.2. Test du pouvoir réducteur des ions de fer (FRAP).....	29
3. Analyses statistiques .....	30

## **Résultats et discussion**

1. Rendements des extractions .....	31
1.1. La macération .....	32
1.2. La décoction.....	32
2. Caractérisation quantitative des extraits de la plante .....	33
2.1. Teneur en polyphénols totaux.....	33
2.2. Teneur en flavonoïdes totaux.....	35
3. L'activité antioxydante et antiradicalaire .....	38
3.1 Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de <i>R alaternus</i> par le test de DPPH (effet scavenger) .....	38
3.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power).....	45
Conclusion et perspectives .....	47

## Références bibliographiques

## *Remerciement*

*Tout d'abord, Nous remercions DIEU tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail*

*Nous remercions vivement*

*Mme. Boussahel Soulef doctorante de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Bordj Bou Arreridj qui nous a encadré et qui nous a permis de réaliser ce modeste travail sous sa direction.*

*Nous remercions également*

*Mr, Ziad, A Doctorant à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de de Bordj Bou Arreridj d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions*

*Mme. Benouadah, Z doctorante à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Bordj Bou Arreridj d'avoir accepté d'examiner modeste travail.*

*Un remerciement spécial*

*Au chef des laboratoires universitaires de de Bordj Bou Arreridj Mr. Makhokh, A et aux ingénieurs, en particulier Fouad, Khalil et Wassima pour leurs aides.*

*Nous remercions également*

*Mr. Ben Youssef et Mr. Fellahi maître assistants à l'université de de Bordj Bou Arreridj pour leurs soutiens et encouragements.*

*Nous remercions nos camarades et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

*Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci à tous.*

## *Dédicace*

*A mes très chers parents, que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours aidés dans ma vie et qui n'ont cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé. Acceptez ce travail comme le témoignage de mon profond amour et mon attachement indéfectible.*

*À mes chers frères chacun de son nom.*

*À mes belles sœurs et à ma grande sœur Allah yerhemha.*

*A ma belle famille et spécialement Laïla.*

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

*À mes chères amies ; Assia, Chiraz, Hanane, Iman, Karima, Linda et Touta qui ont toujours encouragée, et avec qui j'ai passée des années inoubliables.*

*Je dédie toute les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit de primaire, du moyen, du secondaire, ou de l'enseignement supérieure.*

*Raihana*

## *Dédicace*

*A mes très chers parents*

*Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.*

*Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements.*

*Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation.*

*Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie plein de santé et de bonheur !*

*A mon mari Mr YUCEF S.*

*Merci d'être toujours là pour moi, merci de m'avoir supportée, tu me redonne toujours confiance en moi. Que dieu te bénisse, te donne la force et le courage.*

*A mon futur bébé que j'attends avec impatience.*

*A mes très chères sœurs et mes chers frères.*

*KHALISSA, CHAHRA ZED, LAJD, ISHAK.*

*Pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.*

*A mon cher neveu et mes chères nièces.*

*A mon binôme Raïhana qui est partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.*

*A la mémoire de mes grands parents qui aurait été si fière de moi aujourd'hui.*

*A mes amies et collègues et surtout ma meilleur amie Kenza et sans oublié son petit garçon.*

*Sabrine*

## ملخص

Rhamnus alaternus L. هي شجيرة تنتمي إلى عائلة Rhamnaceae ؛ إنه نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. تم نقع الجزء الهوائي من النبات (الأغصان والأوراق) في الإيثانول في أربعة مستخلصات مختلفة (100% ، 70% ، 30% ، 0%). والغليان في الماء المقطر (مستخلص مائي). يظهر المستخلص المائي والمستخلص 70% غللاً مهمة هي 29% و 27% على التوالي (م / م). تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu ، فكان في المستخلص 100% ( $169.6 \pm 0.642 \mu\text{g EAG / mg}$ ) وفي المستخلص 70% ( $\mu\text{g EAG / mg}$ ) ، تم تقييم مركبات الفلافونويد بواسطة استخدام كلوريد الألومنيوم  $\text{AlCl}_3$  ، والمحتوى مرتفع بشكل ملحوظ في المستخلص 70% ( $190 \pm 3.14 \mu\text{g EQ / mg}$ ). تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتين مختلفتين: طريقة كسح الجذور الحرة DPPH والحد من ferrocyanide البوتاسيوم FRAP. بالنسبة للاختبار الأول المستخلص 70% يعبر عن نشاط ممتاز مع  $\text{IC}_{50}$  ( $9.72 \pm 1.96 \mu\text{g/ml}$ ). بالنسبة للاختبار الثاني ، فإن تركيز مكافئ حمض الأسكوربيك من المركبات المختزلة مرتفع بشكل ملحوظ في المستخلص 70% ( $156.66 \mu\text{g EAA / mg}$ ) من المستخلص). سمحت لنا نتائج هذا العمل بأن نؤكد أن جميع مستخلصات النبات التي خضعت للدراسة لها خصائص مضادة للأكسدة جيدة جداً يمكن أن تسمح لنا بالتوصية بها في مجال التكنولوجيا الحيوية.

كلمات مفتاحية: مضاد الأكسدة، Rhamnus alaternus L. ، عديد الفينول، DPPH ، FRAP.

## Résumé

*Rhamnus alaternus* L. est un arbuste qui appartient à la famille des *Rhamnaceae*. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. La partie aérienne de la plante (rameaux et feuilles) a été soumise à une macération dans l'éthanol en quatre extraits différents (100%, 70%, 30%, 0%) et à une décoction dans l'eau distillée (extrait aqueux). Les extraits aqueux et l'extrait 70% présentent les rendements importants qui sont de 29% et 27% respectivement (m/m). La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de  $169,6 \pm 0,642$  (Extrait 100%) et  $154,4 \pm 0,642$  (Extrait 70%)  $\mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium  $\text{AlCl}_3$ , la teneur est remarquablement très élevée dans l'extrait 70% ( $190 \pm 3,14$   $\mu\text{g EQ /mg}$  d'extrait). L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes: la méthode de piégeage de radical libre DPPH et la réduction du ferrocyanure de potassium FRAP. Pour le premier test; l'extrait 70% exprime une excellente activité avec une  $\text{IC}_{50}$  de  $9,72 \pm 1,96$   $\mu\text{g/ml}$ . Pour le second test la concentration équivalente en acide ascorbique des composés réducteurs est remarquablement très élevée dans l'extrait 70% ( $156,66$   $\mu\text{g EAA / mg}$  d'extrait). Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits de la plante étudiée présentent de très bonnes propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

**Mots clés:** antioxydant, *Rhamnus alaternus* L., polyphénols, DPPH, FRAP.

## Abstract

*Rhamnus alaternus* L. is a shrub that belongs to the family Rhamnaceae. It is a medicinal plant widely used in traditional medicine in Algeria. The aerial part of the plant (twigs and leaves) was macerated in ethanol in four different extracts (100%, 70%, 30%, 0%) and a decoction in distilled water (aqueous extract). The aqueous extracts and 70% extract show significant yields which are 29% and 27% respectively (m / m). The total polyphenol content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is  $169.6 \pm 0.642$  (100% extract) and  $154.4 \pm 0.642$  (70% extract)  $\mu\text{g EAG} / \text{mg}$  of extract. The flavonoids were evaluated by the method using  $\text{AlCl}_3$  aluminum chlorides, the content is remarkably very high in the 70% extract ( $190 \pm 3.14 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  of extract). The antioxidant activity was evaluated using two different methods: the DPPH free radical scavenging method and the reduction of FRAP potassium ferrocyanide. For the first test; the 70% extract expresses an excellent activity with an  $\text{IC}_{50}$  of  $9.72 \pm 1.96 \mu\text{g} / \text{ml}$ . For the second test the ascorbic acid equivalent concentration of the reducing compounds is remarkably very high in the 70% extract ( $156.66 \mu\text{g EAA} / \text{mg}$  of extract). The results of this work allowed us to affirm that all the extracts of the plant studied have very good antioxidant properties that could allow us to recommend them in biotechnology.

**Key words :** antioxidant, *Rhamnus alaternus* L., polyphenols, DPPH , FRAP

## Liste des abréviations

- ADN :** Acide désoxyribonucléique
- BHT:** Butylhydroxytoluène
- CI<sub>50</sub>:** Concentration inhibitrice 50%
- Cl<sup>-</sup> :** Ion chlore
- DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- EAA:** Equivalent en acide ascorbique
- EAG:** Equivalent en acide gallique
- Extrait Aq:** Extrait aqueux
- EQ:** Equivalent en quercétine
- ERO:** Espèces réactives de l'oxygène
- FCR:** Folin-Ciocalteu
- Fe<sup>2+</sup>:** Ion ferreux
- Fe<sup>3+</sup>:** Ion ferrique
- FeCl<sub>3</sub>:** Chlorure de fer
- FRAP:** Pouvoir réducteur du fer
- FT:** Flavonoïdes totaux
- GPx:** Glutathion peroxydase
- GSSG:** Glutathion oxydé
- H<sup>+</sup>:** Proton
- HO<sup>•</sup>:** Radical hydroxyle
- HOCl:** Acide hypochlorique
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peroxyde d'hydrogène
- K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>:** Ferricyanide de Potassium

**M/M:** Masse par masse

**NADH:** Nicotinamide adénine dinucléotide d'hydrogène

**NADPH:** Nicotinamide-Adénine-dinucléotide-Phosphate

**NO<sup>•</sup>:** Oxyde nitrique

**NOS:** NO synthase

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>:** Oxygène singulet

**O<sub>2</sub>:** Oxygène

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>:** Anion superoxyde.

**ONOO:** peroxydinitrite

**PARF:** Partie aérienne rameaux et feuilles

**PPT:** Polyphénols totaux

**R<sup>2</sup>:** Coefficient de corrélation

**R<sup>•</sup>:** Radical alkyles

**ROO<sup>•</sup>:** Radical peroxyde.

**ROS:** Reactive oxygen species

**SD:** Standard deviations

**SH :** Groupement sulfhydryle

**SOD:** Superoxyde dismutase

**TCA:** Acide trichloroacétique

**α-TO<sup>•</sup>:** Radical tocophéryle

**α-TOH:** Alpha-tocophérol

**µg /ml:** Microgramme par millilitre

## Listes des figures

Figure 1: Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen et al., 1990).....	8
Figure 2: Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes (Fraga & Oteiza, 2011).....	13
Figure 3: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques. ....	15
Figure 4 : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (Amic et al., 2003). ....	16
Figure 5: <i>Rhamnus alaternus</i> L. (Penzig, 1902). ....	18
Figure 6: Structures chimiques de quelques flavonoïdes de <i>R. alaternus</i> . ....	20
Figure 7: Protocole de préparation de l'extrait aqueux. ....	23
Figure 8: Protocole de préparation de l'extrait éthanolique. ....	24
Figure 9: Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Mohammedi, 2006).....	27
Figure 10: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH). ....	29
Figure 11: Comparaison des rendements des cinq extraits de <i>R. alaternus</i> . ....	31
Figure 12: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux. ....	33
Figure 13: Teneurs en polyphénols des cinq extraits de <i>R. alaternus</i> . ....	34
Figure 14: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux. ....	36
Figure 15: Teneurs en flavonoïdes totaux des quatre extraits de <i>R. alaternus</i> . ....	37
Figure 16: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de BHT. ....	39
Figure 17: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de quercétine. ....	40
Figure 18: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'EERF 100%. ....	40
Figure 19: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'EHERF 70%. ....	41
Figure 20: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'EHERF 30%. ....	41
Figure 21: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'EHERF 0%. ....	42
Figure 22 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'EARF. ....	42
Figure 23 : Activité anti-radicalaire des extraits de <i>R. alaternus</i> et les standards. ....	43
Figure 24 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode FRAP. ....	46

## Liste des tableaux

Tableau I : Classification scientifique de <i>R. alaternus</i> .....	17
Tableau II : Tableau récapitulatif des résultats de dosages spectrophotométriques effectués sur les extraits de <i>R. alaternus</i> .....	38

# ***INTRODUCTION***

## **Introduction**

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques. Actuellement, il est bien admis que même si un stress oxydant n'est pas une maladie en soi, il est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution comme dans le cas du diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. Ces dommages sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de divers biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules. (Moon et Shibamoto, 2009).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et *al.*, 1996).

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules antioxydantes et ou thérapeutique originaires des plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier une plante poussant dans les zones méditerranéennes et qui est utilisée en médecine traditionnelle dans certaines régions algérienne

Le genre *Rhamnus* (*Rhamnaceae*) inclut des espèces végétales médicinales bien connue possédants diverses propriétés biologiques (Mai et *al.*, 2001). Les propriétés

thérapeutiques de l'espèce *Rhamnus alaternus* L. ont été mises en évidence *in vitro*, elles sont dues à des composés actifs tels que les polyphénols (Ammar et *al.*, 2008).

Quoique certains auteurs des pays méditerranéens ont entrepris des études sur cette plante (Ben Ammar et *al.*, 2007; Ben Ammar et *al.*, 2008; Djeridane et *al.*, 2007),

L'objectif de notre étude est d'estimer la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des différents extraits préparés en utilisant la partie aérienne de la plante.

Notre travail est organisé comme suit:

Une première partie est une synthèse bibliographique qui est divisée en trois chapitres : Le premier contient un rappel sur le stress oxydant et le système oxydant / antioxydants. Le deuxième est sur les métabolites secondaires, enfin le troisième chapitre, est consacré à connaître de plus proche l'espèce *Rhamnus alaternus*.

Une seconde partie est une partie expérimentale dont laquelle on présente les matériels et méthodes utilisées.

Une troisième partie présente l'ensemble des résultats obtenus avec une discussion.

# **Partie bibliographique**

## **Chapitre I**

*Le système oxydant, le  
stress oxydant et le système  
antioxydant*

# I. Système oxydant, stress oxydant et système antioxydant.

## 1. Le système oxydant

### 1.1. Les espèces réactives de l'oxygène

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Afonso *et al.*, 2007). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko *et al.*, 2007).

### 1.2. Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène

#### 1.2.1. L'anion superoxyde

Il est considéré comme le type le moins réactif des ERO et le radical le plus fréquemment produit dans l'organisme (Scheibmeir *et al.*, 2005). Il est chargé négativement et est généré par différents systèmes enzymatiques notamment des oxydases (NADPH oxydase dans la membrane lipidique et cytochrome oxydase dans la chaîne respiratoire mitochondriale) (Wolin, 2009). La réduction monovalente de l'oxygène moléculaire est exprimée dans la réaction suivante :



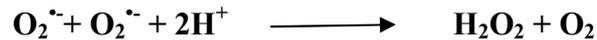
L' $\text{O}_2^{\cdot -}$  est relativement stable, peu toxique pour l'organisme. Cette faible réactivité permet d'ailleurs son utilisation par l'organisme comme médiateur régulant des fonctions biologiques (Favier, 2003). Il ne traverse pas rapidement la membrane plasmique et se dismute spontanément au pH- physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène :



Bien que le radical superoxyde ne soit pas considéré comme particulièrement réactif, son principal danger vient de sa réaction de neutralisation productrice de peroxyde d'hydrogène ou d'acide hypochloreux nettement plus puissants (Halliwell, 1989).

### 1.2.2. Le peroxyde d'hydrogène

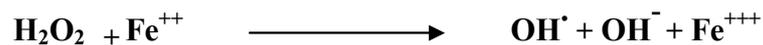
Le Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), qui n'est pas un radical libre, peut être formé secondairement à la dismutation de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> par le superoxyde dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acylCoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase (Jadot, 1994).



Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif ; c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule (Karp, 2010).

### 1.2.3. Le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>

Le radical hydroxyle est l'oxydant le plus réactif et le plus puissant (Lacolley, 2007). Le peroxysome grâce à des oxydases spécifique représente l'une des sources les plus importantes productrices de ce radical (Poortmans et Boisseau, 2009). Parmi les voies conduisant à la formation de ce radical on peut citer celle qui implique Les métaux de transition, le cuivre et le fer sous leur forme réduite par une réaction appelée Réaction de fenton (Favier, 2003).

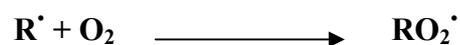


L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut aussi réagir avec le radical superoxyde, aboutissant à la production du HO<sup>•</sup>, par la réaction d'Haber et Weiss (Sorg, 2004).



### 1.2.4. Radicaux alkyles R<sup>•</sup> et peroxyde ROO<sup>•</sup>

Les radicaux peroxydes sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone R<sup>•</sup>



Les radicaux R<sup>•</sup> sont 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).



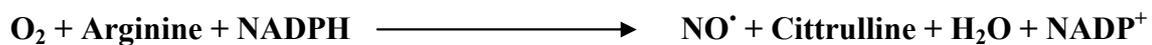
### 1.2.5. L'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène O<sub>2</sub>. Il n'est pas radicalaire. Son état «excité» lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonnefont Rousselot *et al.*, 2003).

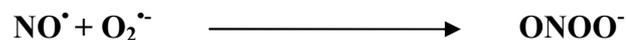
### 1.2.6. Le monoxyde d'azote NO

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé dans la cellule endothéliale à partir de l'arginine et l'O<sub>2</sub> grâce à l'action d'enzymes appelées NO synthase (Bonnefont Rousselot *et al.*, 2003 ; Vincent et Martin, 2008).

#### Nitrique oxyde synthase



Le monoxyde d'azote forme avec l'anion superoxyde le peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>):



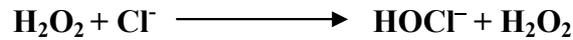
Ce dernier est moins réactif que son précurseur azoté, mais responsable de l'oxydation de nombreuses biomolécules (Rezaire, 2012). Agent non radicalaire à la fois oxydant et nitrosant (Beaudeau *et al.*, 2006).

## 1.3. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

### 1.3.1. La phagocytose

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'ERO. Au sein de phagosome, l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydes dismutases (SOD) et la NO synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de O<sup>2•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HO<sup>•</sup>, ONOOH. L'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

en présence de chlore et sous l'effet de la myeloperoxydase donnera naissance à l'acide hypochlorique HOCl, c'est l'oxydant microbicide le plus puissant (Favier, 2003).



### **1.3.2. La signalisation cellulaire**

En dehors de leurs actions délétères, les ERO peuvent agir en tant que molécule de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire. (Delattre *et al.*, 2005).

## **2. Le stress oxydant**

De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants), avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (Pincemail *et al.*, 1999), ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense (Morena *et al.*, 2002).

De nombreux ROS (Reactive oxygen species) sont des radicaux libres, possédant des propriétés oxydantes qui les amènent à réagir avec leurs environnements chimiques, incluant une série de substrats biologiques important (lipides, protéines, ADN, sucres,...). Au niveau moléculaire, ces ROS peuvent également jouer le rôle de messagers secondaires en activant différents facteurs ou indirectement des gènes impliqués dans le développement de diverses pathologies (Hybertson *et al.*, 2011).

### **2. 1. Conséquences biochimiques du stress oxydant**

#### **2.1.1. Oxydation de l'ADN**

La molécule de l'ADN constitue une cible cellulaire importante pour les attaques Radicalaires. Les modifications observées après l'action du radical HO<sup>•</sup> sont très nombreuses, entraînent une coupure des brins de la double hélice. Ces dénaturations peuvent avoir de grave conséquences sur la réplication du génome (Leverse *et al.*, 2001).

### **2.1.2. Oxydation des protéines**

L'électron non apparié des radicaux libres peut s'attaquer à la structure de certaines protéines, en particulier les protéines porteuses d'un groupement sulfhydrile (-SH), c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport (Lacolley et al., 2007).

### **2.1.3. Peroxydation des lipides**

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>, qui est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, et qu'il sera oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne (Esterbauer *et al.*, 1992).

## **3. Système de défenses antioxydant**

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (Favier, 2003).

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre *et al.*, 2005).

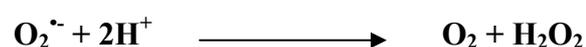
### **3.1. Le Système antioxydant enzymatique**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avissar *et al.*, 1989).

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

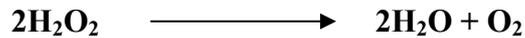
#### **3.1.1. Les superoxydes dismutases**

Les superoxydes dismutases ou SOD (EC 1.15.1.1) sont des antioxydants enzymatiques ubiquitaires. Ces métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> selon la réaction suivant: (Haleng *et al.*, 2007).



### 3.1.2. Catalase

La catalase (EC1.11.1.6) est une enzyme responsable de la détoxification du  $\text{H}_2\text{O}_2$  produit dans les conditions physiologiques (Niki *et al.*, 2007). La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée (Cantin, 1999).

### 3.1.3. Glutathion peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (Ganther, 1999) (Fig.1).

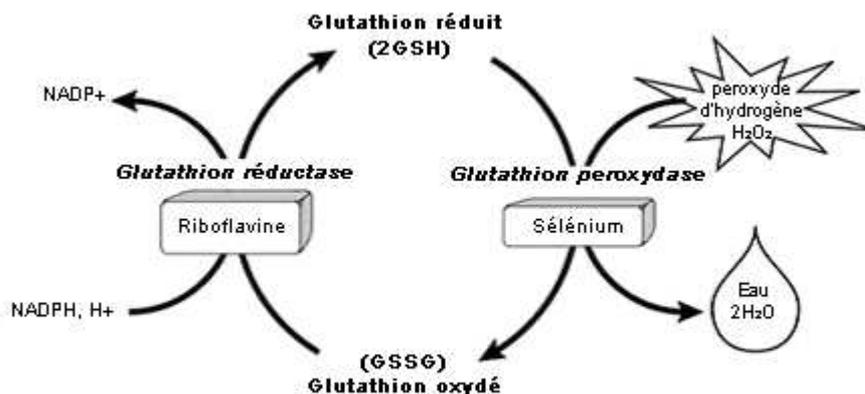


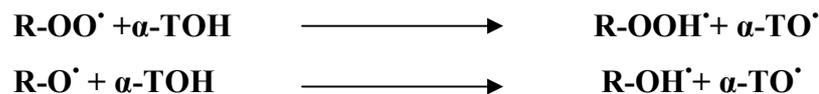
Figure 1. Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen *et al.*, 1990).

## 3.2. Le système antioxydant exogène

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

### 3.2.1. Vitamine E

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols (Cuvelier *et al.*, 2003). Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situé dans les lipoprotéines et dans les membranes Tocophérol, Son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes ROO• pour former un radical tocophéryle (Dellatre, 2005).



Bien que la concentration d' $\alpha$ -tocophérol soit relativement faible *in vivo*, le recyclage de ce dernier par des systèmes réducteurs dont le plus important est l'ascorbate, lui permet de jouer son rôle d'antioxydant à plusieurs reprises (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

### 3.2.2. Vitamine C

La vitamine C appelé aussi l'acide L-ascorbique, c'est un antioxydant hydrosoluble, qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ , le radical hydroxyle  $HO^{\bullet}$ , l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (Evans, 2000). L'ascorbate possède une propriété importante qui est la réparation possible de deux autres antioxydants, le glutathion et l' $\alpha$ -tocophérol à partir de leurs formes radicalaires. Il est recyclé, tout au moins en partie, par dismutation du radical ascorbyle (Chandan *et al.*, 1994).

### 3.2.3. $\beta$ carotène

Le  $\beta$  carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés antioxydantes. Le  $\beta$ -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles  $HO^{\bullet}$  et peroxydes  $ROO^{\bullet}$  et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet  $^1O_2$  (Beaudeau et Geneviève, 2011).

### 3.2.4. Sélénium

Sélénium est un élément minéral essentiel contenu à l'état de traces dans l'organisme. Il est activement métabolisé puis incorporé de manière originale (Roberfroid *et al.*, 2008).

Le sélénium agit comme un cofacteur enzymatique de la glutathion peroxydase (Haleng *et al.*, 2007).

### **3.2.5. Les polyphénols**

Les polyphénols sont des pigments végétaux dont les propriétés antioxydantes, les plus importants sont les flavonoïdes (Médart., 2009). Ils sont naturellement capables de piéger l'oxygène singulet  $^1O_2$  et le radical anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$  en le dismutant en  $H_2O_2$  (Chen *et al.*, 2003 ).

# **Chapitre II**

## ***Les métabolites secondaires***

## **II. Les métabolites secondaires**

### **1. Généralité sur les métabolites secondaires:**

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des Substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (Glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils s'accablent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agro alimentaire (Macheix *et al.*, 2005).

Les métabolites secondaires sont classés en trois groupes chimiques très variés :

- **Les polyphénols:** constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétale plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel il est directement lié au moins à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 2009).

- **Les terpénoïdes:** constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structural que fonctionnel. Avec près de 15.000 structures moléculaires connues, ils constituent probablement la classe la plus vaste et la plus diversifiée de composés organiques végétaux. Ce sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbones. La famille des terpènes comprend des hormones, des pigments caroténoïdes, des stérols, le latex ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes leur parfum, couleur et goût (Hopkins, 2003).

- **Les alcaloïdes:** figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine, l'intérêt qu'on leur porte reposait traditionnellement sur leur action physiologique et psychologique particulièrement violente chez l'homme. Ce sont des composés azotés au goût amer qui ont des propriétés chimiques basiques (alcalines) parmi les alcaloïdes on a morphine, coca et caféine (Raven *et al.*, 2000).

## 2. Structure des composés polyphénoliques

Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes :

### 2.1. Composés polyphénoliques simples

#### 2.1.1. Les acides phénoliques

Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al.*, 2013), ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de l'alimentation en polyphénols (Sharma *et al.*, 2015).

Les acides phénoliques existent sous deux formes: dérivés de l'acide benzoïque et dérivés de l'acide cinnamique (watson *et al.*, 2013).

##### 2.1.1.1. Les acides hydroxybenzoïques C6-C1

Les acides hydroxybenzoïques sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1) (Macheix *et al.*, 2005).

##### 2.1.1.2. Les acides hydroxycinnamique C6-C3

Les molécules de base de la série hydroxycinnamique: L'acide p-coumarique, caféique, férulique, et l'acide sinapique (Macheix *et al.*, 2005). Le composé le plus courant est l'acide caféique (D'Archivio *et al.*, 2007).

#### 2.1.2. Les stilbènes C6-C2-C6

Les stilbènes font partie d'un groupe très vaste des polyphénols, celui des dérivés de l'acide cinnamique. Le resvératrol est le stilbène le plus étudié (Leray, 2010).

#### 2.1.3. Les lignanes (C6-C3)<sup>2</sup>

Sont un groupe de phytonutriments largement distribués dans le règne végétal (Imran *et al.*, 2015). Ce sont des composés dimères formés par le couplage de deux fragments (C6-C3) monomères dérivées de la voie des phénylpropanoïdes (Gilani et Anderson, 2002).

#### 2.1.4. Les coumarines C6-C3

Les coumarines sont des composés aromatiques naturels, largement distribués dans le règne végétal, (Edardes, 2008).

Les coumarines ont une structure de base (C6-C3) dérivant des acides orthohydrocinnamiques (Collin et Crouzet, 2011).

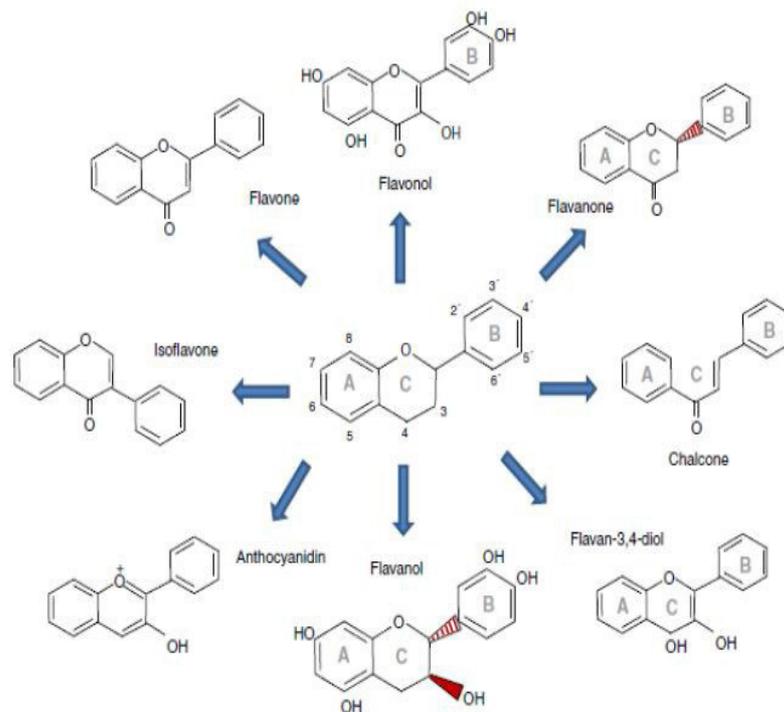
## 2.2. Composés polyhénoliques complexe

### 2.2.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe majoritaire de métabolites secondaires. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) correspondant à la structure du diphenylpropane (Collin et Crouzet, 2011). Ils sont constitués d'un cycle benzoïque présentant plusieurs groupements hydroxyles et pour cette raison ils sont nommés polyphénols. Ces groupements hydroxyles sont responsables de la fonction antioxydante des polyphénols (Descheemaeker et provoost, 1999).

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés chez les plantes. La liste de ces derniers est en croissance continue. Ceci est dû à la survenance de nombreux modèles dans les quelle les substitutions primaires (comme le groupe hydroxyle) peuvent être substitués (glycosylés ou acylés) et parfois créés des structures très complexe (D'Archivio *et al.*, 2007). Les Principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes (Fig.2).



**Figure 2.** Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes (Fraga et Oteiza, 2011).

### **2.2.2. Les tanins**

Les tanins sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (Gazengel et Orecchioni, 2013). Chez les végétaux supérieurs, il existe deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique :

#### **2.2.2.1. Les tanins condensés**

Les tanins condensés résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leucoanthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables (Merghem, 2009).

#### **2.2.2.2. Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables, sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation, l'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible (de 500 à 3000) et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (Jarrige *et al.*, 1995).

## **3. Biosynthèse des polyphénols**

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate malonate (Chira *et al.*, 2008).

### **3.1. La voie de Shikimate**

C'est la voie de biosynthèse principale des composés aromatique (Kening *et al.*, 1995) dans les plantes et les micro-organisme, y compris les acide aminés aromatique : la Phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux de produits naturels (secondaire) tel que les flavonoïdes, les acide phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes... (Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2001).

### **3.2. La voie de l'acétate malonate**

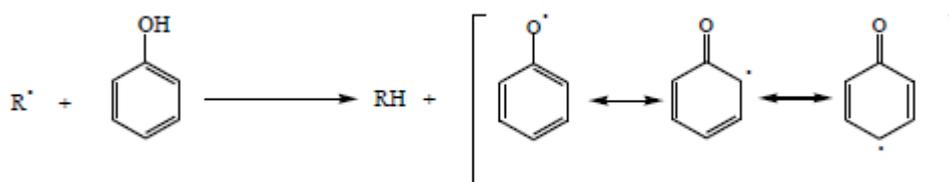
Ce mode de formation plus secondaire consiste à la cyclisation des chaînes polycétonique, elles-mêmes obtenus par condensation de groupement acétates. La condensation des groupements acétates ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl CoA en malonylCoA. Chez les flavonoïdes, les anthocyanes, le cycle benzénique latéral (A) provient de l'enchaînement de 3 acétyl-COA (Merghem, 2009).

## 4. Activité antioxydante

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés (Chew *et al.*, 2009).

### 4.1. Piégeage des radicaux libres

Les composés phénoliques ont des propriétés antioxydantes en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, le processus est radicalaire. Ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par la donation rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux libres selon un mécanisme proposé dès 1976 par Sherwin: l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un radical intermédiaire. Il est stabilisé par ses structures mésomères conjuguées (Sökmen *et al.*, 2012) (Fig. 3).



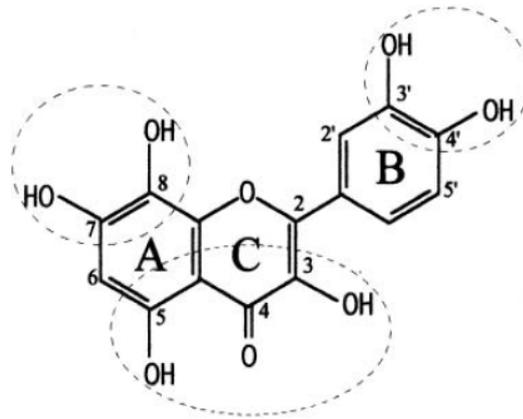
**Figure 3.** Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.

-Les composés phénoliques possèdent une structure chimique idéale pour le piégeage des radicaux libres, parce qu'ils possèdent:

- Des groupes phénoliques hydroxyles qui sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre.
- Un système aromatique stabilisé par la résonance (Dai et Mumper, 2010).

Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piègeurs des radicaux libres (Fraga, 2007). A cause de la présence de 3',4'-dihydroxy et la présence du groupe *o*-dihydroxy (structure des catéchol) sur le noyau aromatique B; ils possèdent la propriété de donner des électrons. En outre, la présence du 3-OH du cycle C est également bénéfique pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.

La présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le groupe 4-céto est responsable de la délocalisation des électrons du noyau B, ce qui améliore encore l'activité antiradicalaire (Amic *et al.*, 2003) (Fig.4).



**Figure 4.** Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (Amic *et al.*, 2003).

## 4.2. Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus Biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus (Tiwari, 2001).

La chélation des ions métalliques par les flavonoïdes nécessite trois sites principaux :

- Noyau catéchol sur le cycle B
- Les groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C
- Le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycle A et C (Hein *et al.*, 2002 ; Pietta, 2000).

A titre d'exemple ; la quercétine et la myricétine répondent à tous ces critères nécessaires pour avoir une activité antiradicalaire efficace et importante (Middleton *et al.*, 2000).

# Chapitre III

*Rhamnus alaternus* L.

### III. Propriétés biologiques de *Rhamnus alaternus* L.

#### 1. Propriétés botaniques

##### 1.1. Généralités

*Rhamnus alaternus* L. est une espèce végétale qui appartient à la famille des *Rhamnaceae*, les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire, c'est une famille cosmopolite d'arbres, arbustes et herbacées qui contient environ 50 genres et 900 espèces (Richardson et al., 2000). En Algérie, 9 espèces végétales appartenant à 3 genres sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques (Quezel et Santa, 1963).

##### 1.2. Classification

La classification de l'espèce *Rhamnus alaternus* L. est la suivante (Tab. 1)

**Tableau 1** : Classification scientifique de *R. alaternus*

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	<i>Rhamnaceae</i>
Genre	<i>Reynosia</i>
Sous genre	<i>Rhamnus</i>
Espèce	<i>Rhmanus alaternus</i>

##### 1.3. Nomenclature

En arabe : Am'lile'ce, M'lila, Soitfaïr, Oud El-khir ou bien Safir. En Kabyl : Mélilés (Bhourri et al., 2012; Debeaux, 1984). En anglais : Buckthorn. En Français : Nerprun, En Allemand : Kreülzdorn. En Italien : Alaterno, Legno Puzzo (Gubb, 1913).

#### 1.4. Caractéristiques morphologiques

*Rhamnus alaternus* L. est un arbuste toujours vert, parfois très grand, à feuilles luisantes, ovoïdes ou lancéolées, sont alternes, coriaces, épaisses et à courts pétioles, (3-6 cent, sur 2-3), à bords cartilagineux et dentées, Elles restent sur l'arbre pendant deux année environ, multiflores; Les fleurs, dioïque de couleur jaunâtre, très petites, poussent à l'aisselle des feuilles et sont groupées en bouquets. Les fruits sont de petites baies d'abord rouges puis noires. (Battandier et *al.*, 1888). La tige est dressée et rameuse ; les rameaux sont alternes, non épineux (Chancerel, 1920) (Fig. 5).

La croissance de *R. alaternus* est lente, sa longévité considérable. Son bois est à fibre courte et cassante, très lourd, très homogène, d'un grain fin, blanc jaunâtre à l'état d'aubier, brun clair ou foncé à l'état parfait comme le chêne. Il prend beaucoup de retrait et exhale, quand on le travail, une odeur désagréable (Mathieu, 1860).

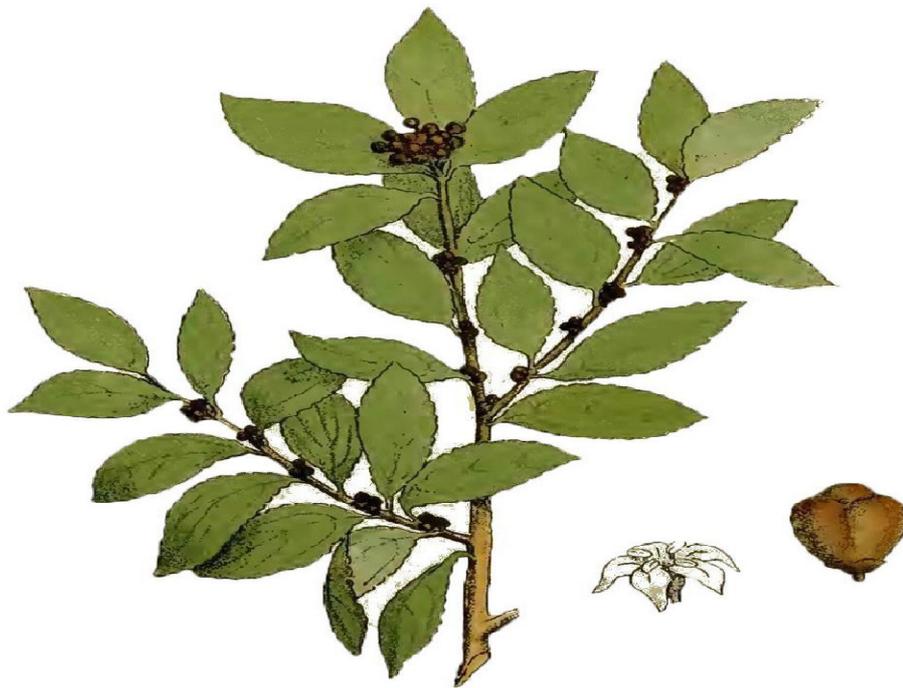


Figure 5. *Rhamnus alaternus* L. (Penzig, 1902).

#### 1.5. Ecologie et répartition géographique

Cet arbrisseau est caractéristique de la zone littorale et, uni aux lentisques, à l'arbousier, au myrte et à d'autres plantes à feuilles persistantes, il joue un rôle important dans

la composition des maquis qui couvrent une bonne partie du littoral et des îles de la Méditerranée. En France, il se trouve encore dans l'Isère, l'Ardèche, l'Aveyron, le Lot, la Vienne, le Maine-et-Loire et en Bretagne (Penzig, 1902). *R. alaternus* habite les coteaux secs et calcaires du Sud de la France, de la Corse, de l'Algérie, du Nord de la Tunisie (Ben Ammar et al., 2008; Chancerel, 1920).

## **2. Usage traditionnel**

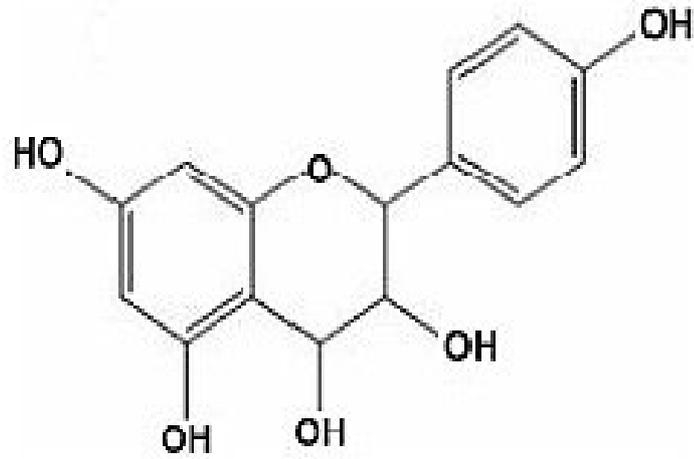
En médecine traditionnelle *R. alaternus* a été employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques (Bhouri et al., 2012). Les baies de *R. alaternus* ont une action purgative, d'une saveur âpre, employés en médecine vétérinaire (Gubb, 1913). Les feuilles en infusion constituent des gargarismes astringents (Chancerel, 1920). A cause de son feuillage persistant, touffu et sombre, *R. alaternus* est souvent cultivé dans les parcs, comme plante ornementale, pour former des passifs ou des haies compactes; il fait un très joli effet, surtout lorsqu'il est chargé de ses fruits qui sont des baies globuleuses, luisantes et rouges. Son bois, d'un grain fin et compact, peut servir à des travaux de menuiserie (Penzig, 1902). Il fleurit vers la fin du printemps (Bergeret et al., 1909).

## **3. Propriétés biochimiques**

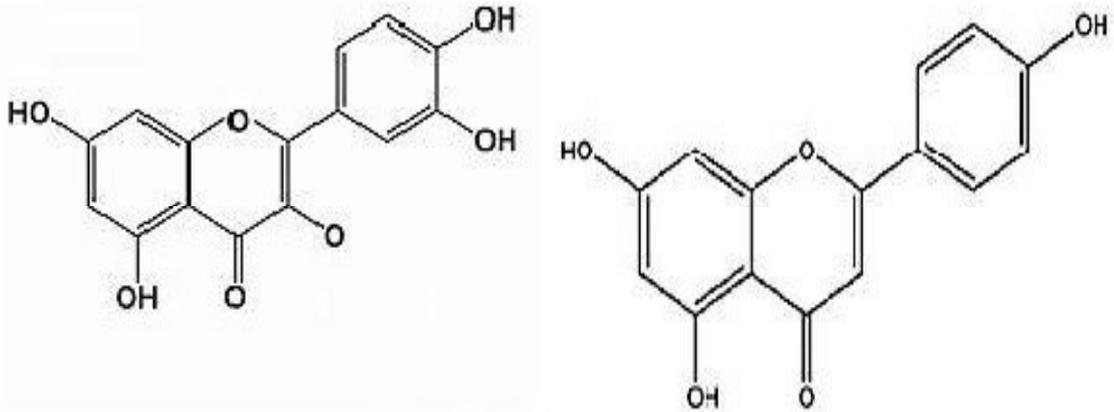
L'étude phytochimique sur les extraits de la partie aérienne et les racines de *R. alaternus* a révélé la présence de diverses quantités d'anthraquinones, de coumarines, de tannins et en particulier des flavonoïdes (Ben Ammar et al., 2008).

Trois flavonoïdes aglycones ont été identifiés :

l'apigénine, le kaempferol et la quercétine (Ammar et al., 2009). (Fig.6).



Kaempferol (Jain et Patil, 2010)



Quercétine (Jain et Patil, 2010)

Apigénine (Kawasaki et al., 2010)

**Figure 6.** Structures chimiques de quelques flavonoïdes de *R. alaternus*.

***MATERIEL ET  
METHODES***

## **Matériels et Méthodes**

### **1. Matériels**

#### **1.1. Matériel végétal**

La partie aérienne de *Rhamnus alaternus* L (rameaux et feuille) est récoltée au début du mois de Mars 2018 dans la région d'El Main de Bordj Bou Arreridj. El Main se situe à la limite entre les wilayas de Setif, de Bejaia et de Bordj Bou Arreridj. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du département des Sciences Biologiques, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj.

#### **1.2. Appareils et produits chimiques**

Rota-vapeur (Büchi), Agitateur magnétique (GP SELECTAS ACE), Etuve (Memmert), Bain marie (Memmert), Balance de précision (Kern), pH-mètre (*Hanna*), Vortex (Top Mix), Centrifugeuse (*Sigma*), et Spectrophotomètre.

Les solvants organiques utilisés dans les différents compartiments de cette étude sont de grade analytique (Le méthanol, l'éthanol) et ont été fournis par *Sigma- Aldrich*.

Les différents acides sont : l'acide trichloroacétique (TCA), et l'acide ascorbique sont achetés de *Biochem*, et l'acide gallique issu de *Sigma*. Les réactifs chimiques sont le DPPH, et le trichlorure d'aluminium hydraté ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) qui ont été fournis par *Sigma-Aldrich*, le Folin-Ciocalteu (FCR) par *Biochem*.

Les sels sont: Bicarbonate de sodium ( $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ ), potassium Phosphate dibasique ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), Phosphate de potassium monobasique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) de *Sigma-Aldrich*.

D'autres produits chimiques utilisés : la quercétine, le Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ),  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  par *Sigma-Aldrich*, le butylhydroxytoluène (BHT) par *Fluka*.

## **2. Méthodes**

### **2.1. Préparation des extraits**

La partie aérienne de *R. alaternus* (rameaux et feuilles) PARF a été nettoyée des impuretés, lavée, puis séché à température ambiante et à l'ombre pendant quelques jours, puis broyés à l'aide d'un mortier pour avoir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés. La méthode utilisée dans l'extraction de tout les extraits est celle décrite par Boussahel et *al.*, 2015 avec quelques modifications

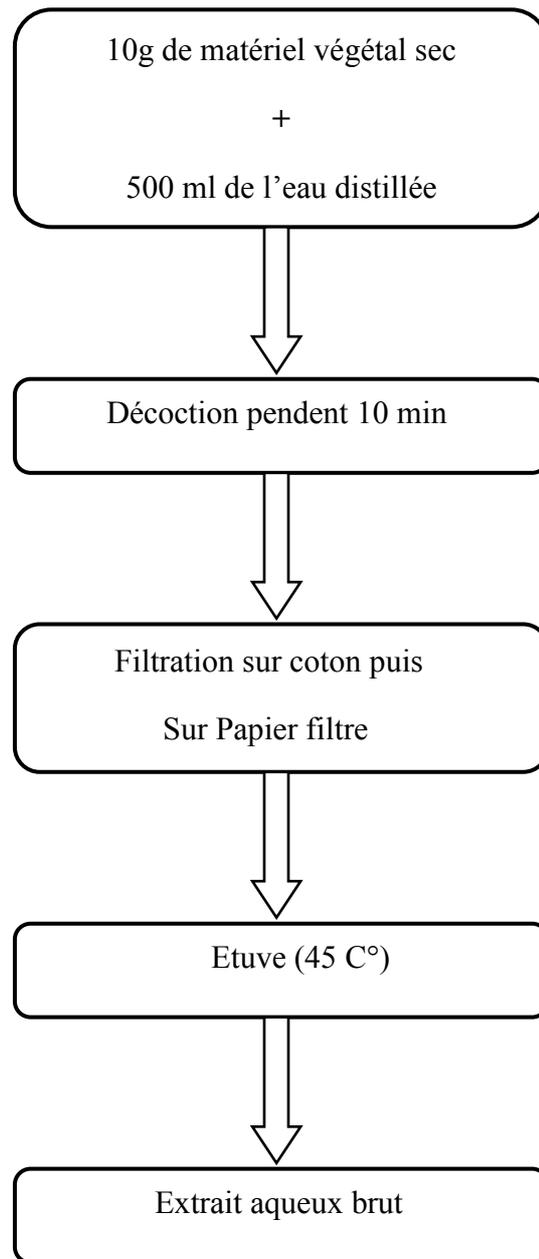
#### **Extrait aqueux**

L'extrait aqueux de *R. alaternus* a été obtenu par décoction de 10 g de broyat de la partie aérienne de la plante (rameaux et feuilles) dans 500 ml d'eau distillée pendant 10 min. le mélange est d'abord filtré sur un coton hydrophile ensuite sur papier filtre. Les filtrats sont placés dans une étuve à 45 °C pendant 24 h pour sécher. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (Boussahel et *al.*, 2013) avec quelques modifications. (Fig. 7).

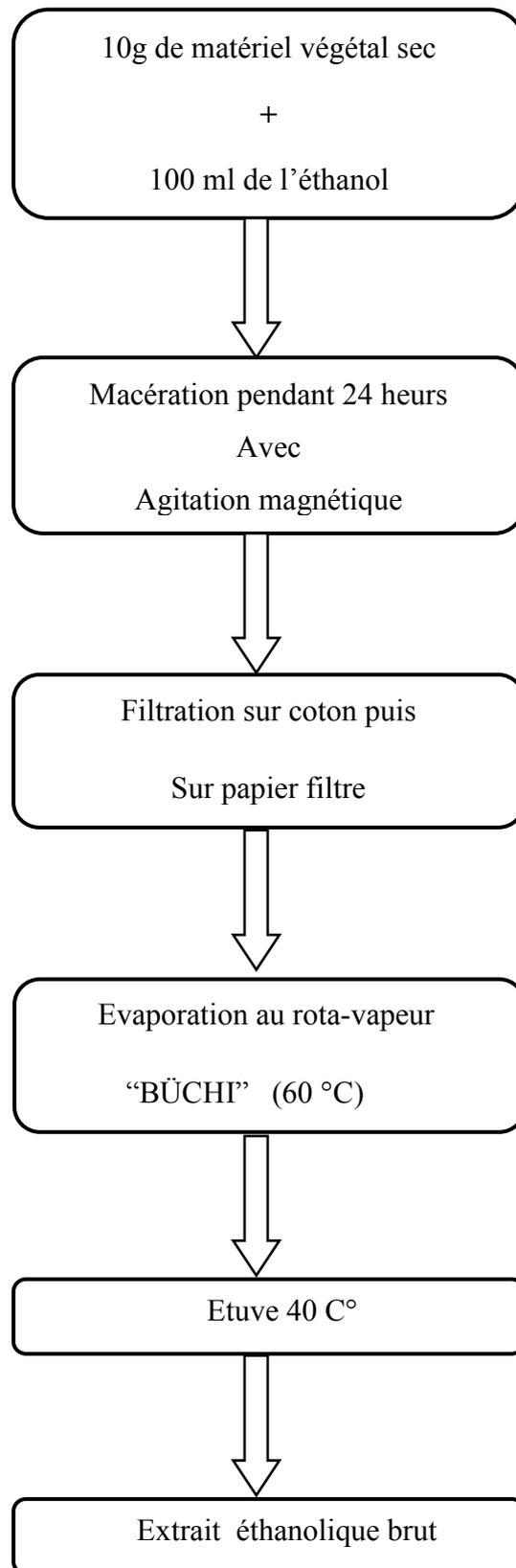
Un deuxième extrait aqueux de *R. alaternus* a été obtenu par macération de 10 g de broyat de la partie aérienne de la plante (rameaux et feuilles) dans 100 ml d'eau distillée à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures, avec un maximum d'agitation. Le mélange est d'abord filtré sur un coton hydrophile puis sur papier filtre. Les filtrats obtenus sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température de 60 °C. Puis sont placés dans une étuve à 40 °C pendant 24 h pour sécher. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur.

#### **Extrait éthanolique**

L'extrait éthanolique de la partie aérienne de *R. alaternus* a été préparé à partir de 10 g de broyat des rameaux et des feuilles, qui ont été mis à macérer dans 100 ml d'éthanol (100%, 70 %, et 30 %) à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24 heures, avec un maximum d'agitation. Ensuite le mélange est filtré sur le coton hydrophile puis sur papier filtre. Les filtrats obtenus sont évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température de 60°C, puis ils sont placés dans une étuve à 40 °C pendant 24 h pour sécher. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (Boussahel et *al.*, 2013) avec quelques modifications. (Fig. 8).



**Figure 7.** Protocole de préparation de l'extrait aqueux (Boussahel et *al.* , 2013).



**Figure 8.** Protocole de préparation de l'extrait éthanologique (Boussahel et al ., 2013).

## **2.2. Analyse chimique**

### **2.2.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et *al.*, 1999).

#### **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

#### **Méthode de dosage**

Les polyphénols totaux ont été déterminés, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs. 200 µl de chaque extrait végétal dilué dans (éthanol, l'eau distillée, éthanol-eau v/v) est mélangé avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) 10 % (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après 4 minutes, 800 µl de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5 % (m/v) sont ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 765 nm. Le blanc du test contient 200µl de solvant d'extraction, 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu, et 800 µl de carbonate de sodium.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (25-175 µg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

Les concentrations en composés phénoliques totaux des extraits sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide gallique dans le méthanol. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait ( $\mu\text{g EAG /mg d'extrait}$ ).

### **2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) citée par (Djeridane et al., 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

#### **Principe**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon et al., 1972).

#### **Méthode de dosage**

1 ml de chaque extrait de *R. alaternus* avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 2 %.

Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance a été lue après 10 minutes d'incubation à 430 nm par spectrophotomètre UV-visible à température ambiante.

La même opération a été effectuée pour la quercétine à différentes concentrations (5-40  $\mu\text{g / ml}$ ) en introduisant 1 ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d' $\text{AlCl}_3$  à 2%. Le blanc est représenté par le solvant d'extraction additionné à l' $\text{AlCl}_3$ , toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de *R. alaternus* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$ ).

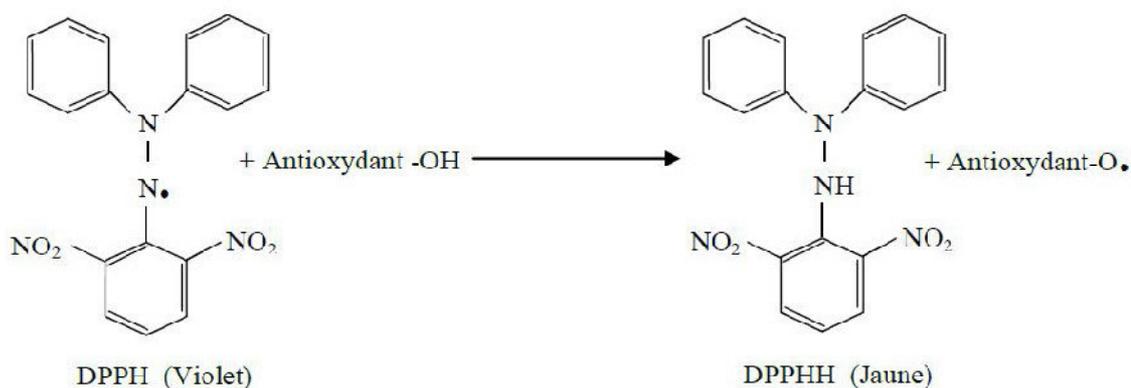
## 2.3. Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

### 2.3.1. Test de piégeage du radical DPPH

#### Principe

Le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux, 2004).

Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici *et al.*, 2010 ; Molyneux, 2004) (Fig. 9).



**Figure 9.** Equation du radical DPPH transformé en DPPH (Mohammedi, 2006).

### **Méthode de dosage**

Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole de Blois, M.S. en 1958. La solution du DPPH est préparée à l'avance par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Brièvement, 0,5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,2 mM) a été mélangé avec 1,5 ml de différentes concentrations des extraits de la plante (5-100 µg/ml). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc composé de 0,5 ml de MeOH et de 1,5 ml de chaque extrait. Un contrôle négatif est composé de 1,5 ml méthanol et 0,5 ml de solution méthanolique de DPPH. Des solutions d'antioxydant de référence (quercétine, BHT) sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Les échantillons, les témoins (la quercétine, le BHT) et le blanc sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

Pourcentage de l'activité anti radicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ de l'activité anti radicalaire} = (A1 - A2 / A1) \times 100$$

**A1** : Absorbance du témoin négatif sans extrait

**A2** : Absorbance en présence de l'extrait.

### **Evaluation du potentiel anti-radicalaire par le calcul de l'IC<sub>50</sub>**

L'IC<sub>50</sub> (Concentration inhibitrice 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC<sub>50</sub> sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres *et al.*, 2006). La valeur d'IC<sub>50</sub> la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC<sub>50</sub> est exprimée en µg/ml.

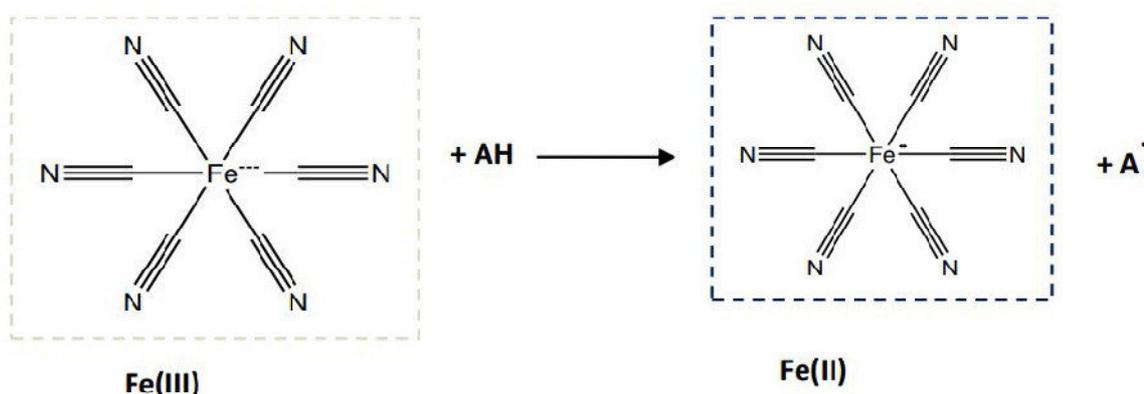
Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne des trois essais. (3 répétitions pour chaque concentration).

### 2.3.2. Test du pouvoir réducteur des ions de fer (FRAP)

#### Principe

Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique  $\text{Fe}^{+3}$  en fer ferreux  $\text{Fe}^{+2}$ . Par conséquent,  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm. (Bougandoura et Bendimerad, 2012). La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) à la couleur bleue - vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols (Yildirim et al., 2001). En effet, le système  $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz *et al.*, 2004) (Fig.10).



**Figure 10.** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)

#### Méthode de dosage

Elle consiste à mélanger 1ml de l'extrait (0,1 mg/ml) avec 1 ml de tampon phosphate (0,2 M, Ph 6,6). Et 1ml d'une solution de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%). le mélange obtenu est incubé à  $50\text{C}^\circ$  pendant 20min, puis 1ml de l'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 10 min à température ambiante .A 1ml de surnageant sont additionnés 1 ml d'eau distillée et 0,3 ml de chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1%. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700

nm. Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le solvant d'extraction. (Oyaizu, 1986).

Les concentrations en composés réducteurs des extraits sont déterminées se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations d'acide ascorbique dans le méthanol (10-50 µg/ml). Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de l'acide ascorbique par 1 milligramme de poids sec de l'extrait (µg EAA /mg d'extrait).

### **3. Analyses statistiques**

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007 et aussi par le programme Origin 2015. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD (déviation standard).  $n = 3$ . Les valeurs d' $IC_{50}$  (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées à partir de la courbe [% inhibition =  $f$ (concentrations)] et analysés par le test ANOVA à un facteur, en utilisant le logiciel STATISTICA, version 8. La différence à été considérée statiquement significative lorsque la valeur de  $p$  est 0,05.

***RESULTATS ET  
DISCUSSION***

## Résultats et discussion

### 1. Rendements des extractions

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (Carré, 1953). Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante:

$$R = \frac{P_E}{P_A} \times 100.$$

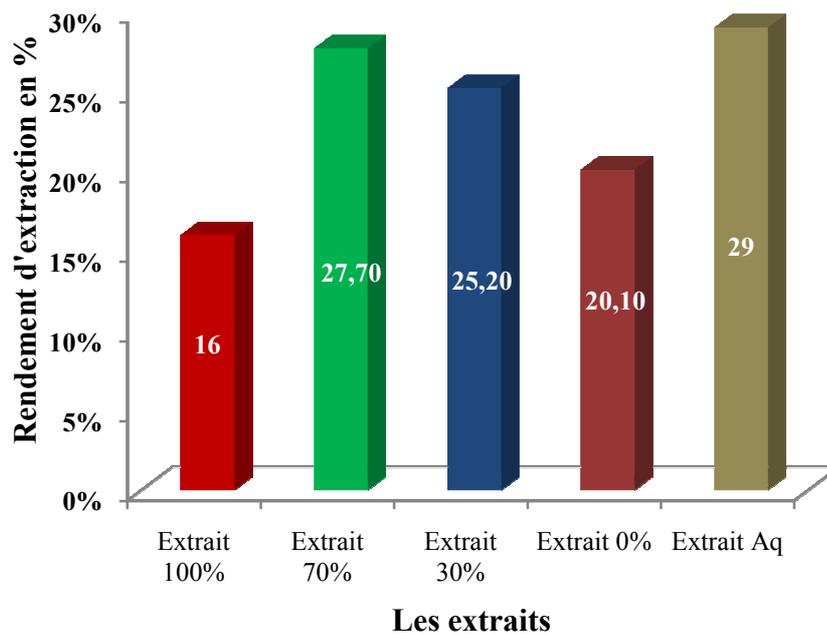
Où

R= Rendement de l'extrait en pourcentage;

$P_E$  = Poids de l'extrait.

$P_A$  = Poids de la plante.

Les résultats sont présentés dans la figure suivante (Fig.13)



**Figure 11.** Comparaison des rendements des cinq extraits de *R. alaternus*.

Extrait 100% : extrait éthanolique, Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 0% : extrait hydro-éthanolique, Extrait Aq : extrait aqueux.

Les rendements d'extraction observés dépendent à la fois du solvant d'extraction et aussi du processus d'extraction (macération, décoction).

Les résultats de la présente étude indiquent qu'à partir de 10g de poudre de la PARF de *R. alaternus* et 100 ml (éthanol 100%, hydro-éthanol 70%, 30%) nous avons obtenu trois extraits considérés comme étant les extraits bruts, ils sont de couleur verte foncée pouvant contenir de la chlorophylle, des flavonoïdes, des polyphénols et d'autres composés. A partir de 10g de poudre de PARF de *R. alaternus* et 100 ml (macération) et 500 (décoction) ml d'eau distillée nous avons obtenu deux extraits aqueux de couleur brune foncée dépourvu de chlorophylle et contenant des flavonoïdes et des polyphénols.

### **1.1. La macération**

L'opération de l'extraction par macération de la PARF de *R. alaternus* dans l'éthanol à 100%, 70%,30%,0% a permis d'obtenir des résidus sec d'extrait brut avec des rendements de 16%, 27%, 25,2% et 20,1% respectivement.

### **1.2. La décoction**

Le rendement d'extraction de la partie aérienne de l'extrait aqueux après décoction a été estimé à 29% (m/m).

Le rendement de L'extrait 70% obtenu par macération (27 %) est supérieur par rapport aux autres extraits (16% 25 ,6% et 20,1 %), le rendement de l'extrait Aq obtenu par décoction (29%) est supérieur par rapport au l'extrait obtenue par macération (20,1%). Il paraît clairement que l'eau chaude permet d'avoir un rendement plus élevé par rapport à l'eau froide, ce qui peut être expliqué par la lyse des cellules dans l'eau chaude et la libération d'un maximum de molécules poly-phénoliques.

La différence de rendement entre les extraits est due d'une part au pourcentage d'éthanol présent dans les extraits hydro-éthanolique plus que l'eau, et d'autre part aux techniques d'extraction utilisées, qui sont totalement différentes (macération / décoction).

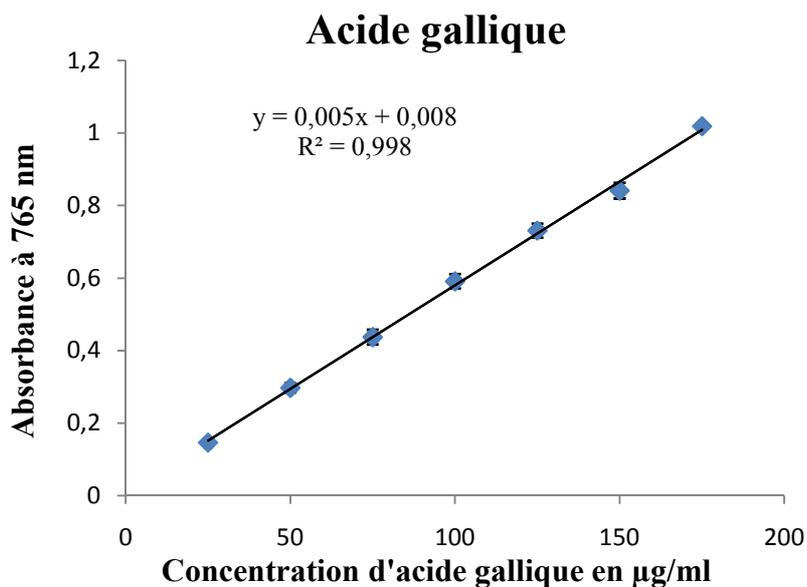
Dans une étude réalisée par Ben ammar et *al.* (2008) sur la même espèce originaire de Tunisie, des résultats différents ont été trouvés. En effet la macération des feuilles dans le méthanol suivi par le butanol saturée en eau a donné un rendement de 9 %.

D'autres résultats ont été trouvés par Boussahel et *al.*, (2013) sur la même espèce récoltés aussi de Bordj Bou Arreridj; la macération dans le méthanol et d'autre dans l'eau distillée à donnée des rendements de 14,48% et 14,20% respectivement ; ces résultats assez proche de celle trouvés par l'extrait 100%.

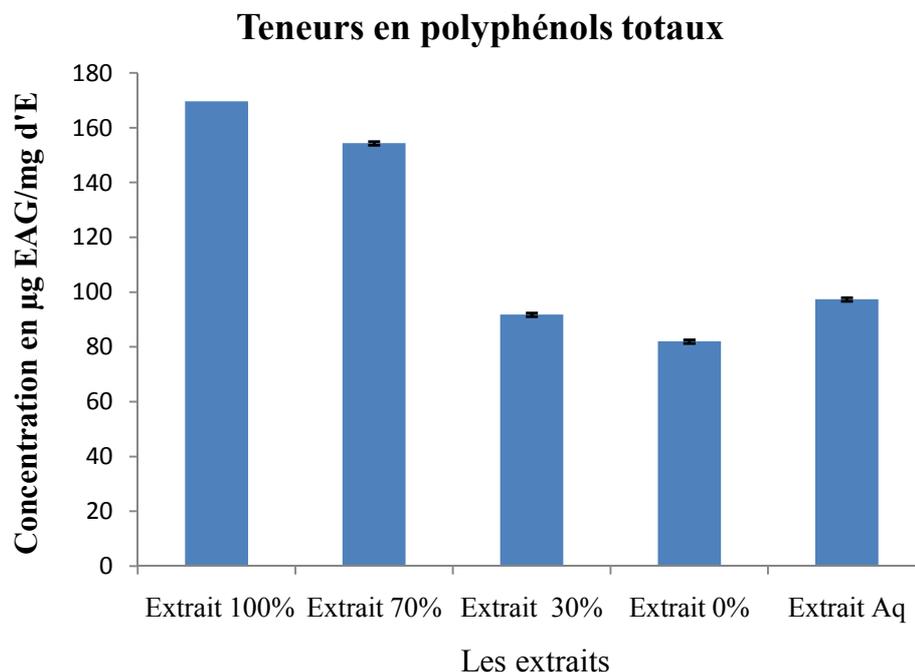
## 2. Caractérisation quantitative des extraits de la plante

### 2.1. Teneur en polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en microgramme équivalent d'acide gallique / mg d'extrait et déterminé par l'équation de type :  $y = 0,005x + 0,008$  sachant que  $R^2 = 0,998$  (Fig.12).



**Figure 12.** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



**Figure 13.** Teneurs en polyphénols des cinq extraits de *R. alaternus*.

(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). Extrait 100% : extrait éthanolique, Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 0% : extrait hydro-éthanolique, Extrait Aq : extrait aqueux.

L'extrait 100% comporte une plus grande teneur en polyphénols ( $169,6 \pm 0,642 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$ ) que les autres extraits (70%, 30%, 0%,) et l'extrait Aq ( $154,4 \pm 0,642 / 91,8 \pm 0,642 / 82 \pm 0,642$  et  $97,4 \pm 0,642 \mu\text{g EAG/mg d'extract}$ ) respectivement.

Les teneurs des PPT déterminées ne sont pas des mesures absolues des quantités des phénols du matériel de départ, elles sont en fait, basées sur la capacité réductrice relative à une capacité réductrice équivalente à l'acide gallique (EAG). Les valeurs obtenus par la méthode colorimétrique fournies des informations directes sur la quantité des groupes phénoliques antioxydants de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ces derniers (Balasunderam *et al.*, 2006).

Djeridane et *al.* (2007) ont trouvé une valeur hautement inférieure à la notre avec une teneur en polyphénols de 6 mg EAG/ g de matière fraîche pour un extrait éthanolique de la partie aérienne de la même variété du nord de Laghouat.

Nos résultats sont aussi plus supérieurs à ceux trouvés par Boussahel et *al.*, (2013) En effet, ils ont déterminé  $33.655 \pm 2.503$  mg EAG/ g d'extrait méthanolique et à une teneur de  $8.549 \pm 0.553$  mg EAG/ g d'un extrait aqueux .

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (Gomez-Caravaca et *al.*, 2006; Vuorela, 2005).

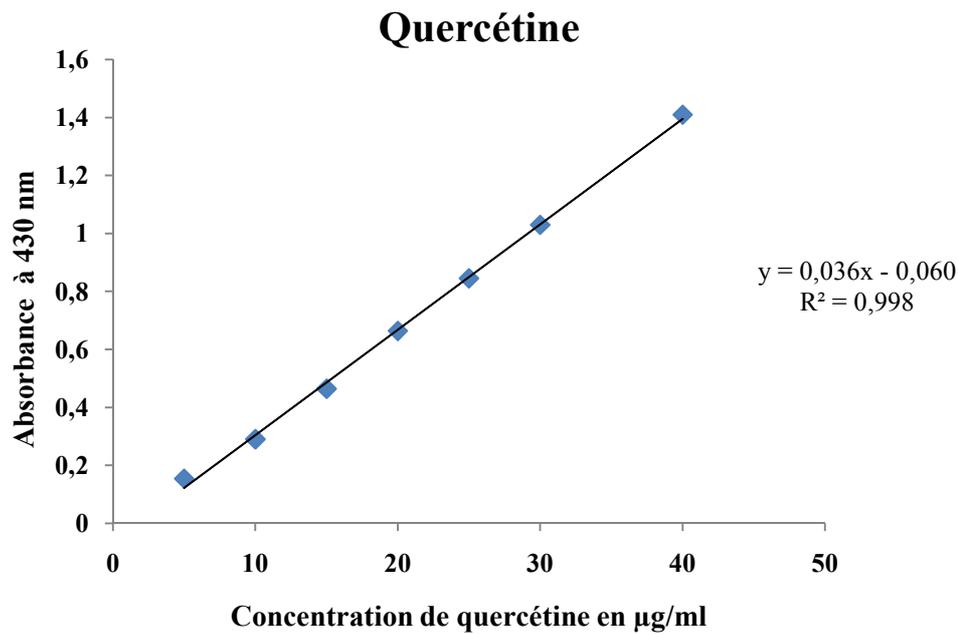
Le solvant d'extraction élu des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane et *al.*, 2007). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha et *al.*, 2007).

## **2.2. Teneur en flavonoïdes totaux**

La raison principale pour la quelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez- Caravaca et *al.*, 2006).

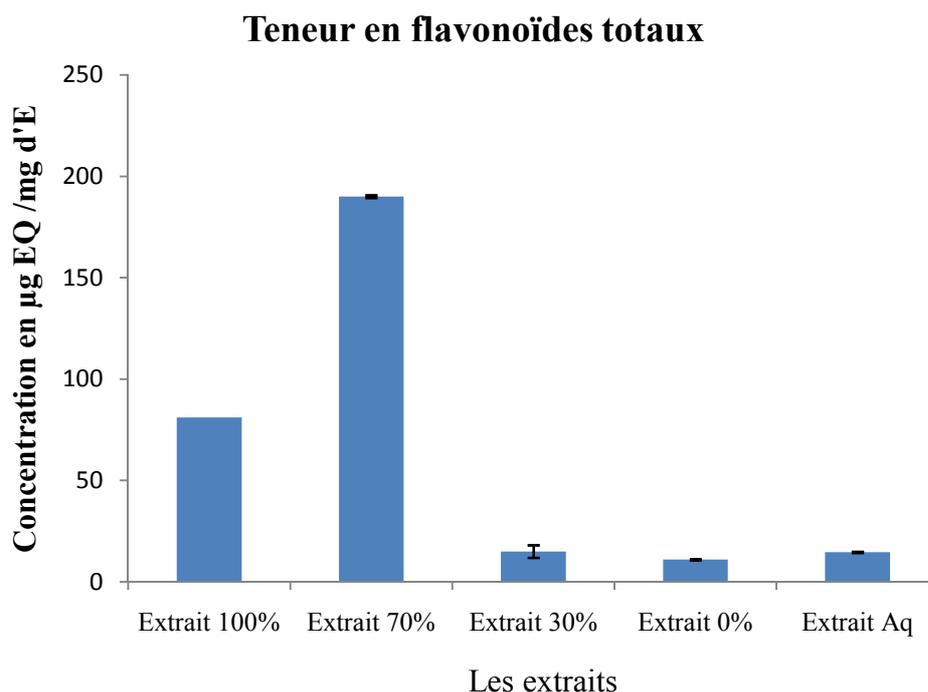
Le dosage des FT a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et l'étalon été la quercétine (Fig. 14). Cette méthode permet de déterminer la teneur en flavonoïdes même en présence des autres composés phénoliques qui ne forment pas des complexes avec  $AlCl_3$  (Matyushchenko et Stepanova, 2003).

La teneur en FT (flavonoïdes totaux) est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu g$  EQ/mg d'extrait). Les taux des flavonoïdes des cinq extraits ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :  $y = 0,036X - 0,060$  sachant que  $R^2 = 0,998$ .



**Figure 14.** Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Les concentrations des flavonoïdes (Fig. 15) sont relativement importants dans la majorité des extraits, les teneurs en flavonoïdes sont de  $190 \pm 3.14 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  d'extrait dans l'extrait (70%) suivie de celles de l'extrait (100%), l'extrait (30%) et l'extrait Aq (décoction) avec  $81.11 \pm 0.62$  et  $15 \pm 0.31$  et  $14.58 \pm 0.31 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  d'extrait respectivement et enfin celle d'extrait (0%) avec  $11 \pm 0.31 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$  d'extrait .



**Figure 15.** Teneurs en flavonoïdes totaux des quatre extraits de *R. alaternus*.

(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). Extrait 100% : extrait éthanolique, Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique , Extrait 0% : extrait hydro-éthanolique, Extrait Aq : extrait aqueux

Ces résultats obtenus sont nettement supérieurs aux résultats trouvés par Boussahel et *al.* (2013) qui sont respectivement  $61.12 \pm 1.2017$  et  $1.950 \pm 0.063$  mg EQ/100g d'extrait fraîche pour les extraits méthanolique et aqueux des feuilles de la même espèce qu'ils ont récolté de la région Teniet En Nasr in Bordj–Bou-Arriridj.

**TableauII :** Tableau récapitulatif des résultats de dosages spectrophotométriques effectués sur les extraits de *R. alaternus*.

<b>Les extraits de la plante</b>	<b>Polyphénols totaux (µg EAG/mg d'E)</b>	<b>Flavonoïdes totaux (µg EQ/ mg d'E)</b>
<b>Extrait 100%</b>	169,6 ± 0,642	81,11 ± 0,62
<b>Extrait 70%</b>	154,4 ± 0,642	190 ± 3,14
<b>Extrait 30%</b>	91,8 ± 0,642	15 ± 0,31
<b>Extrait 0%</b>	82 ± 0,642	11 ± 0,31
<b>Extrait Aq</b>	97,4 ± 0,642	14,58 ± 0,31

Extrait 100% : extrait éthanolique, Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique , Extrait 0% : extrait hydro-éthanolique, Extrait Aq : extrait aqueux.

En générale, les résultats présentés dans le tableau ci-dessus indiquent une quantité de poly phénols plus élevée que celle des flavonoïdes dans tous les extraits de *R. alaternes* sauf l'extrait 70%.

### **3. L'activité antioxydante et antiradicalaire**

Les deux types de tests que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits de plante sont: le radical DPPH et le test FRAP.

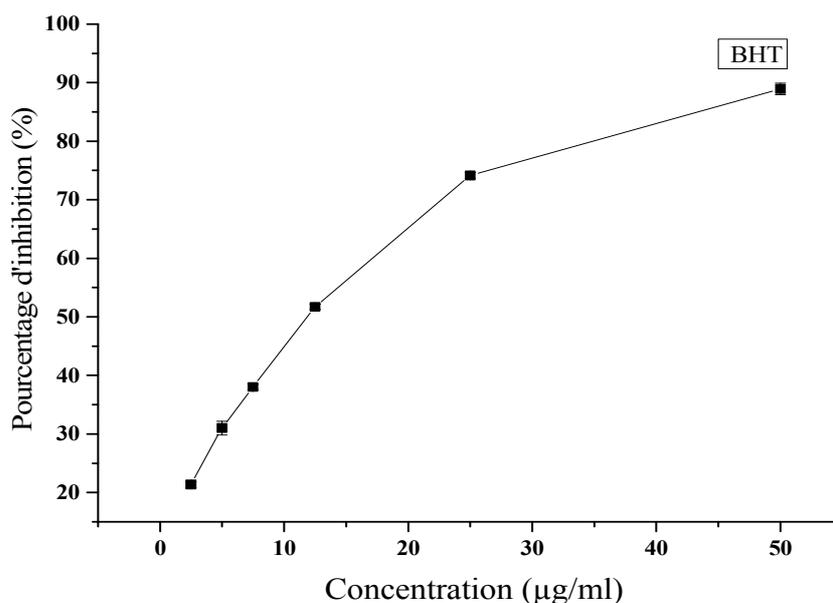
#### **3.1 Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits de *R alaternus* par le test de DPPH (effet scavenger)**

L'activité anti radicalaire est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH) qui est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (Bortolomeazzi et al., 2007).

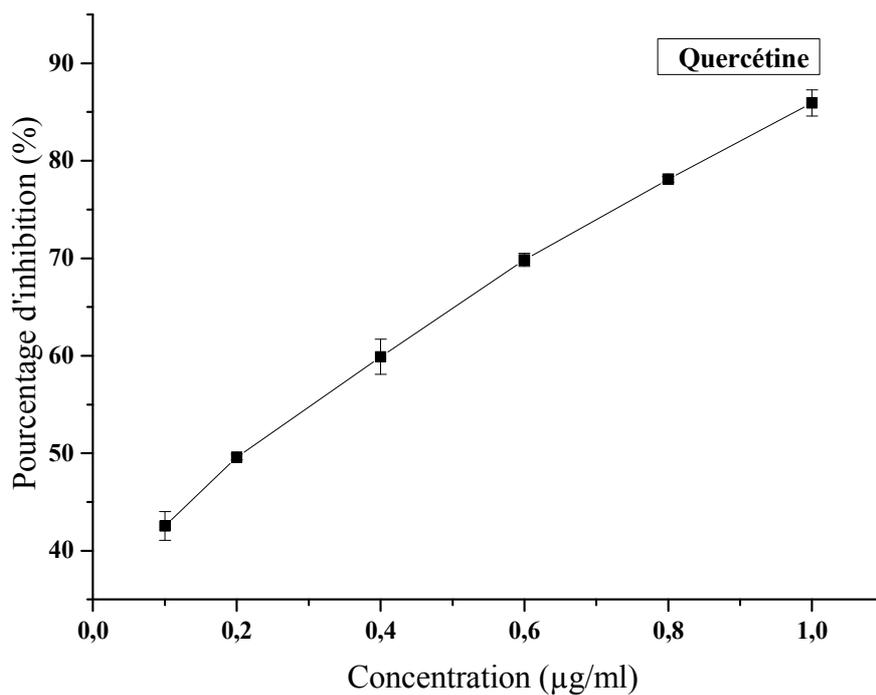
L'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création des radicaux libres.

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (Kouri *et al.*, 2007). Quelques composés réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de DPPH égale à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant (Bondet *et al.*, 1997). La configuration spatiale et le nombre de groupement OH des structures flavonoïdiques peuvent avoir une influence sur les différents mécanismes antioxydants (Hein *et al.*, 2002).

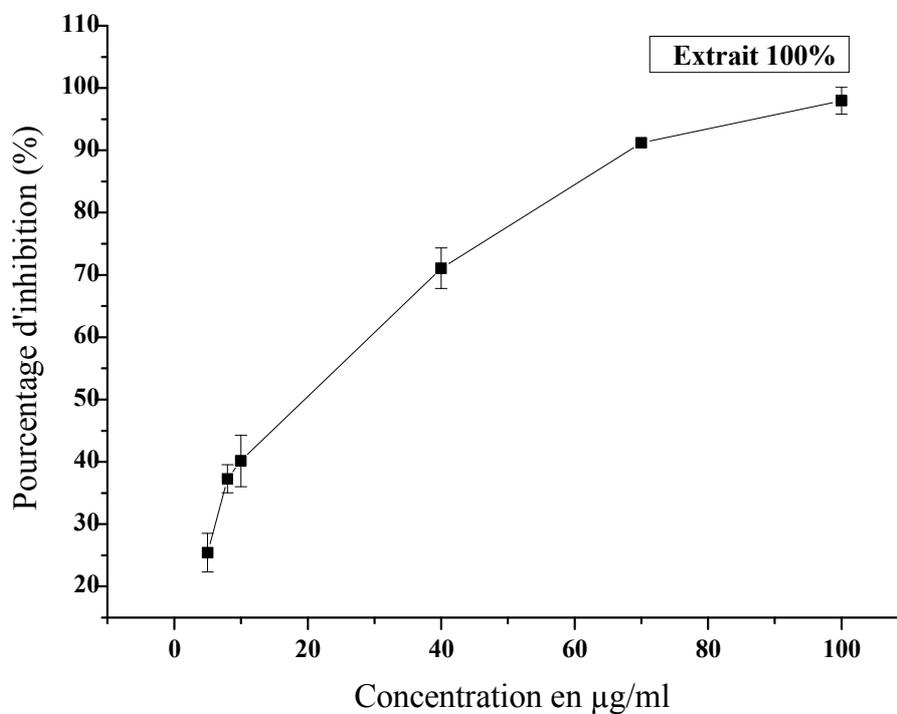
Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait. D'après les résultats représentés dans les (fig. 16, 17, 18, 19, 20, 21 et 22), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards (quercétine, BHT) ou pour les différents extraits de la plante.



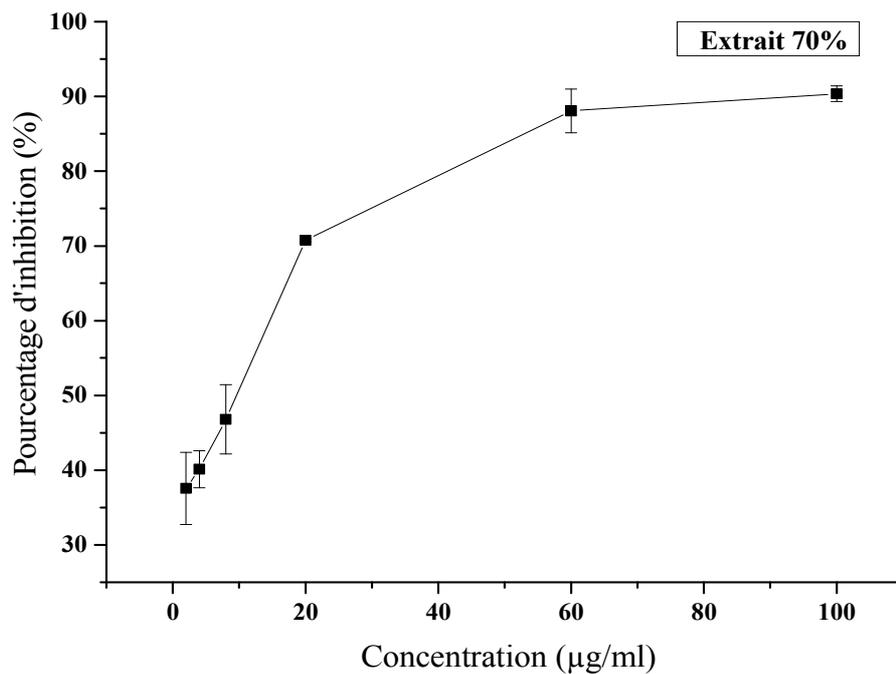
**Figure 16.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de BHT. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).



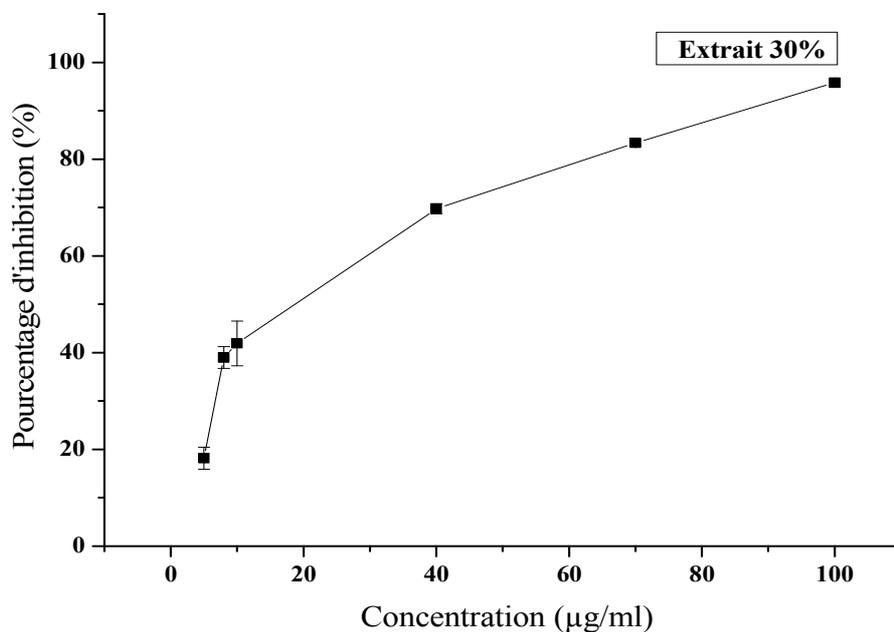
**Figure 17.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de quercétine. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD).



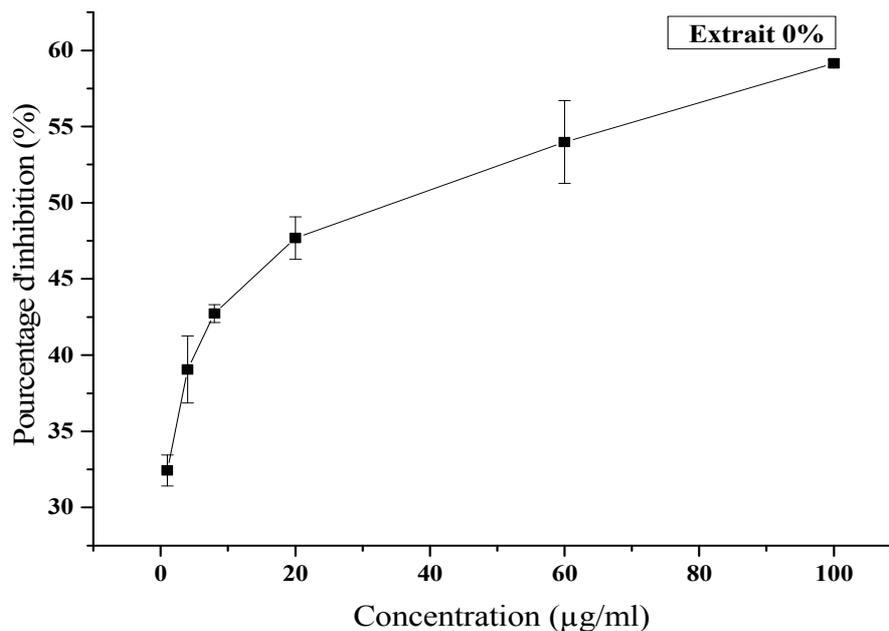
**Figure 18.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'extrait 100%. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). Extrait 100% : extrait éthanolique 100%.



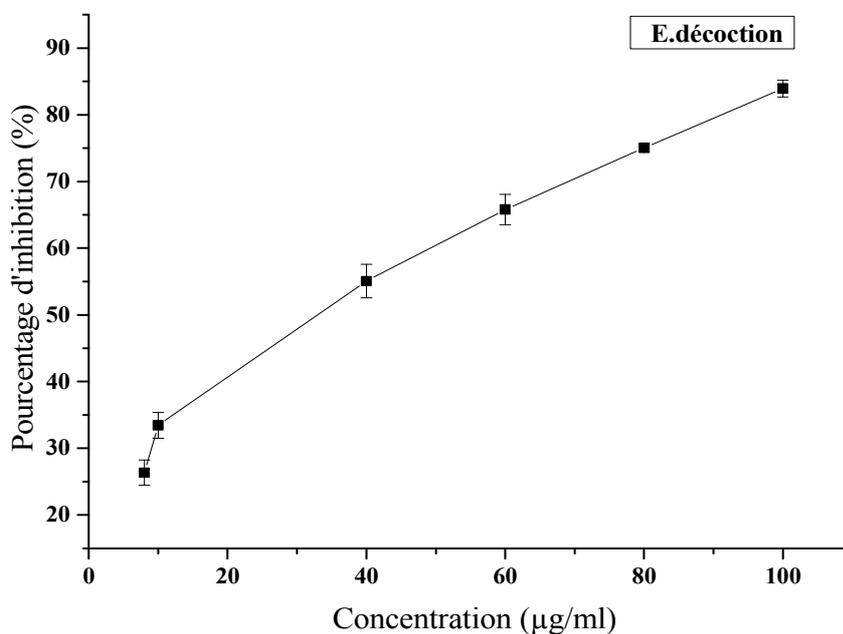
**Figure 19.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'extrait 70%. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique 70%.



**Figure 20.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'extrait 30%. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique 30%.



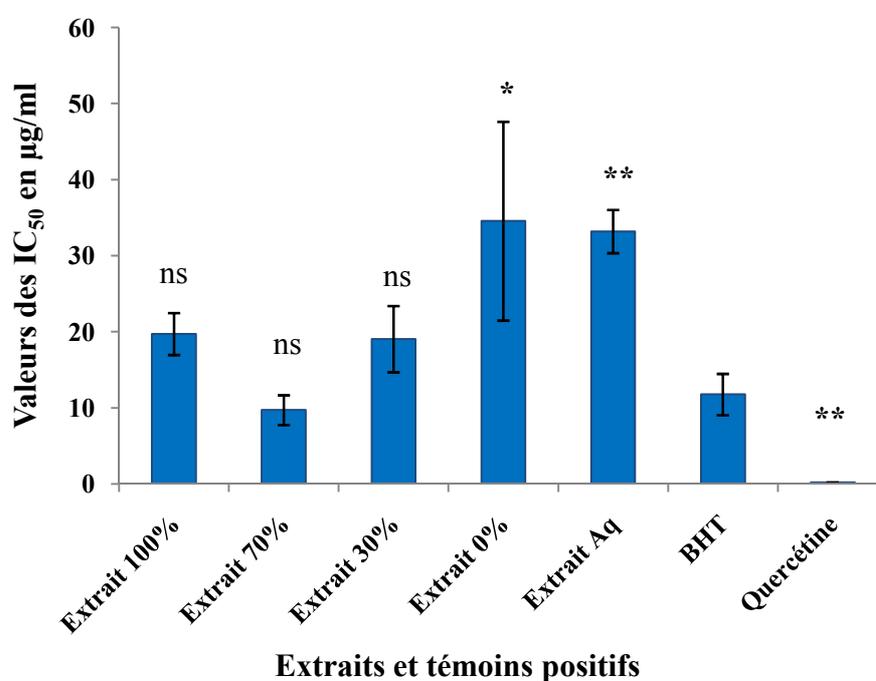
**Figure 21.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'extrait 0%. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). L'extrait 0% : extrait hydro-éthanolique 0%.



**Figure 22.** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• de l'extrait Aq. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  SD). Extrait Aq : extrait aqueux.

La capacité antioxydant des différents extraits a été déterminée à partir de l'IC<sub>50</sub>, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats (Abdulmajed *et al.*, 2005; Ahmad *et al.*, 2012; Ranga *et al.*, 2009), il définit la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant. (Hobi et Eddouks, 2016).

Nous avons déterminés pour chaque extrait l'IC<sub>50</sub>. Ces CI<sub>50</sub> sont déterminées à partir des graphes (Fig. 16, 17, 18, 19, 20, 21 et 22) dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonné l'activité antioxydante en pourcentage.les valeurs sont représentées dans la figure suivante (Fig. 23) :



**Figure 23.** Activité anti-radicalaire (test DPPH) des extraits de *R. alaternus* et les standards. (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais ± SD). Extrait 100% : extrait éthanolique, Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 0% : extrait hydro-éthanolique, Extrait Aq : extrait aqueux. \* : p<0.05 significatif, \*\* : p<0.01: très significatif, ns : p>0.05 : non significatif.

L'extrait (100%), l'extrait (70%) et extrait (30%) présentent l'activité la plus proche du BHT ( $IC_{50} = 11.78 \pm 2.71 \mu\text{g/ml}$ ) avec des valeurs d' $IC_{50}$   $19.73 \pm 2.76$ ,  $9.72 \pm 1.96$ ,  $19.05 \pm 4.35 \mu\text{g/ml}$  respectivement ; vue que la différence est statistiquement non significative par rapport à ce standard. Par contre l'extrait (0%) et l'extrait Aq présentent des différences très significatives avec le BHT avec  $IC_{50} = 34.56 \pm 13.06$  et  $33.19 \pm 2.84 \mu\text{g/ml}$  donc ils sont moins actifs que les premiers, d'autre part la quercétine était très active dans cette expérience.

D'après ces résultats, il semble que tous les extraits *R. alaternus* ont une activité anti oxydante envers le DPPH. Cette activité est liée à la présence des composés phénoliques dans ces extraits (Fig. 23).

L'effet scavenger augmente avec l'augmentation de la concentration des polyphénols dans l'extrait ce qui mène à suggérer que l'effet antioxydant d'un extrait de plante est en relation avec la quantité des polyphénols y présents. Cette hypothèse est démontré par plusieurs chercheurs tel que: Jayaprakasha et Patil, (2007); Agbor *et al.*, (2007) et Hodzic *et al.*, (2009).

Une étude menée par Ben ammar *et al.* (2008) sur les feuilles de la même espèce de plante de la Tunisie a montré une  $IC_{50}$  de  $19 \mu\text{g/ml}$ , lorsque l'extraction a été menée par le méthanol suivie par une extraction dans le butanol saturé en eau. Cette valeur est assez proche à celle trouvée avec nos extraits (Extrait 100% et Extrait 30%).

D'autre résultat ont été montré par le même groupe de chercheurs sur les écorces et les racines mélangés; une  $IC_{50}$  qui est de  $7 \mu\text{g/ml}$ , lorsque l'extraction a été menée par le méthanol suivie par une extraction dans le butanol saturé en eau. Cette valeur est nettement inférieure à celle trouvée avec nos extraits.

Dans une autre étude menée par Boussahel *et al.*, (2013) sur la même espèce de plante; une  $IC_{50} = 0,398 \pm 0.007$  et  $0,082 \pm 0,0006 \text{ mg/ml}$  à été démontrée pour l'extrait méthanolique et aqueux respectivement. Ce résultat est nettement supérieur à celle trouvée avec nos extraits.

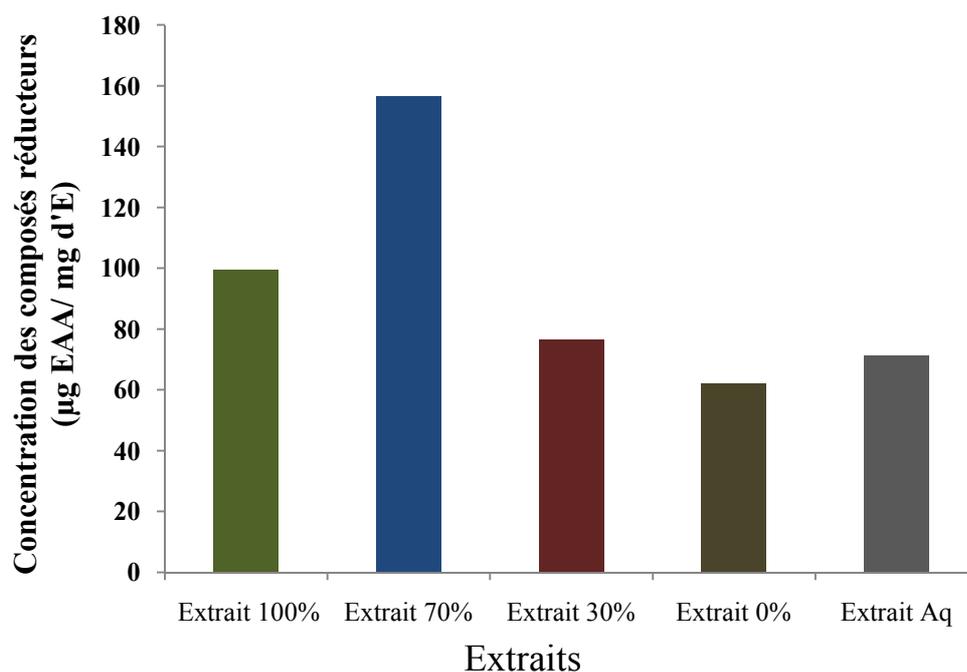
### **3.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power)**

Le potentiel réducteur des composés phénoliques de nos extraits a été évalué en utilisant la méthode de FRAP. Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de  $Fe^{3+}$ /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent,  $Fe^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Beaucoup de publications actuelles ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (Bentabet *et al.*, 2014).

La détermination de la concentration des composés réducteurs des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif ferrocyanure de potassium. La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les concentrations correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en microgramme équivalent d'acide ascorbique / mg d'extrait et déterminé par l'équation de type :  $y = 0,018 x + 0,081$  sachant que  $R^2 = 0,999$ .



**Figure 24.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée par la méthode FRAP. Extrait 100% : extrait éthanolique, Extrait 70% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 30% : extrait hydro-éthanolique, Extrait 0% : extrait hydro-éthanolique, Extrait Aq : extrait aqueux.

Les résultats présentés dans (la fig. 24) montrent que la plus grande capacité des extraits à réduire le Fer est celles de l'extrait 70% avec une concentration de 156,66 µg EAA/ mg d'E. Suivi par l'extrait 100%, l'extrait 30%, l'extrait Aq et l'extrait 0% avec des concentrations de 99,44 ; 76,66 ; 71,11 et 62,22 µg EAA/ mg d'E.

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydant , (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Les études menées par Van Acker *et al* sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques :

- les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B (les fonctions catéchol),
- les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C,

- les groupes 4-oxo et 5-hydroxy en position 3. Ainsi, la quercétine qui combine tous ces substituants est un complexant métallique particulièrement efficace (Ghedadba *et al.*, 2015).

Ce processus d'autoxydation dépend de multiples paramètres tels que la concentration de l'ion métallique et du polyphénol, la température, le pH, la présence d'agents complexants (Ghedadba *et al.*, 2015).

De nombreuses études ont évalué l'effet réducteur des ions ferreux par les extraits de diverses plantes. L'étude menée par Jeong *et al.*, (2004) montre que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. Par ailleurs, Yildirim *et al.*, (2001) indiquent qu'il y a une corrélation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes.

***CONCLUSION ET  
PERSPECTIVE***

## **Conclusion et perspectives**

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qui sont les composés intéressants et largement étudiés de nos jours.

Dans le présent travail, l'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés et la technique d'extraction, alors que la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes était conséquente.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux révèle la présence des quantités importantes en polyphénols dans les cinq extraits de *Rhamnus alaternus*. De même nous avons dosé les flavonoïdes qui nous mènent à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes.

L'activité antioxydante a été déterminée ; elle montre que les cinq extraits de la plantes étudiée présentent des propriétés antioxydantes remarquables. Cependant l'extrait hydro-éthanolique 70% est plus actif que les autres extraits vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH et la réduction des ions du fer (test FRAP).

Les capacités antioxydantes révélées peuvent être liées directement à la richesse des extraits de *R. alaternus* en polyphénols mais également à la structure de ces derniers.

Globalement, la plante sélectionnée dans ce travail contient probablement des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Notre pays possède une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constitué par des espèces médicinales, dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui pouvant être exploitées par les recherches.

Comme perspectives on propose d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antioxydant qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et être un alternatif des médicaments synthétiques.

Enfin, nous recommandons une culture des plantes médicinales et alimentaires pour permettre à la population d'avoir des médicaments et des denrées alimentaires moins chers et d'éviter la disparition de certaines espèces intéressantes.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

- Abdulmajed K., McGuigan C. & Heard C. M., 2005** : Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res* **39**, 491-498.
- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P. & Lomri A., 2007** : Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : role dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme* **74**, 636-643.
- Agbor G.A., Kuate D., Oben J.E., 2007** : Medicinal plants can be good source of antioxidants: case study in Cameroon. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **10**, 537-544.
- Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. & Basir A., 2012** : DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health*.
- Amarowicz R., Pegg R. B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B. & Weil J. A., 2004** : Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry* **84**, 551 - 562.
- Ammar R. B., Bhourri W., Sghaier M. B., Boubaker J., Skandrani I., Naffati A., Bouhlel I., Kilani S., Mariotte A. M., Chekir-Ghedira L., Dijoux-Franca M. G. D. & Ghedira K., 2009** : Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) : A structure-activity relationship study. *Food Chem* **116**, 258-264.
- Ammar R. B., Sghaier M. B., Boubaker J., Bhourri W., Naffati A., Skandrani I., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K. & Chekir-Ghedira L., 2008** : Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Chem.-Biol. Inter* **174**, 1-10.
- Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlel I., Ezzi L., Skandrani I., Boubaker J., Ben Sghaier M., Naffati A., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L. & Ghedira K., 2008** : Antiproliferative, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: Combination with the Phytochemical Composition. *Drug. Chem. Toxicol* **31**, 61-80.
- Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlel I., Skandrani I., Naffati A., Boubaker J., Ben Sghaier M., Bhourri W., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L. & Ghedira K., 2007** : Antibacterial and cytotoxic activities of extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* (Rhamnaceae). *Ann. Microbiol* **57**, 453-460.
- Amic D., Davidović-Amić D., Bešlo D., & Trinajstić N., 2003** : Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta* **76** (1), 55- 61.
- Avissar N., Whitin J.C., & Allen P.Z., 1989** : Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem* **2**, 15850-15855.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. & Pinkas M., 1996** : Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung* **46**, 1086-1089.
- Balasundram N., Sundram K. & Samman S., 2006** : Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-product : antioxidant activity, occurrence; and potential uses. *Food Chemistry* **9**, 19-120.
- Battandier JA., Debray FG., Flagey C., Petit P., & Trabut L., 1888** : Flore de l'Algérie. Ed. A. Jourdan, Alger, p. 189-190.
- Beaudeau J. L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. & Peynet J., 2006** : Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* **21**, 144-150.
- Beaudeau J. L. & Geneviève D., 2011** : Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition *Lavoisier Chantal Arpino*, p 130 , 131.

**Ben Ammar R., Kilani S., Bouhlel I., Ezzi L., Skandrani I., Boubaker J., Ben Sghaier M., Naffeti A., Mahmoud A., Chekir-Ghedira L. & Ghedira K., 2008** : Antiproliferative, Antioxydant, and Antimutagenic Activities of Flavonoid-Enriched Extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L. Combination with the Composition. *Drug. Chem. Toxicol* **31**, 61-80.

**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**, 364-371.

**Bergeret JP., Bergeret E. & Bergeret G., 1909** : Flore des Basses-Pyrénées. Ed. Imprimerie-stéréotype Garet, Pau, p. 230-231.

**Bhourri W., Boubaker J., Kilani S., Ghedira K. & Chekir-Ghedira L., 2012** : Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (*Rhamnaceae*): Kaempferol 3-O- B-isorhamminoside and rhamnocitrin 3-O-B isorhamminoside. *S. Afr. J. Bot* **80**, 57-62.

**Blois M. S., 1958** : Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.

**Boizot N. & Charpentier J.P., 2006** : Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).

**Bondet V., Williams W.B., Berset C., 1997** : Kinetic and mechanism of antioxydant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **30**, 609-615.

**Bonnefont-Rousselot D., Théron P. & Delattre J., 2003** : Radicaux libre et antioxydant en : Delattre J., Durand G., Jardillier J. C. Biochimie pathologique. *Flammarion*, Pris, p, 317.

**Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R. & Pizzariello A., 2007** : Comparative evaluation of the antioxydant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem* **100**, 1481-1489.

**Bougandoura N. & Bendimerad N., 2012** : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. *Nature & Technologie*, (9), 14-9.

**Boussahel S, Dahamna S, Giuseppe R, Siracusa L, Harzallah D., 2013**: Phytochemical Study and Antioxydant Activities of Leaves Extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Pharmacognosy Communications* **3**(1),46-53.

**Bruneton J., 2009** : Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> édition. Edition *Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales, Paris*, p 261 , 308 , 571.

**Cantin P. A., 1999** : Oxidant and antioxydants in lung injury. In: Lam and Other Diseases Characterized by Smooth Muscle Proliferation. *Moss j. New York: Dekker*, 519-531.

**Carrée P., 1953** : Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed Ballière, Paris, p.475.

**Chancerel L., 1920** : Flore forestière du globe. Ed. Gauthier-Villars, Paris , p. 561-562.

**Chandan K., Sens M. A. & Osmo H. 1994** : Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency. *Journal of Applied Physiology*, **77** (5), 2177-2187.

**Chen L., Yang X., Jiao H. & Zhao B., 2003** : Tea catechins protects against lead-induced ROS formation, mitochondrial dysfunction, and calcium dysregulation in pc 12 cells. *Chemical Research in Toxicology* **16** (9), 1155-1161.

**Chew M. H., Xu G. G., Ho P. W. & lee C. W., 2009** : A propos d'un cas de syndrome compartimental glutéol après traitement chirurgical d'un anévrisme de l'aorte abdominale. *Annles de chirurgie vasculaire* **23** (4), 17-21.

**Chira K., Suh j. H., Saucier C. & Teissédre P. L., 2008** : Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* **6** ,75 – 82.

**Collin S. & Crouzet J., 2011** : Polyphénols et procédés. *Edition Lavoisier TEC & DOC*, p 5 , 13 , 16 , 235.

**Cuvelier C., Dotreppe O. & Istasse L., 2003** : Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann.Méd. Vète* **147**, 315-324.

**D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. & Masella R., 2007**: Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann. Ist. Super Sanità* **43** (4), 348-361.

**Dai J. & Mumper R. J., 2010** : Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant *and AnticancerPropreties. Molecules* **15** (10), 7313-7352.

**Debeaux JO., 1984** : Flore de la Kabylie du Djurdjura, ou, Catalogue méthodique et raisonné de toutes les plantes vasculaires et spontanées observées jus'q'à ce jour dans cette contrée. Ed. P. Klincksieck, Paris, p. 81-82.

**Delattre J., Beaudoux J. L. & Bonnefont-Rousselot., 2005** : Radicaux libres et stress oxydant:aspects biologiques et pathologiques. *Edition Lavoisier TEC & DOC éditions Médicales Internationales, Paris*, p 14, 93, 94.

**Descheemaeker K. & Provoost C., 1999** : L'impacte de la nutrition sur la santé, dveloppements rcebts-1. *Edition. Louvin-Garant*, p 95. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J. F. and Stocker P. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* 2007., **224**, 801-809.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J. F. & Stocker P., 2007** : Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol* **224**, 801-809.

**Djeridane A.,Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. &Vidal N., 2006** : Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem* **97**, 654–660.

**Droge K . S.,2002** : Free radicals in physiological control of cell fuction. *Physiol.Rev* **82**, 47-95.

**Edardes J. P., 2008** : Coumarin Anticoagulant Research Progress. *Edition Nova Biomedical Books*, p 100.

**Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H. & Jurgens G., 1992** : The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical. Biology & Medicine* **13**, 341-390.

**Evans W. J., 2000** : Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr* **72**, 647S-652S.

- Favier A., 2003** : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.
- Fraga C. G., 2007** : Plant polyphenols: How to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. *IUBMB Life* **59** (4-5), 308-315.
- Fraga C. J. & Oteiza P. I., 2011** : Dietary flavonoides : Role of (-) – epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology & Medicine* **51**, 813-823.
- Ganther H. E., 1999** : Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxinreductase. *Carcinogenesis*.**20** (19), 1657-1666.
- Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z. & Daniel Jore D., 2003** : Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*. pp: 91-96.
- Gazengel J. M. & Orecchioni A. M., 2013** : Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique. 2ème édition. Edition *Lavoisier TEC & DOC, Paris*, p 1174.
- Ghasemzadeh A. & Ghasemzadeh N., 2001** : Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human . *Journal of Medicine Plants Research* **5** (31), 6697-6703.
- Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi M. C., Aberkane H., Bousselesla S. M. & Oued- Moukhtar., 2015** : Polyph énoles totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de Marrubium deserti de Noé. *Phytothérapie***13**, 18-129.
- Gilani G. S. & Anderson J. J. B., 2002** : Phytoestrogens and health. Edition *Aocs Press*, p 405.
- Gomez-Caravana A. M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., 2006** : Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Phrmaceutical and Biomedical Analysis* **41**, 1220-1234.
- Gubb AS. 1913** : La flore algérienne, naturelle et acquise. Ed. A. Jourdan, Alger , p. 16-17.
- Hagen T. M., Wierzbicka G. T., Sillau A. H., Bowman B. B. & Jones D. P., 1990** : Bioavailability of dietary glutathione: Effect on plasma concentration. *Am j Physiol* **259**, 524-590.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. & Chapelle J. P., 2007** : Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège* **62**, 628-638.
- Halliwell B., 1989** : Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol* **70**, 737-757.
- Hein E. K., Tagliaferro A. R. & Bobilya D. J., 2002** : Flavonoïds antioxydants : chemistry ; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry* **13**, 572-584.
- Hebi M. & Eddouks M., 2016** : Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie* **14**, 17-22.

**Hodzic Z., Pasalic H., Memisevic A., Srabovic M., Saletovic M., Poljakovic M., 2009** :The Influence of Total Phenols Content on Antioxidant Capacity in the Whole Grain Extracts. *European Journal of Scientific Research* **28** (3) 471-477.

**Hopkins W. G., 2003** : Physiologie végétale. 2ème édition. Edition de Boeck Université, p 268, 280.

**Hybertson BM., Gao B., Bose SK., McCord JM., 2011** : Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol Aspects Med.* août; **32**(4-6):234-46.

**Imran M., Ahmad N., Anjum F. M., Kamran-Khan M., Mushtaq Z., Nadeem M. & Hussain S., 2015** : Potentiel protective properties of flax lignin secoisolariciresinol diglucoside. *Nutrition journal* **14**, 1-7.

**Jadot G., 1994** : Antioxydants et vieillissement, *Edition John Libbey Eurotext*, p 35.

**Jain S. & Patil U. K., 2010** : Phytochemical and pharmacological profile of *Cassia tora* Linn. - An Overview. *Indian J. Nat. Prod. Resour* **1**, 430-437.

**Jarrige R., Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M. H. & Journet M., 1995** : Nutrition des ruminants domestique: ingestion et digestion. Edition *Inra*, p 57.

**Jayaprakasha G.K., Patil B.S., 2007**: In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food. Chem* **101**, 410-418.

**Jeong S.M., Kim S.Y., Kim D.R., Jo S.C., Nam K.C., Ahn D.U., Lee S.C., 2004** : Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **52**,3389-3393.

**Karp G., 2010** : Biologie cellulaire et moléculaire : Concepts and experiments. *Edition De Boeck Supérieur*, p 35.

**Kawasaki I., Jeong M. H., Oh B. K. & Shim Y. H., 2010** : Apigenin inhibits larval growth of *Caenorhabditis elegans* through DAF-16 activation. *FEBS Letters* **584**, 3587-3591.

**Kening Y., Vincenzo D. L. & Normand B., 1995** : Création of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to phytophthora infestans. *The Plant Cell*, **7**, 1787-1799.

**Koechlin-Ramonatxo C., 2006** : Oxygène, stress oxydant et supplémentation antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans la maladie respiratoire. *Nutrition Clinique & Métabolisme* **20**, 165 – 177.

**Kouri G., Tsimogiannis D., Bardouki H., Oreopoulou, V., 2007** : Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8**, 155-162.

**Lacolley P., Babuty, D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F. & Samuel J.L., 2007** : Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Edition *John Libbey Eurotext, Paris*, p 312 , 316 , 317.

**Leray C., 2010** : Les lipides dans le monde vivant. Edition *Lavoisier TEC & DOC*, p 5.

- Leverse X., Cosnes, J., Erny P. & Hasselmann M., 2001** : Traité de nutrition artificielle de l'adulte. 2ème édition. Edition *Springer*, p 241.
- Li H.B., Chemg K. W., Wong C.C., Fan K. W., Chen F. & Jiang Y., 2007**: Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry* **102**, 771-776.
- Macheix J. J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C., 2005** : Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Edition *Presses Polytechniques & Universitaires Romandes*, p Vii, 2, 3.
- Mai L. P., Gu Ñritte F. ĩ., Dumontet V., Tri M. V., Hill B., Thoison O., Gu Ñnard D. & S Ñvenet T., 2001** : Cytotoxicity of Rhamnosylanthraquinones and Rhamnosylanthrones from *Rhamnus nepalensis*. *J. Nat. Prod* **64**, 1162-1168.
- Marfak A., 2003** : Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. pp: 6-7-10.
- Martin S. & Andriantsitohaina R., 2002** : Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie* **51**, 304-315.
- Mathieu A., 1860** : Flore forestière; description et histoire des végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importantes de l'Algérie. Suivies d'une méthode analytique pour en déterminer les principales espèces. Ed. Ancienne maison Grimblot et cie, N. Grosjean, successeur, Nancy, p. 52-53.
- Matyushchenko N. V. & Stepanova T. A., 2003** : quantitative determination of the total content of flavonoids in the new phytopreparation Elima. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **37**, 261-263.
- Médart J., 2009** : Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative. 2<sup>ème</sup> édition. Edition *de Boeck Université*, p 51, 52.
- Merghem R., 2009** : Eléments de biochimie végétale. Editions *Bahaeddine Algérie*, p 111, 123.
- Middleton E., Kandaswami C. & Theoharides T. C., 2000** : The effects of plants flavonoids on mammalian cells : Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews* **52** (4), 673-751.
- Mohammedi Z., 2006** : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. Tlemcen.
- Molyneux P., 2004** : The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarim J. Sci. Technol* **26**, 211-219.
- Morena M., Martin-mateo M., Cristol J. P. & Canoud B., 2002** : Stress oxydant, hémoincompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie* **23** (5), 201-208.
- Moon J. K. & Shibamoto T., 2009** : Antioxidant assays for plant and food components. *J Agr Food Chem* **57**, 1655-1666.

**Niki L., Reynaert S. W., Aesif T. M., Amy B., Emiel F. M., Wouters C. G., Irvin., Yvonne M. W. & Janssen-Heininger., 2007** : Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. *The journal of Immunology* **178**, 3814-3821.

**Oyaizu M., 1986** : Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* **44**, 307-315.

**Penzig O., 1902** : Flore colorée de poche du littoral méditerranéen. Ed. P. Klincksieck, Paris, p. 27-28.

**Pietta P. G., 2000** : Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* **63**, 1035-1042.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R. & Defraign J. O., 1999** : L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaissaux, Coeur, Poumons*, **4**, 1-7.

**Poortmans J. R. & Boisseau N., 2009** : Biochimie des activités physiques et sportives. Edition de *Boeck université*, p 503.

**Popovici C., Saykova I. & Tylkowskib., 2010** : Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* (4), 1-8.

**Quezel P & Santa S., 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris , p. 617-620

**Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. & Madhusudana R. J., 2009** : New furanoflavonoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem* **17**, 5170-5175.

**Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E., Bouharmont J. & Evrard C. M., 2000** : Biologie végétale .1ère édition. Edition de *Boeck Université, Paris*, p 32.

**Rezaire A., 2012** : Activité anti-oxydant et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de Doctorat université des Antilles et de la Guyane.

**Ribéreau-Gayon J., Peynaud M., Ribéreau-Gayon P. & Sudraud P., 1972** : Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et contrôle des vins. Ed. Dunod, Paris, p. 671.

**Richardson J. E., Fay M. F., Cronk Q. C. B., Bowman D. & Chase M. W., 2000** : A phylogenetic analysis of *Rhamnaceae* using *rbcL* and *trnL-F* plastid DNA sequences. *Am. J. Bot* **87**, 1309-1324.

**Roberfroid M. B., Coxam V. & Delzenne N. M., 2008** : Aliments fonctionnels. 2ème édition. Edition *Lavoisier TEC & DOC*, p 209, 215

**Scheibmeir H. D., Christensen K., Whitaker S. H., Jegaethesan J., Clancy, R. & Pierce, J. D., 2005** : A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs* **21** (1), 8-24.

**Sharma S., Sheehy T., Kolahdooz, F. & Barasi, M., 2015** : Nutrition at a Glance. Second Edition *Wiley Backwell*, p 162.

**Singleton V. L., Orthofer R. & Lamuela-Raventos R. M., 1999** : Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.*152-177.

**Sökmen B. B., Aydın S. & Kınaloğlu K., 2012** : Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Biology*, **71** (1), 43–51.

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

**Tawaha K., Alali F. Q., Gharaibeh M., Mohammad M. & El-Elimat T., 2007** : Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem* **104**, 1372-1378.

**Tiwari A. K., 2001** : Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science* **81** (9), 1179-1181.

**Torres R., Faini F., Modak B., Urbina F., Labbe' C. & Guerrero J., 2006**: Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry* **67**, 984–987.

**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. *Int j Biochem Cell Biol* **39**, 44-84.

**Vincent J. L. & Martin C., 2008** : Le syndrome de détresse respiratoire aigue. Edition *Springer Berlin Heidelberg New York*, p 172.

**Vuorela S., 2005** : Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki, Helsinki, p. 76.

**Waston R. R., Preedy V. R. & Zibadi, S., 2013** : Polyphenol in Human Health and Disease. Edition *Academic Press is an Imprint of Elsevier*, p 643.

**Wolin M. S., 2009** : Reactive oxygen species and the control of vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **296**, H539-549.

**Yidirium A., Mavi A., Kara A., 2001**: Détermination of antioxidants and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 49, n° 8, pp.4083 -4089.

*Rhamnus alaternus* L. هي شجيرة تنتمي إلى عائلة *Rhamnaceae*؛ إنه نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. تم نقع الجزء الهوائي من النبات (الأغصان والأوراق) في الإيثانول في أربعة مستخلصات مختلفة (100%، 70%، 30%، 0%). والغليان في الماء المقطر (مستخلص مائي). يظهر المستخلص المائي والمستخلص 70% غلافاً مهمة هي 29% و 27% على التوالي (م / م). تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، فكان في المستخلص 100% ( $169.6 \pm 0.642 \mu\text{g EAG / mg}$ ) وفي المستخلص 70% ( $154.4 \pm 0.642 \mu\text{g EAG / mg}$ ). تم تقييم مركبات الفلافونويد بواسطة استخدام كلوريد الألومنيوم  $\text{AlCl}_3$ ، والمحتوى مرتفع بشكل ملحوظ في المستخلص 70% ( $190 \pm 3.14 \mu\text{g EQ / mg}$ ). تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتين مختلفتين: طريقة كسح الجذور الحرة DPPH والحد من ferrocyanide البوتاسيوم FRAP. بالنسبة للاختبار الأول المستخلص 70% يعبر عن نشاط ممتاز مع  $\text{IC}_{50}$  ( $9.72 \pm 1.96 \mu\text{g/ml}$ ). بالنسبة للاختبار الثاني، فإن تركيز مكافئ حمض الأسكوربيك من المركبات المختزلة مرتفع بشكل ملحوظ في المستخلص 70% ( $156.66 \mu\text{g EAA / mg}$  من المستخلص). سمحت لنا نتائج هذا العمل بأن نؤكد أن جميع مستخلصات النبات التي خضعت للدراسة لها خصائص مضادة للأكسدة جيدة جداً يمكن أن تسمح لنا بالتوصية بها في مجال التكنولوجيا الحيوية.

**كلمات مفتاحية:** مضاد الأكسدة، *Rhamnus alaternus* L.، عديد الفينول، DPPH، FRAP.

## Résumé

*Rhamnus alaternus* L. est un arbuste qui appartient à la famille des *Rhamnaceae*. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. La partie aérienne de la plante (rameaux et feuilles) a été soumise à une macération dans l'éthanol en quatre extraits différents (100%, 70%, 30%, 0%) et à une décoction dans l'eau distillée (extrait aqueux). Les extraits aqueux et extrait 70% présentent les rendements importants qui sont de 29% et 27% respectivement (m/m). La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de  $169,6 \pm 0,642$  (Extrait 100%) et  $154,4 \pm 0,642$  (Extrait 70%)  $\mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium  $\text{AlCl}_3$ , la teneur est remarquablement très élevée dans l'extrait 70% ( $190 \pm 3.14 \mu\text{g EQ / mg}$  d'extrait). L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes: la méthode de piégeage de radical libre DPPH et la réduction du ferrocyanure de potassium FRAP. Pour le premier test; l'extrait 70% exprime une excellente activité avec une  $\text{IC}_{50}$  de  $9.72 \pm 1.96 \mu\text{g/ml}$ . Pour le second test la concentration équivalente en acide ascorbique des composés réducteurs est remarquablement très élevée dans l'extrait 70% ( $156.66 \mu\text{g EAA / mg}$  d'extrait). Les résultats de ces travaux nous ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits de la plante étudié présentent des très bonne propriétés antioxydantes qui pourraient nous permettre de les recommander dans la biotechnologie.

**Mots clés:** antioxydant, *Rhamnus alaternus* L., polyphénols, DPPH, FRAP.

## Abstract

*Rhamnus alaternus* L. is a shrub that belongs to the family *Rhamnaceae*. It is a medicinal plant widely used in traditional medicine in Algeria. The aerial part of the plant (twigs and leaves) was macerated in ethanol in four different extracts (100%, 70%, 30%, 0%) and a decoction in distilled water (aqueous extract). The aqueous extracts and 70% extract show significant yields which are 29% and 27% respectively (m / m). The total polyphenol content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is  $169.6 \pm 0.642$  (100% extract) and  $154.4 \pm 0.642$  (70% extract)  $\mu\text{g EAG / mg}$  of extract. The flavonoids were evaluated by the method using  $\text{AlCl}_3$  aluminum chlorides, the content is remarkably very high in the 70% extract ( $190 \pm 3.14 \mu\text{g EQ / mg}$  of extract). The antioxidant activity was evaluated using two different methods: the DPPH free radical scavenging method and the reduction of FRAP potassium ferrocyanide. For the first test; the 70% extract expresses an excellent activity with an  $\text{IC}_{50}$  of  $9.72 \pm 1.96 \mu\text{g / ml}$ . For the second test the ascorbic acid equivalent concentration of the reducing compounds is remarkably very high in the 70% extract ( $156.66 \mu\text{g EAA / mg}$  of extract). The results of this work allowed us to affirm that all the extracts of the plant studied have very good antioxidant properties that could allow us to recommend them in biotechnology.

**Key words :** antioxidant, *Rhamnus alaternus* L., polyphenols, DPPH, FRAP