



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

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 الأرض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Science biologique
Spécialité : Biochimie

Intitulé :

**Evaluation des propriétés antioxydantes des extraits de
Ruscus Aculeatus (le petit houx).**

Présenté par :

- ✓ Boukhari Asma.
- ✓ Benziouche chourouk.

Devant le jury :

Président : M^{me} MEZITI Asma MCB

Encadrant : M^f BELLIK Yuva MCA

Examineur : M^{me} BENSEGHIR Hadjira MCB

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné la force, la patience à réaliser ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à adresser nos remerciements à :

À nos familles pour leurs encouragements, les sacrifices qu'ils ont consentis pendant la durée de nos études et pour leurs soutiens aussi bien moral que financiers.

*À M^{me} **Meziti Asma**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.*

*À Notre encadrant Mr **Bellik Yuva** pour ses précieux conseils et orientations pour sa disponibilité, son encouragement et pour tout l'intérêt qu'il a accordé à ce travail.*

*À M^{me} **Bensghir Hadjira**, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*À Mr **Alliât** et à tous les forestiers de la circonscription des forêts (Bordj Zemoura).*

À tout le personnel de laboratoire pour leurs aides.

A la fin Nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec Joie, fierté et Respect, je dédie ce mémoire :

*A la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, à
mon cher père **Mokhtar**.*

*A la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je me rendorme, à ma très
chère mère **Fatiha**.*

*Je ne saurais jamais remercier autant, Un grand et tout particulier « Merci » de m'avoir supporté
durant toutes ces années, et de m'avoir inculqué de vraies valeurs et que dieu leur procure la bonne
santé et la longue vie.*

*A mes chers frères **Saadi** et **Ali** qui je vous aime vraiment, Qui ont su m'encourager et me soutenir dans
les différentes Situations de ma vie.*

A l'âme de mes grands-mères et mes grands-pères.

A toute ma famille, tantes, oncles, cousins et cousines, petits et grands, sans exception.

*A ma chère copine, mon binôme et ma jumelle de cœur Chourouk, que je partage ce moment si
précieux.*

A ma chère amie Houda l'amie la plus cool du monde.

A tous qui me connaisse de près ou de loin.

A toute la promotion de biochimie.

Asma

Dédicaces

Avec Joie, fierté et Respect, je dédie ce mémoire :

A mon très cher père **Abdallah**, l'épaule solide, mon support de ma vie, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

A ma très chère mère **khalissa**, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi et qui fait tout pour ma réussite.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Merci énormément.

فخلكم يا والدي عملي حتى اللجم كل هم قد أصبحنا زادكم بالطبع هم
إن كل ما جنينا من جهودكم نجم والدي يا خير عون كان لي عند المحن

A mon adorable petit frère **Aymen**, mon source d'énergie, je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite.

A ma sœur **Amani**.

A l'âme de ma grande mère et mes grands-pères.

A toute ma famille, tantes, cousins et cousines, petits et grands, sans exception.

A ma chère copine, mon binôme et ma jumelle de cœur Asma, que je partage ce moment si précieux.

A ma chère amie : Dounia.

A tous mes amies et toute personne que je connais.

A toute la promotion de Biochimie.

Chourouk

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre I : Radicaux libres, stress oxydant et les antioxydants.

I.1. Radicaux libres.....	3
I.1.1. Les principales espèces réactives de l'oxygène	3
I.1.1.1. Les espèces radicalaires	3
I.1.1.2. Les espèces non radicalaires	4
I.1.2. Sources des radicaux libres	5
I.1.2.1. Sources endogènes.....	5
I.1.2.2. Sources exogènes	7
I.2. Stress oxydant	7
I.2.1. Maladies liées au stress oxydant	7
I.3. Système de défense antioxydant	8
I.3.1. Système antioxydant endogène enzymatique	8
I.3.2. Système antioxydant exogène non enzymatique.....	9

Chapitre II : phytothérapie.

II.1. Introduction à la médecine traditionnelle	11
II.2. Les métabolites secondaires	11
II.3. Classification des métabolites secondaires.....	11

II.3.1. Les polyphénols	12
-------------------------------	----

Chapitre III : "Ruscus Aculeatus".

III.1. Généralité	14
III.1.1. Noms vernaculaires.....	14
III.2. Description botanique	15
III.3. Systématique de la plante.....	15
III.4. Composition chimique	15
III.5. Effet thérapeutique.....	17
III.5.1. Autres activités biologiques	18

Partie pratique

I. Matériel et méthodes.

I.1 Matériel.....	19
I.1.1 Matériel végétal.....	19
I.2. Méthodes d'analyses	20
I.2.1. Préparation des extraits.....	21
I.2.2. Evaluation du taux d'humidité	21
I.2.3. Détermination de la teneur en cendres totales	21
I.2.4. Dosage des composés phénoliques.....	22
I.2.5. Dosage des flavonoïdes	23
I.2.6. Détermination des pigments liposolubles	23
I.2.7. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits	24
I.2.7.1. Activité scavenger à l'égard du radical DPPH.....	24
I.3. Analyse statistique.....	25

II. Résultats.

II.1. Taux d'humidité.....	26
II.2. Teneurs en cendres totales.....	26

II.3. Rendements d'extraction.....	26
II.4. Teneurs en polyphénols totaux	27
II.5. Teneurs en flavonoïdes.....	28
II.6. Teneurs en pigments liposolubles.....	29
II.7. Activité antioxydante par piégeage du radical DPPH.....	29
III. Discussion.	31
Conclusion.	34
Références bibliographiques.	
Annexes.	
Résumé.	

Liste des abréviations

ATP : Adénosine triphosphate.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

BHA: Butylhydroxyanisole.

CAT : Catalase.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

ERA : Espèces réactives de l'azote.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

FADH₂ : Flavine adénosine dinucléotide, forme réduite.

GPx : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée).

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %.

NO[•] : Monoxyde d'azote.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

O₂^{•-}: Anion superoxyde.

OH[•]: Radical hydroxyl.

SOD : superoxyde dismutase.

UV: Ultraviolet.

Liste des Figures

Figure 1 : Quelques exemples de sources de production des radicaux libres	5
Figure 2 : Production de ROS mitochondrial	6
Figure 3 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.....	8
Figure 4 : classification des métabolites secondaires	11
Figure 5 : Structures de base des principaux flavonoïdes	13
Figure 6 : <i>Ruscus aculeatus</i> (petit houx).....	14
Figure 7 : Structure chimique du squelette stéroïdien (A), de la ruscogénine (B) et de la néoruscogénine (C)	16
Figure 8 : Parties aériennes (feuilles, tiges et fruits) de <i>Ruscus aculeatus</i>	19
Figure 9 : Broyage des parties aériennes de <i>Ruscus aculeatus</i>	19
Figure 10 : Tamisage de la poudre à l'aide de différents tamis.....	19
Figure 11 : Diagramme montrant le protocole d'extraction, du dosage des substances actives et de l'évaluation de l'activité antioxydante	20
Figure 12 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	24
Figure 13 : Taux d'humidité de <i>Ruscus Aculeatus</i>	26
Figure 14 : Rendement d'extraction de la partie aérienne de <i>Ruscus Aculeatus</i>	27
Figure 15 : Teneurs en polyphénols totaux de la partie aérienne de <i>Ruscus Aculeatus</i>	27
Figure 16 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de <i>Ruscus Aculeatus</i>	28
Figure 17 : Teneurs en pigments liposolubles de la partie aérienne de <i>Ruscus Aculeatus</i> .	29
Figure 18 : Activité antioxydante des extraits de <i>Ruscus Aculeatus</i> et de quelques antioxydants standards	30

Liste des tableaux

Table I : Différents types des espèces réactives de l'oxygène	3
Table II : Principaux sources exogènes de production des EOA	7
Table III : Noms vernaculaires de <i>Ruscus Aculeatus</i>	14
Table IV : classification de <i>Ruscus aculeatus</i>	15

Introduction

Introduction

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes (**Favier, 2006**). Le stress oxydant a été relié à la cause et la progression d'un nombre de plus en plus important de maladies humaines (**Baudin, 2020**).

Les plantes médicinales sont de plus en plus utilisées à des fins thérapeutiques malgré les progrès de la chimie de synthèse, et ce du fait de leur efficacité dans le traitement de nombreux processus pathologiques telles que les maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, le traitement des cancers,... (**Lazli et al., 2019**). En effet, l'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Actuellement, les travaux de recherches sont consacrés à l'exploration de nouvelles sources végétales pour la découverte d'antioxydants naturels plus surs et plus efficaces (**Talbi et al., 2015**). Ces composés naturels sont valorisés particulièrement pour leur fort potentiel antioxydant et leur capacité de en prévention et d'inhibition des processus et dommages oxydatifs (**Uttara et al., 2009 in Poljuha et al., 2015**).

Ruscus aculeatus connue sous le nom de petit houx appartient à la famille des Asparagaceae. C'est une plante menacée dont les principaux composants bioactifs les ruscogénines, cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle dans de nombreux pays, en particulier, dans le traitement des patients atteints des hémorroïdes, œdèmes, ainsi que les troubles du système veineux, y compris la fragilité veineuse ou les varices. Le petit houx a été utilisé également en tant que laxatif et dépuratif.

C'est dans ce contexte de recherche sur le stress oxydant et les plantes médicinales douées de propriétés thérapeutiques que s'inscrit l'objectif de notre travail à savoir l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Ruscus Aculeatus* récoltée dans la région Bordj Bou Arréridj.

Ce document est divisé en deux parties :

La première partie décrit les radicaux libres, les sources des radicaux libres (endogènes et exogènes), le stress oxydant, et les systèmes antioxydants et rapporte quelques données bibliographiques liées à la plante *Ruscus Aculeatus*.

La deuxième partie concerne l'étude expérimentale dans laquelle sont décrites les différentes étapes suivies pour la réalisation de cette étude soit : récolte des échantillons, extraction des substances actives, dosage de polyphénols et des flavonoïdes, détermination des pigments liposolubles et évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des cinq extraits (extrait méthanolique, extrait aqueux, extrait acétonique, extrait éthanolique, extrait éthyl acétate) en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Dans cette partie sont présentés également les résultats générés et leur discussion. L'ensemble est terminé par une conclusion.

Partie bibliographique

Chapitre I :
Radicaux libres, stress oxydant et les antioxydants

I.1. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant, sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés), cet électron lui confère une certaine instabilité et haute réactivité (Ortiz et al., 2013).

D'après Phaniendra et al. (2015), le nombre impair d'électrons d'un radical libre le rend instable, de courte durée et très réactif. En raison de leur réactivité élevée, ils peuvent extraire des électrons d'autres composés pour atteindre la stabilité. Ainsi, la molécule attaquée perd son électron et devient elle-même un radical libre, déclenchant une cascade de réactions en chaîne qui endommage finalement la cellule vivante.

I.1.1. Les principales espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent être radicalaires (radicaux libres de l'oxygène proprement dit) ou non-radicalaires (certains dérivés oxygénés réactifs ne possédant pas d'électron célibataire) (Gardès-Albert et al., 2003). Le tableau I reprend les principales ERO.

Table I : Différents types des espèces réactives de l'oxygène (Gutowski and Kowalczyk, 2013).

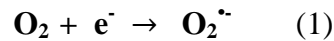
Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}	Oxygène singulet	1O_2
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}	Peroxynitrite	$ONOO^-$

I.1.1.1. Les espèces radicalaires

✓ L'anion superoxyde

L'anion superoxyde est issu de la réduction mono électrique d'une molécule de dioxygène. Il est donc la première ERO produite (Mongens, 2013).

L'addition d'un électron au dioxygène forme l'anion superoxyde selon la réaction 1 :



Parmi les sources cellulaires de la production d'anion superoxyde sont :

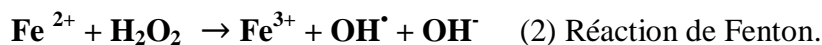
- les mitochondries lors de la respiration cellulaire (majoritairement).
- La poussée respiratoire des polynucléaires neutrophiles (respiratory burst).
- les oxydases (xanthine oxydase, NO synthase).

✓ **Le monoxyde d'azote**

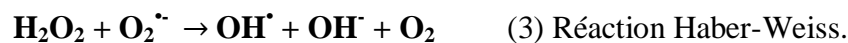
Le monoxyde d'azote est un composé important, il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de la NO-synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...) (Hare, 2004 in Haleng et al., 2007).

✓ **Le radical hydroxyle**

Le radical hydroxyle est une espèce radicalaire de l'oxygène la plus délétère en raison de son potentiel d'oxydoréduction très élevé et de ses constantes de vitesse très importantes. Le radical hydroxyle peut être produit à partir du peroxyde d'hydrogène en présence de cations tels que Fe^{2+} selon la réaction de Fenton (2) (Beaudeau et al., 2006; Gardès-Albert et al., 2003).



Le fer peut également catalyser la transformation de l'anion superoxyde en présence de peroxyde d'hydrogène avec production de radical hydroxyle par la réaction de Haber-Weiss (3) (Beaudeau et al., 2006).



I.1.1.2. Les espèces non radicalaires

✓ **Le peroxyde d'hydrogène**

L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène) résulte de la réaction (4) de dismutation du radical superoxyde catalysée par la superoxyde dismutase (SOD) :



Le peroxyde d'hydrogène est moins réactif que l'anion superoxyde, la majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle OH^\bullet en présence de cations métalliques tels que Fe^{2+} (réaction de Fenton) (**Gardès-Albert et al., 2003**).

✓ Oxygène singulet

L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) est une molécule mise en état d'excitation par activation photochimique de l'oxygène (**Belkheiri, 2010**). C'est une molécule très instable qui peut être produit par plusieurs réactions biochimiques d'oxydation incluant la peroxydase et la lipoxygénase, par la réaction entre divers ERO ou en présence de la lumière (**Sorg, 2004**).

I.1.2. Sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits principalement par deux voies : endogènes et exogènes. La figure 1 montre quelques voies de production des radicaux libres.

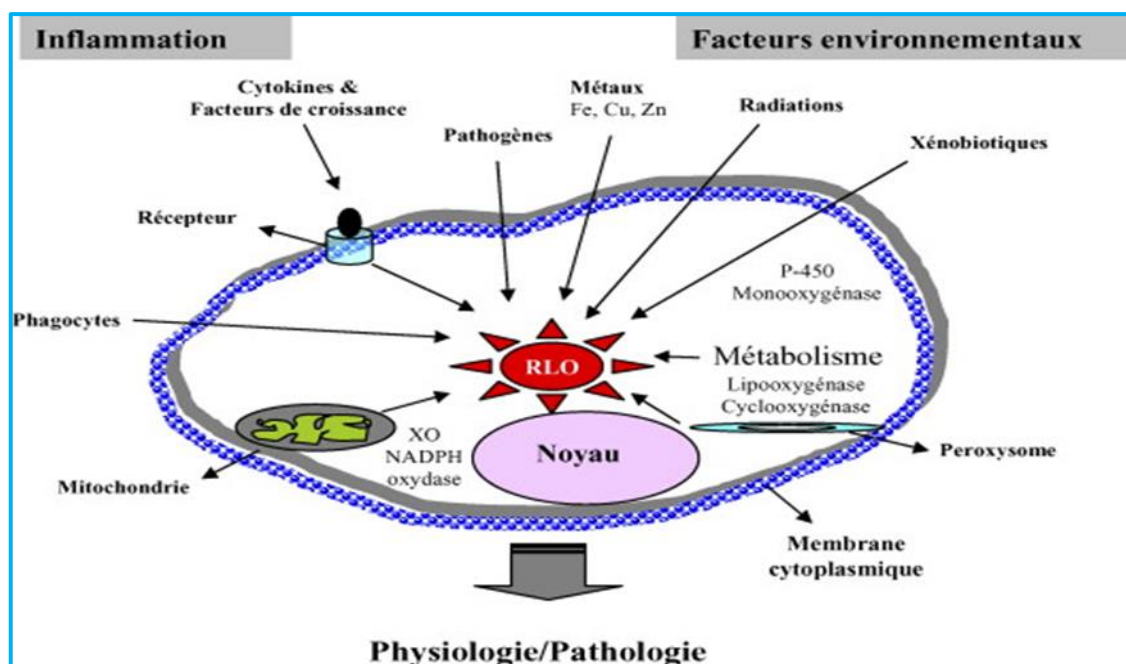


Figure 1 : Quelques exemples de sources de production des radicaux libres (Afonso et al., 2007).

I.1.2.1. Sources endogènes

La principale source de production des radicaux libres étant la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire, elle produirait en effet 90% des ERO (**Balaban et**

al., 2005). La phosphorylation oxydative représente la voie métabolique énergétique principale de l'organisme assurant une production importante et permanente d'ATP.

En effet, l'ATP est produit dans la mitochondrie grâce à l'énergie qui résulte du transfert des électrons du NADH et FADH₂ à l'oxygène par l'intermédiaire d'une série de transporteurs d'électrons appelés collectivement la chaîne de transport d'électrons (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les radicaux libres principalement les radicaux superoxyde sont produits dans des conditions physiologiques par la chaîne respiratoire mitochondriale suite à une fuite d'électrons au niveau des complexes I et III (Figure 2), qui ne dépasse pas 3 à 5 % de la production mitochondriale (Ballinger, 2005 in Beaudoux et al., 2006).

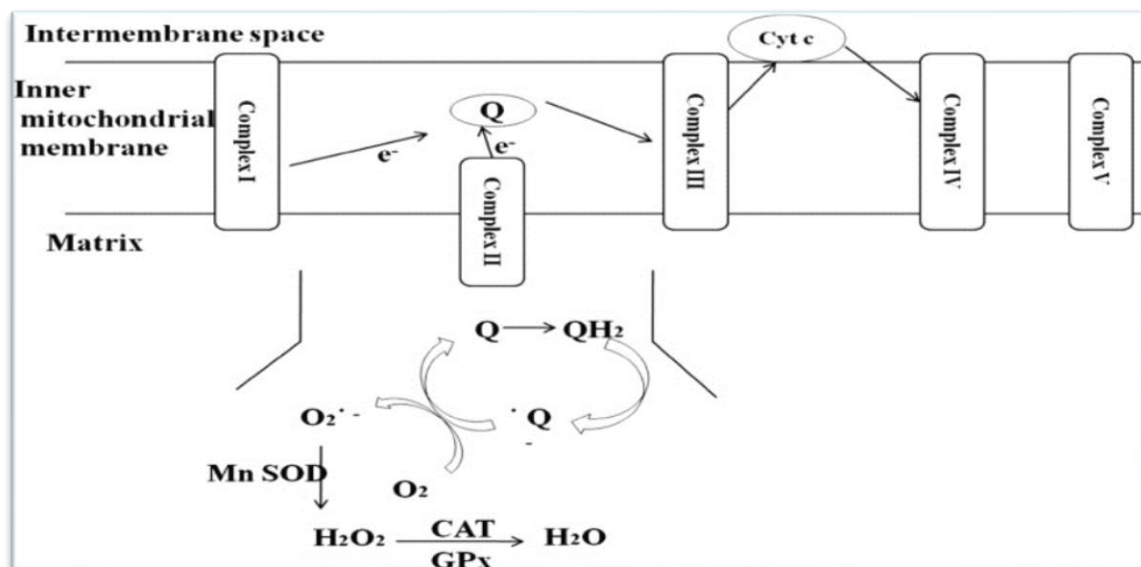


Figure 2 : Production de ROS mitochondrial (Phaniendra et al., 2015).

Au cours de l'inflammation, les cellules phagocytaires activées sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes (Favier, 2003).

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie-reperfusion

ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l' $O_2^{\cdot-}$ (réaction 5) (McKelvey et al., 1988; Parks et al., 1988).



I.1.2.2. Sources exogènes

Les radicaux libres sont également produits dans les systèmes biologiques par diverses sources exogènes indiquées dans le tableau II.

Table II : Principaux sources exogènes de production des EOA (Pincemail, 2001) .

Mode de vie	Environnement
✓ Tabagisme	✓ Pollution
✓ Faible consommation en fruits et légumes	✓ Ozone
✓ Alcool	✓ Exposition aux radiations ultraviolets
✓ Médicament « pilule » contraceptive	✓ Pesticides
✓ Exercice intense ou mal géré	

I.2. Stress oxydant

Le stress oxydant est le terme se rapportant au déséquilibre entre la generation des oxydants et l'activité des défenses antioxydantes, qui pourrait mener aux dommages oxydants (Ríos-Arrabal et al., 2013). A l'état quiescent, on dit que la balance antioxydants/ pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre. Cependant cette homéostasie rédox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO et ERA soit par une diminution des capacités antioxydantes, On parle alors de stress oxydant (Migdal and Serres, 2011).

I.2.1. Maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant a été relié à la cause et la progression d'un nombre de plus en plus important de maladies humaines tels que la maladie d'Alzheimer (Butterfield et al., 2006) le cancer (Goetz and Luch, 2008), la maladie de Parkinson, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'oedème pulmonaire, le vieillissement accéléré (Favier, 2006), l'arthrites rhumatoïde (Hitchon and El-Gabalawy, 2004) ainsi que les maladies cardiovasculaires (De Marchi et al., 2013) et l'athérosclérose (Ross, 1999).

I.3. Système de défense antioxydant

Il existe deux lignes de défense (Figure 3) :

- Système endogène enzymatique constitué principalement de la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT).
- Système exogène non enzymatique apporté par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments.

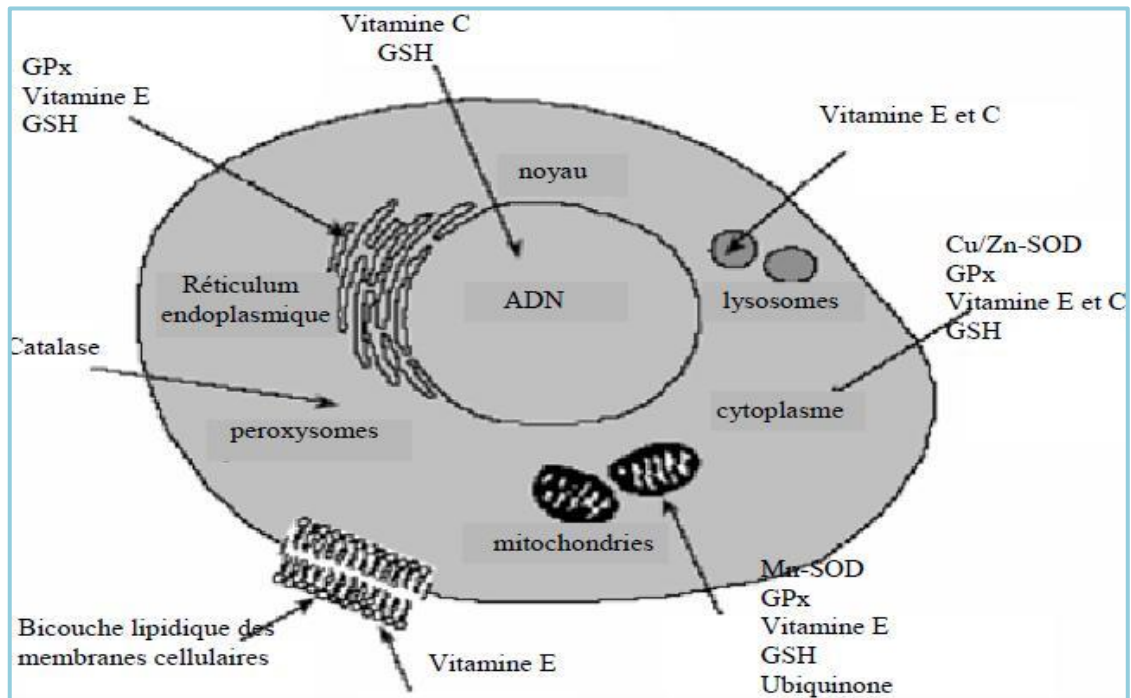


Figure 3 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule (Garait, 2006).

(Mn-SOD) : superoxyde dismutase mitochondriale, (Cu/Zn-SOD) : superoxyde dismutase cytosolique, (GPx) : glutathion peroxydase, (GSH) : glutathion réduit.

I.3.1. Système antioxydant endogène enzymatique

Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO.

✓ Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène (Barry et John, 2015 in Belkheiri, 2010).

La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique (**Okado-Matsumoto et Fridovich, 2001; Sturtz et al., 2001 in Garait, 2006**).

- Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD).
- Une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD).
- Une forme extracellulaire (EC-SOD).

✓ **Glutathion peroxydase (GPX)**

Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries. Elles permettent de réduire le H₂O₂ en H₂O en parallèle de l'oxydation du glutathion (réaction 6).



Quatre glutathion peroxydases à sélénium ont été identifiées : cellulaire, extracellulaire, intestinale et la phospholipide glutathion peroxydase (**Théron, 2003 in Guillouty, 2016**).

✓ **Catalase**

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et des hépatocytes (**Zerargui, 2015**).

I.3.2. Système antioxydant exogène non enzymatique

Les antioxydants non-enzymatiques sont présents principalement dans l'alimentation. Parmi eux, on retrouve certaines vitamines tels que la vitamine E (tocophérol) et la vitamine C (ascorbate), on trouve également les caroténoïdes les oligoéléments, et les polyphénols.

✓ **Les vitamines**

- **La vitamine C (ascorbate)**

Connue pour ses nombreux bénéfices (contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse de collagène et des globules rouges, etc), la vitamine C est un excellent antioxydant.

Elle est capable de réduire l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) et peroxydes (ROO^{\bullet}), et de régénérer la vitamine E. Comme la plupart des vitamines, elle est apportée par l'alimentation. Un taux bas correspond soit à un déficit d'apport, soit à une consommation excessive de tabac, ou à une atteinte pathologique. La vitamine C peut être régénérée par le NADPH ou par le glutathion (**Durand, 2018**).

- **La vitamine E**

Selon **Haleng et al. (2007)**, la vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe sous huit formes différentes. Le α tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E chez l'homme. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO^{\bullet}) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique.

- ✓ **Les oligoéléments :**

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss) (**Garait, 2006**).

- ✓ **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments naturels liposolubles très diversifiés et largement répandus dans la nature mais le caroténoïde le plus connu et étudié est le β -carotène. Ces composés sont également susceptibles d'avoir des activités biologiques dont certaines d'entre elles sont fondamentales, ils peuvent servir de précurseur de la vitamine A et jouent un rôle antioxydant ou immuno-stimulant. De plus, des enquêtes épidémiologiques ont associé la consommation d'aliments riches en caroténoïdes à la prévention de certaines pathologies comme les cancers, les maladies cardio-vasculaires ou certaines pathologies oculaires (**Choubert et al., 2001**).

Chapitre II : phytothérapie

II.1. Introduction à la médecine traditionnelle

La nature est pleine de ressources aux vertus bénéfiques pour l'homme, en plus de son alimentation, il y trouve des substances actives qui procurent un bienfait à son organisme.

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures de par le monde. En effet les plantes sont une source inépuisable de substances biochimiques tels que les tanins, les glucosides, les flavonoïdes, les saponines, résines..., etc qui procurent des propriétés curatives appréciables et aucune chimie synthétique ou combinatoire ne peut nous offrir (Eddouks et al., 2007).

II.2. Les métabolites secondaires

Les plantes produisent une grande variété de composés non nutritifs et qui ne sont pas directement liés à leur développement. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. En se basant sur leurs origines biosynthétiques, les substances naturelles végétales peuvent être divisées en plusieurs groupes (Richter, 1993).

II.3. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, ils appartiennent à trois grandes familles comme le montre la figure 4:

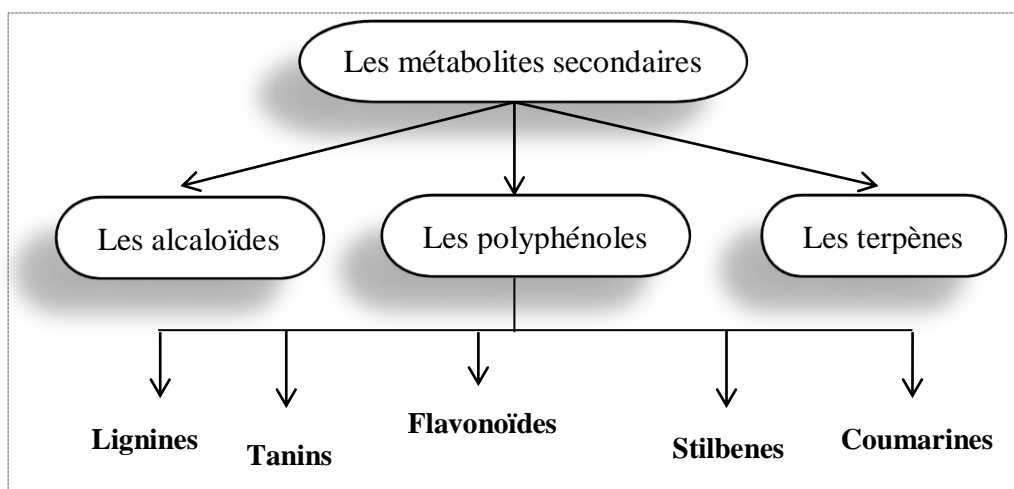


Figure 4: classification des métabolites secondaires (Hennebelle et al., 2004).

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologiques (**Bruneton, 1999**).

II.3.1. Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de composés qui sont omniprésents dans le règne végétal. Ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils sont subdivisés en différentes sous classes: les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (**Sarni-Manchado et al., 2006**). Ils sont connus principalement pour leurs activités antioxydantes ; ils peuvent piéger les radicaux libres, inhiber les enzymes responsables de la formation des radicaux libres et sont également des chélateurs de certains ions métalliques (**Dugas et al., 2000 in El-Haci et al., 2012**).

a) Les acides phénoliques

Les acides phénoliques ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils se divisent en deux classes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Ces substances sont généralement à l'état soluble dans les vacuoles (**Macheix et al., 2006**). Ils ont des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et chélatrices (**Mandal et al., 2010**).

b) Les flavonoïdes

Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques (plus de 6 000 composés) distribués dans le règne végétal (**Ghedira, 2005**). Les flavonoïdes comprenant 15 atomes de carbone forment une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle oxygéné (cycle C) (**Chira et al., 2008**). Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à dire liée à des oses et autres substances.

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavonols, flavones, flavanes, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure 5) (**Medić-Šarić et al., 2004**). De nombreuses études ont suggéré que les flavonoïdes présentent des activités biologiques, notamment des actions antiallergéniques, antivirales, anti-inflammatoires et vasodilatatrices. Cependant, le plus grand intérêt a été consacré à leurs activités antioxydantes (**Pietta, 2000**).

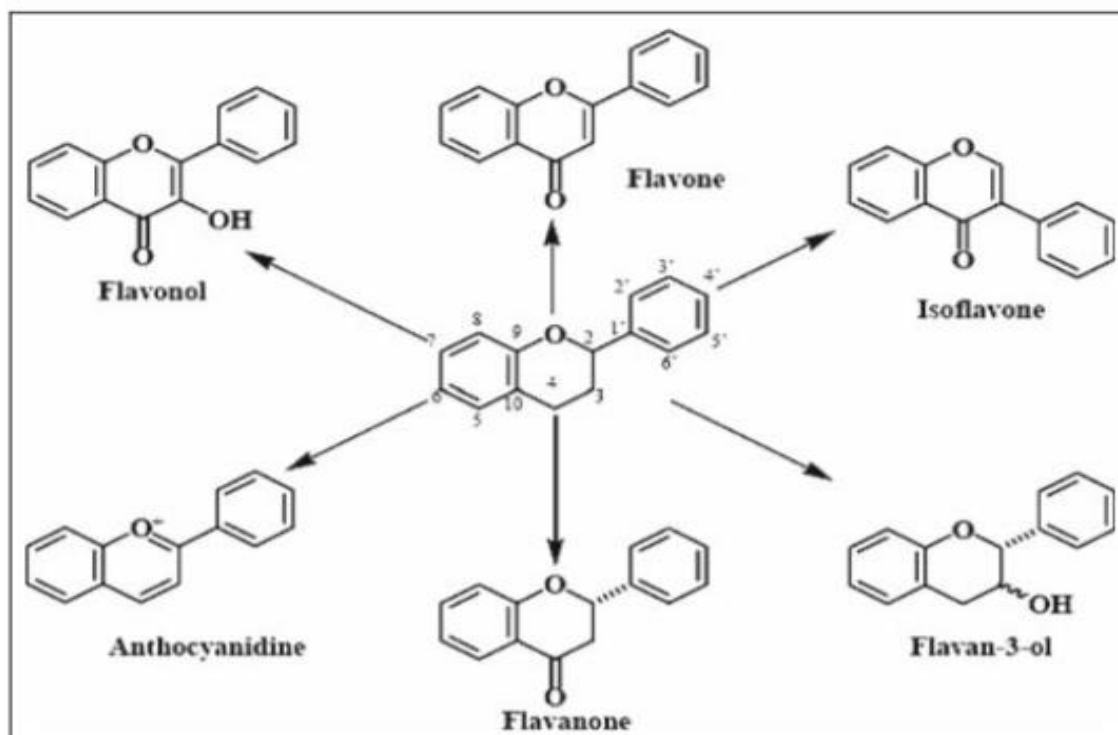


Figure 5: Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira et al., 2008).

Les effets bénéfiques des flavonoïdes sont dus à leurs :

- Capacité à transférer des électrons aux radicaux libres et à chélater les métaux de transition (Ferrali et al., 1997).
- Activent des enzymes antioxydants (Elliott et al., 1992).
- Inhibent la production des radicaux libres liés à l'activité enzymatique, comme la myéloperoxydase, la NADPH oxydase (Middleton et Kandaswami, 1992) et la xanthine oxydase (Nagao et al., 1999).
- Effets cardioprotecteurs, essentiellement en raison de leur capacité à inhiber la peroxydation des LDL (Mazur et al., 1999).

c. Les anthocyanidines

Les anthocyanidines sont largement présentes dans le règne végétal, principalement sous formes de glycosides. Ces composés sont impliqués dans la protection des plantes contre les excès de rayons solaires. Les anthocyanidines les plus courants sont la pelargonidine et la cyanidine (Chira et al., 2008).

Chapitre III : "Ruscus Aculeatus"

III.1. Généralité

Ruscus aculeatus L, connu sous le nom de balai de boucher, est un petit arbuste à feuilles persistantes de la famille des Asparagaceae typique d'Europe méditerranéenne et d'Afrique (Chase et al., 2009; Longo et Vasapollo, 2005) avec des rhizomes épais et des tiges dressées portant des cladodes épineuses qui ont repris la fonction des feuilles (Figure 6) (Thomas et Mukassabi, 2014). La partie la plus remarquable de la plante est le fruit, une baie rouge ronde, avec 1 à 4 graines (Longo et Vasapollo, 2005; Weiss, R. F, 1988).

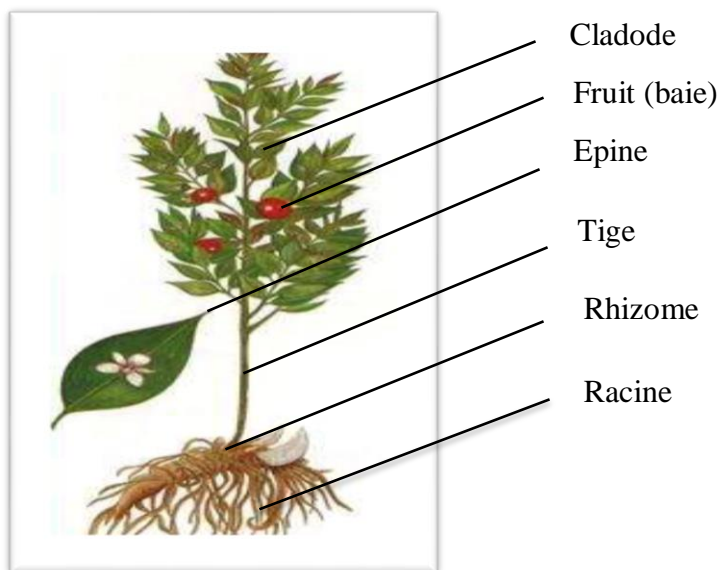


Figure 6 : *Ruscus aculeatus* (petit houx) (Frizon et Jean Christophe, 2018).

III.1.1. Noms vernaculaires

Les différents noms vernaculaires de *Ruscus Aculeatus* sont représentés dans le tableau ci-après.

Table III : Noms vernaculaires de *Ruscus Aculeatus*.

	Nom vernaculaire	Références
Français	petit houx, faux houx, houx frelon, houx bâtard, fragon épineux, fragon piquant, buis sauvage, buis piquant.	(Books of dante, 2016)
Anglais	Butcher's broom.	(Antoine et al., 2018)
Arabe	Al uchba, harim el dikàs berri, حريم الديك. رأس بري.	(Berggren, 1844)

III.2. Description botanique (Jean-Pascal Milcent, 2011)

- Le petit houx est un sous-arbrisseau de 30-80 cm, glabre et vert, à souche oblique et rampante.
- Tiges en touffe, dressées, nues à la base, très rameuses dans le haut, striées en long ainsi que les rameaux et les cladodes.
- Cladodes assez petites, très rapprochés, alternes, sessiles, et tordus à la base, ovales-lancéolés, rigides, piquants, portant les fleurs un peu au-dessous du milieu de la face supérieure.
- Fleurs verdâtres ou violacées, brièvement pédicellées, 1-2 à l'aisselle d'une petite bractée scarieuse lancéolée-cuspidée.
- Baie globuleuse, de la grosseur d'une cerise, de 8 à 14 mm.
- Écologie : Bois et côteaux arides, comme la commune de Bougous d'El Kala (**Lazli et al., 2019**) et la forêt de Bordj Zemoura.
- Répartition : Europe centrale et méridionale ; Asie occidentale ; Afrique septentrionale.
- Floraison : Hiver et printemps.

III.3. Systématique de la plante

La classification du *Ruscus* est présentée dans le tableau suivant (**Tison, 2014**):

Table IV : classification de *Ruscus aculeatus*.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Asparagales
Famille	Asparagaceae
Genre	<i>Ruscus</i>
Espèce	<i>Ruscus aculeatus</i>

III.4. Composition chimique

Plusieurs travaux ont été réalisés sur l'espèce *Ruscus aculeatus* et une variété de métabolites secondaires actifs ont été identifiés :

- Les rhizomes contiennent des saponines principalement la ruscogénine et la néoruscogénine (Figure 7) (de Combarieu et al., 2002), des flavonoïdes, des stérols, des triterpènes, des acides gras, des coumarines, la spartéine, la tyramine, et l'acide glycolique se trouveraient également dans les rhizomes (Khojasteh et al., 2019; Mimaki et al., 1998).
- Les parties aériennes renferment la quercétine, l'acide p-coumarique (Luís et al., 2011). Plusieurs glycosides flavonoïdes et acides phénoliques ont été identifiés dans l'extrait méthanolique (70%) des parties aériennes de *Ruscus aculeatus*: la schaftoside, l'orientine, la vitexine, la vitexine-2-O - d-glucopyranoside, la vitexine-2-O- -l-rhamnoside, la rutine, l'isoquercitrine, la nicotiflorine, la narcissine, l'acide caféique et p-coumarique, trans-feruloyl-2-hexaracidlactone, trans-feruloyl-3-hexaracidlactone, trans-feruloyl-méthoxyhexaracide-lactone, (S) -N-trans-caffeoyloctopamine, (S) -N-trans-cumaroyloctopamine, (S) -N-trans-feruloyloctopamine, N-trans-caffeoyltyramine, N-trans-cumaroyltyramine et N-trans-feruloyltyramine (Hadžifejzović et al., 2013).
- L'anthocyanine rentre dans la composition des baies de *Ruscus Aculeatus*, ceci a été décrit pour la première fois par Longo et Vasapollo, (2005).

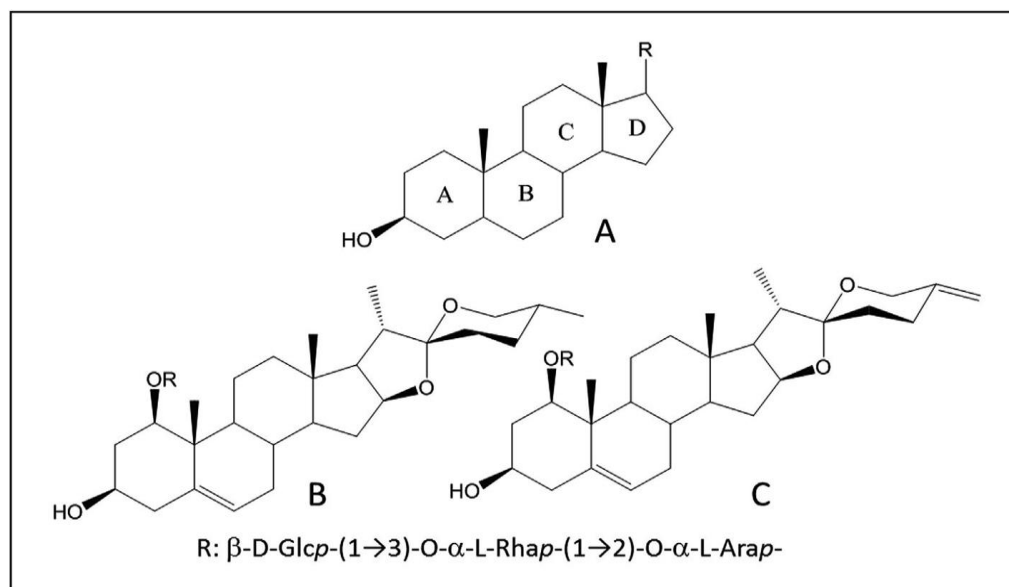


Figure 7 : Structure chimique du squelette stéroïdien (A), de la ruscogénine (B) et de la néoruscogénine (C) (Palazón et al., 2006).

III.5. Effet thérapeutique

Le petit houx (*Ruscus aculeatus*) joue un rôle assez important comme plante médicinale avec des effets thérapeutiques très différents, quelques-uns de ces effets sont décrits ci-dessous :

- ✓ En médecine populaire palestinienne, l'extrait de rhizome est employé en usage externe contre les maladies de la peau (**Ali-Shtayeh et al., 1998**), tandis qu'en Italie, il est utilisé dans le traitement des verrues et des engelures (**Guarrera, 2005**). En Turquie, sa décoction a été utilisée pour le traitement de l'eczéma (**Tuzlaci et Aymaz, 2001**).
- ✓ Historiquement, en Europe, une décoction des racines est utilisé comme diurétique pour éliminer les obstructions urinaires, calculs rénaux et la lutte contre les infections urinaires (**Foster et Tyler, 1999; Kültür, 2007**).
- ✓ Les médecins grecs utilisaient la plante à la fois comme laxatif et diurétique pour traiter les troubles urinaires, gastro-intestinaux (**Mimaki et al., 1998**), la recherche indique que les parties aériennes de cette plante sont ainsi utilisées traditionnellement comme diurétiques, principalement dans les pays méditerranéens et au Moyen-Orient (**Hadžifejzović et al., 2013**).
- ✓ Aujourd'hui, en Europe les extraits de *Ruscus* sont utilisés dans la prévention et le traitement de l'insuffisance veineuse, En particulier les troubles impliquant le système veineux, y compris les hémorroïdes, la fragilité veineuse ou les varices, et les données cliniques ont également révélé des effets positifs sur la circulation (**Longo et Vasapollo, 2005; Poljuha et al., 2015**). En effet l'utilisation thérapeutique de la ruscogénine et de la néoruscogénine (qui sont les composés jugés les plus actifs de *Ruscus*) est basée sur leur effet améliorant la perméabilité vasculaire (**Bouskela et al., 1993; Rudofsky, 1991; Svensjö et al., 1997**), et leur activité anti-élastase in vitro (**Facino et al., 1995**). L'élastase est une enzyme qui dégrade l'élastine, composant majoritaire des fibres élastiques. Le collagène et l'élastine sont les principaux composants de la matrice extracellulaire. L'activité anti-élastase de la ruscogénine permet d'éviter la dégradation des composants périvasculaires et ainsi réduire la perméabilité cellulaire (**MacKay, 2001**).
- ✓ Le petit houx est riche en flavonoïdes et autres antioxydants qui renforcent les vaisseaux sanguins et réduisent la fragilité des capillaires (**cathy, 2020**). Cette plante présente également des effets vasoconstricteurs dont le mécanisme n'est pas encore bien établi. Certaines études rapportent qu'il s'agit d'un blocage alpha-adrénergique, d'autres d'une

activation des récepteurs alpha-2 adrénergiques stimulant la libération de la noradrénaline (Altern Med Rev., 2001; Miller et al., 2000).

III.5.1. Autres activités biologiques

- Activité antimicrobienne et antifongique

Une étude réalisée par **Hadžifejzović et al. (2013)** a montré que l'extrait aqueux du rhizome de *Ruscus Aculeatus* inhibe la croissance de 90 à 100% de *Trichophyton violaceum* (la CMI était de 40g /ml). L'extrait sec (70% de méthanol) de la partie aérienne était actif contre 8 bactéries et 5 champignons (CMI entre 0,2 et 1,00 mg / mL).

L'extrait aqueux de *Ruscus* était également actif contre *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* et *C. albicans* et sans effet sur *K. pneumoniae* (**Chrubasik-Hausmann, 2016**).

- Action anti-ostéoporotique

L'action anti ostéoporotique de l'extrait de *Ruscus* a été décrit pour la première fois par **Lidija et al., (2019)**. L'intérêt de cette étude était d'évaluer les effets in vitro de l'extrait de *Ruscus Aculeatus* sur la prolifération de la lignée cellulaire SaOS-2 de type ostéoblaste humain et d'étudier les effets de l'extrait de *Ruscus*, administré par voie orale pendant 10 semaines à trois doses (50, 100 et 200 mg / kg), sur la structure osseuse de rats déficients en œstrogène induit par ovariectomie bilatérale.

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I.1 Matériel

I.1.1 Matériel végétal

Les parties aériennes (tiges et feuilles) (Figure 8) de la plante *Ruscus aculeatus* ont été récoltées le 17 février 2020 dans la forêt de Bordj Zemoura (30 km au nord-est de wilaya Bordj Bou Arreridj)

Les tiges et les feuilles ont été lavées avec l'eau puis séchées à l'étuve à une température de 40°C. Une fois séchée, la matière végétale a été réduite en poudre (Figure 9) à l'aide d'un broyeur de type moulinex, made in France.

La poudre obtenue a été soumise à un tamisage pour récupérer une poudre ayant une granulométrie inférieure à 0.100 mm (Figure 10). Cette poudre est ensuite conservée dans un flacon en verre à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 8: Parties aériennes (feuilles, tiges et fruits) de *Ruscus aculeatus*.



Figure 9: Broyage des parties aériennes de *Ruscus aculeatus*.



Figure 10: Tamisage de la poudre à l'aide de différents tamis.

I.2. Méthodes d'analyses

Les différentes étapes du protocole expérimental utilisé pour l'extraction, le dosage des substances actives et l'évaluation de l'activité antioxydante est illustrée dans la figure

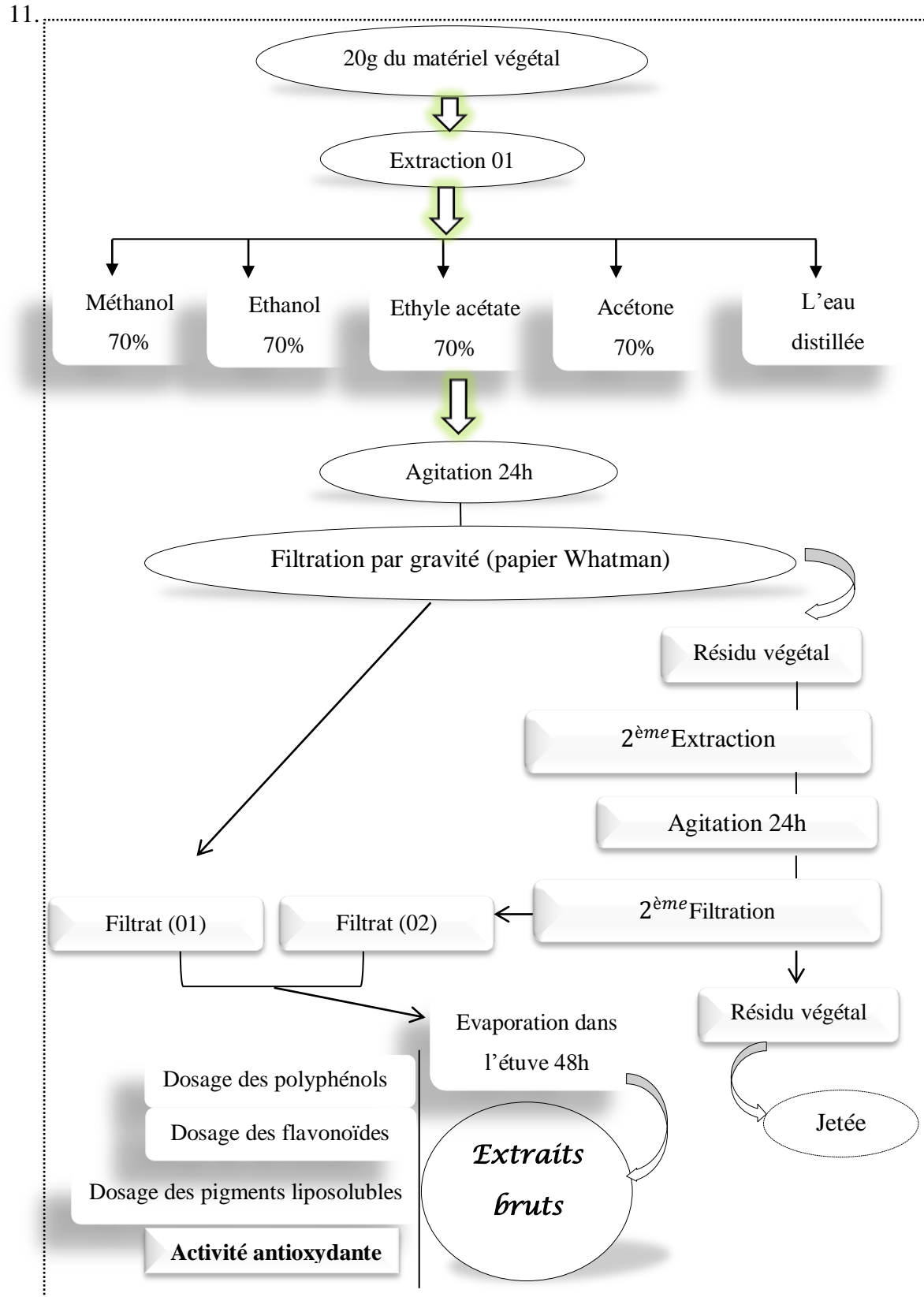


Figure 11: Diagramme montrant le protocole d'extraction, du dosage des substances actives et de l'évaluation de l'activité antioxydante.

I.2.1. Préparation des extraits

Dans notre étude la méthode employée pour l'extraction des substances actives étant la macération en utilisant 5 solvants différents soit: le méthanol, l'éthanol, l'éthyl acétate, l'acétone et l'eau.

La préparation des extraits de *Ruscus Aculeatus* a été réalisée comme suit : 20 g de poudre ont été macérés dans 100 ml de différents solvants (méthanol 70%, acétone 70%, éthyl acétate 70%, éthanol 70%, l'eau distillée). L'extraction est effectuée sous agitation orbitale continue à une température ambiante, pendant 24h heures. Les extraits obtenus ont été filtrés en utilisant le papier filtre Whatman.

Les résidus végétaux ont été soumis à une 2^{ème} extraction avec renouvellement du solvant, les filtrats sont cumulés puis séchés. Les extraits secs obtenus sont mis des flacons en verre et conservés à 4° C jusqu'à utilisation.

Cette série d'extraction a permis d'obtenir cinq extraits organiques bruts : extrait méthanolique, extrait éthyle acétate, extrait éthanolique, extrait acétonique et extrait aqueux.

I.2.2. Evaluation du taux d'humidité

Pour déterminer la teneur en eau de *Ruscus aculeatus*, 65.83g de cette plante fraîchement récoltée sont séchés à 40°C à l'étuve. Après 72h la différence de poids de la plante fraîche et après séchage est calculé selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

H (%) : Taux d'humidité en pourcentage.

P_i : Poids initial de l'échantillon avant mise à l'étuve en gramme.

P_f : Poids final de l'échantillon après mise à l'étuve en gramme.

I.2.3. Détermination de la teneur en cendres totales

Elle consiste à introduire au four à moufle de 2g d'échantillon broyé dans une capsule tarée à une température de 800°C jusqu'à destruction totale de toute particule carbonneuse (couleur grise claire ou blanchâtre).

La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la carbonisation. La teneur en matière organique est calculée par la formule suivante :

$$\text{MO}\% = \frac{M1-M2}{PE} \times 100$$

MO%: Matière organique.

M1: Poids de la capsule et de l'échantillon avant calcination.

M2: Poids de la capsule et de l'échantillon après calcination.

PE: Prise d'essai.

La teneur en cendres est calculée comme suit :

$$\text{Cendre}\% = 100 - \text{MO}\%$$

I.2.4. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est déterminé par spectrophotométrie selon la méthode Folin-Ciocalteu selon la procédure de (**Singleton et Rossi, 1965**).

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolibdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange ayant une couleur bleue d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène ($\text{Mo}_{12}\text{O}_{23}$) (**Boizot et Charpentier, 2006**). L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés présents dans le milieu et donne un maximum d'absorption à 760 nm.

Protocole expérimentale

Une quantité de 200µl de chaque extrait est mélangée avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu (10%). Après 5min, 0,8ml d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (Na₂CO₃) est ajouté, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 2h et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par g de matière végétale sèche.

I.2.5. Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Ruscus Aculeatus* est réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (**Djeridane et al., 2006**).

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 (**Zhishen et al., 1999**).

Protocole expérimentale

Le dosage des flavonoïdes des extraits de *Ruscus Aculeatus* a été effectué selon la méthode décrite par **Djeridane et al (2006)**. 1mL de chaque extrait, est mélangé avec 1ml de la solution d'AlCl₃ (2 %). Après 1 h d'incubation, l'absorbance est enregistrée à 430 nm. La concentration des flavonoïdes a été déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine et exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche.

I.2.6. Détermination des pigments liposolubles

Principe

Les chlorophylles (a et b) et les caroténoïdes (β carotène et lycopène) sont parmi les pigments liposolubles.

L'étude de ces pigments nécessite leur extraction dans des solvants organiques ou de mélanges de solvants et peuvent ensuite être déterminés par différentes méthodes physico-chimiques comme la spectrophotométrie. La concentration est déterminée à partir du spectre d'absorption du pigment en solution (Croft and Chen, 2017).

Protocole expérimentale

Le β -carotène, le lycopène et les chlorophylles (a et b) contenus dans les extraits de *Ruscus Aculeatus* ont été déterminés par spectrophotomètre. Une quantité de 100mg de chaque extrait est introduite dans un mélange de 10 ml d'acétone/hexane (4/6 V/V), après agitation pendant 1 min la solution est filtrée à l'aide du papier whatman L'absorbance des filtrats obtenus est lue à des différents spectres : 453nm, 505nm, 645nm et 653nm (Nagata et Yamashita, 1992).

I.2.7. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

I.2.7.1. Activité scavenger à l'égard du radical DPPH

Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, cette couleur devient jaune lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivant (Figure 12) :

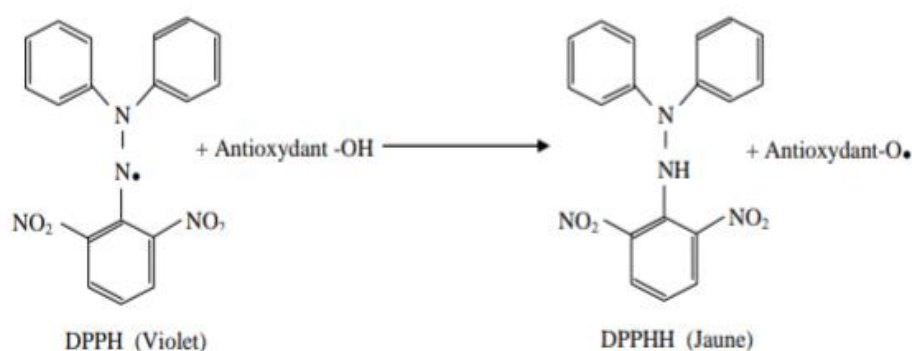


Figure 12 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Talbi et al., 2015).

Protocole expérimentale

L'activité anti-radicalaire des différents extraits de *Ruscus Aculeatus* a été évaluée par le test de DPPH. Cette méthode permet de suivre spectrophotométriquement la cinétique de décoloration de radical DPPH de couleur violette à 517 nm (**Brand-Williams et al., 1995**). Pour cela 100 µl de chaque extrait à différentes concentrations (de 1mg à 6 mg/ml) sont additionnés de 2.5ml d'une solution méthanolique de DPPH. Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\% I = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

AC : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif).

AE : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon).

I.3. Analyse statistique

Tous les essais ont été répétés trois fois et les résultats ont été exprimés par la moyenne ± la déviation standard. Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec le test Student t ou le test ANOVA. Les différences ont été jugées significatives à $p < 0,05$ ou à $p < 0,01$.

II. Résultats

II.1. Taux d'humidité

La détermination du taux d'humidité d'une plante est très important pour prévoir le rendement après séchage. Les analyses ont révélé que les feuilles fraîchement récoltées présentent une teneur importante en eau soit 47.51% (Figure 13). Cela signifie que l'eau occupe presque 50% du poids de *Ruscus Aculeatus*.

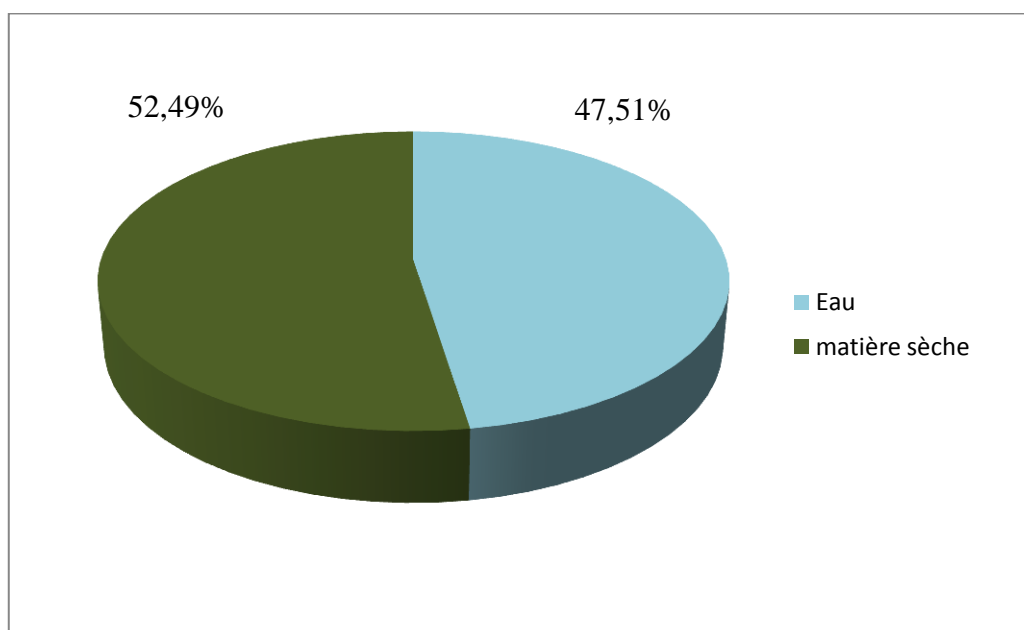


Figure 13: Taux d'humidité de *Ruscus Aculeatus*.

II.2. Teneurs en cendres totales

Le pourcentage en cendres totales permet d'informer sur la teneur en minéraux, ces derniers n'étant pas transformés en substances volatiles à haute température, contrairement aux matières organiques. Dans la présente étude, la teneur moyenne en cendres totales étant de $3.72\% \pm 1.92$.

II.3. Rendements d'extraction

Les résultats des rendements d'extraction de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus* en utilisant différents solvants d'extraction sont représentés sur la Figure 14. Ils sont exprimés en pourcentage (%) (g de poudre / ml de solvant d'extraction).

II. Résultats.

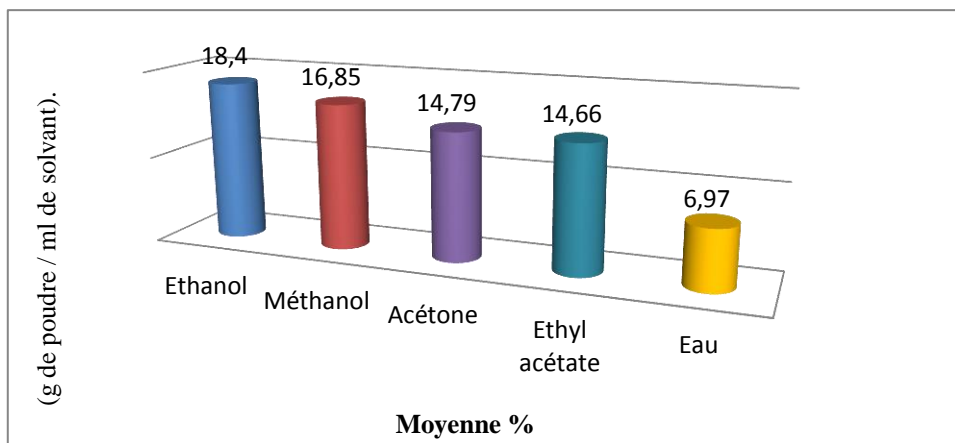


Figure 14: Rendement d'extraction de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus*.

Les résultats d'extraction des substances actives montrent que l'éthanol donne le rendement le plus élevé 18.4 % \pm 3, suivi par le méthanol 16.85% \pm 2.7, l'acétone 14.79% \pm 2.4 l'éthyl acétate 14.66% \pm 1.8, tandis que l'eau donne le rendement le plus faible 6.97% \pm 1.3.

II.4. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des différents extraits de *Ruscus Aculeatus* sont représentées sur la Figure 15, elles sont exprimées en milligrammes équivalent d'acide gallique/g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

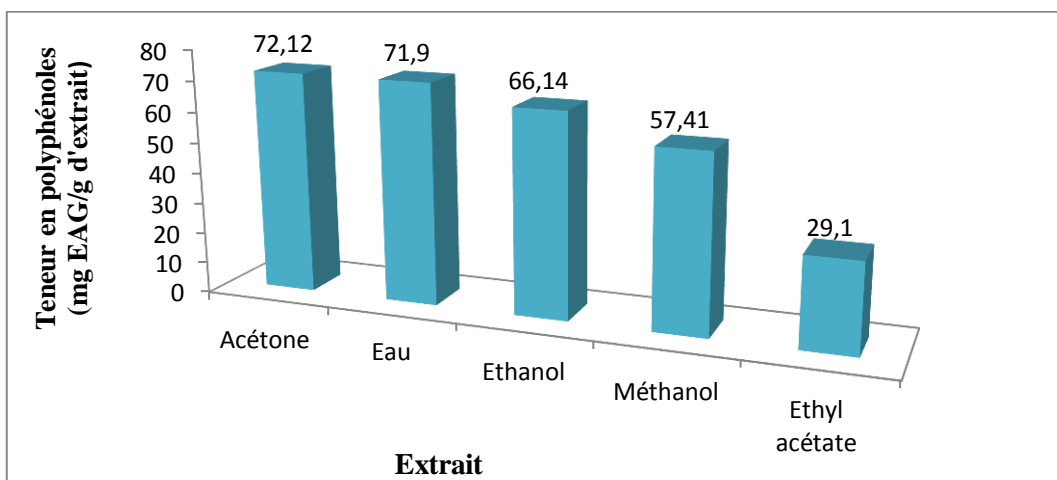


Figure 15: Teneurs en polyphénols totaux de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus*.

II. Résultats.

Les résultats obtenus au cours du dosage des polyphénols montrent que les teneurs varient entre $29,1 \pm 17.7$ mg EAG/g d'extrait et $72,12 \pm 10.26$ mg EAG/g d'extrait.

La teneur la plus élevée a été détectée dans l'extrait acétonique $72,12 \pm 10.26$ mg EAG/g d'extrait et l'extrait aqueux $71,9 \pm 9$ mg EAG/g d'extrait suivi de l'extrait éthanolique $66,14 \pm 4.44$ mg EAG/g d'extrait, l'extrait méthanolique $57,41 \pm 7.54$ mg EAG/g d'extrait, et l'éthyl acétate $29,1 \pm 17.7$ mg EAG/g d'extrait.

II.5. Teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits de *Ruscus Aculeatus* sont représentées sur la Figure 16, elles sont exprimées en milligrammes équivalent de quercétine /g d'extrait (mg QE /g d'extrait).

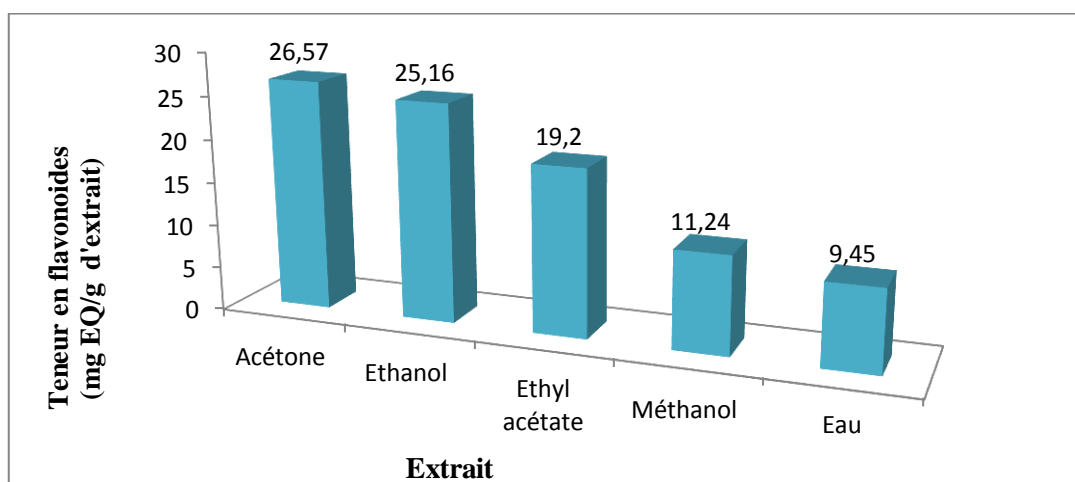


Figure 16: Teneurs en flavonoïdes des extraits de *Ruscus Aculeatus*.

D'après les résultats obtenus, il apparaît là aussi que les teneurs en flavonoïdes totaux varient en fonction du solvant utilisé.

Les extraits acétonique et éthanolique présentent les plus grandes concentrations en flavonoïdes avec des valeurs moyennes de $26,57 \pm 2.79$ mg EQ/g d'extrait et $25,16 \pm 5.93$ mg EQ/g d'extrait respectivement, suivi de l'éthyl acétate $19,20 \pm 4.36$ mg EQ/g d'extrait, le méthanol $11,24 \pm 1.5$ mg EQ/g d'extrait et l'eau $9,45 \pm 0.67$ mg EQ/g d'extrait.

II.6. Teneurs en pigments liposolubles

L'étude des pigments foliaires nécessite leur extraction par des solvants qui peuvent ensuite être déterminés par différentes méthodes physico-chimiques comme la spectrophotométrie. Les résultats de l'estimation des teneurs en pigments indiquent que la plante est riche essentiellement en chlorophylle a et chlorophylle b (Figure 17).

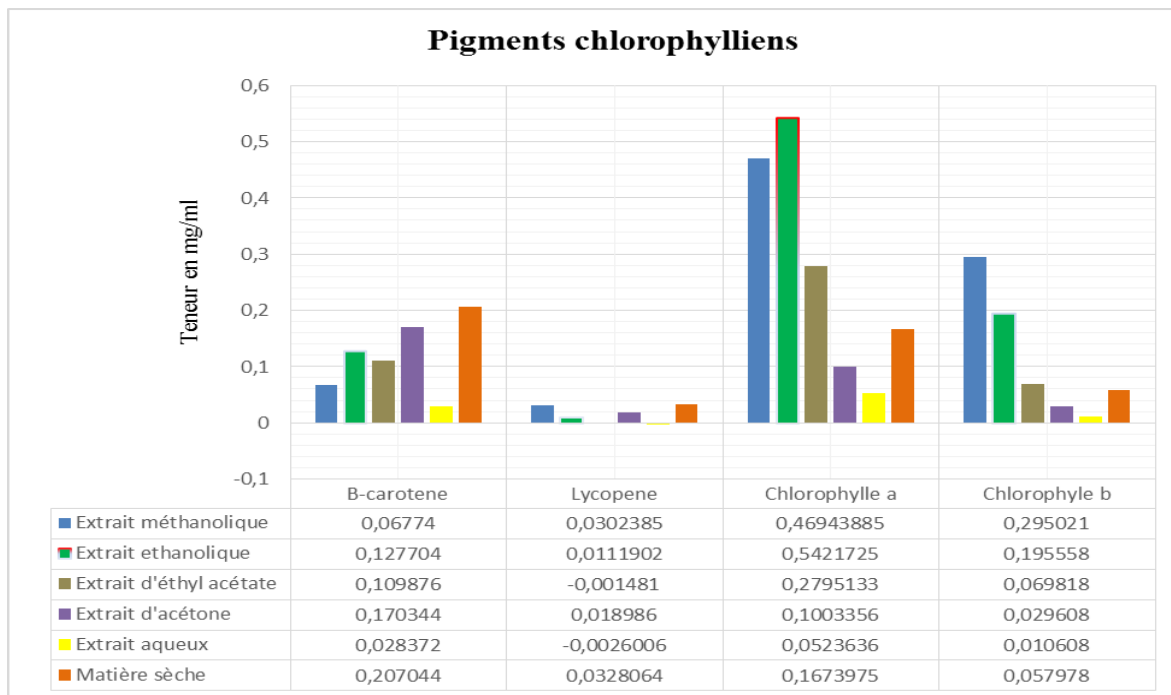


Figure 17 : Teneurs en pigments liposolubles de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus*.

II.7. Activité antioxydante par piégeage du radical DPPH

Les résultats de l'activité anti-radicalaire pour différentes concentrations des extraits de *Ruscus Aculeatus* sont illustrés dans la figure 18. Les courbes tracées (figure a, b, c, d, e, annexe 03) montrent que les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les extraits étudiés augmentent en fonction de la concentration d'extrait. Les résultats obtenus révèlent que l'extrait aqueux semble être le plus actif avec une EC_{50} égale à 1.91 mg/ml suivi de l'extrait éthanolique avec une valeur de 2.95 mg/ml.

II. Résultats.

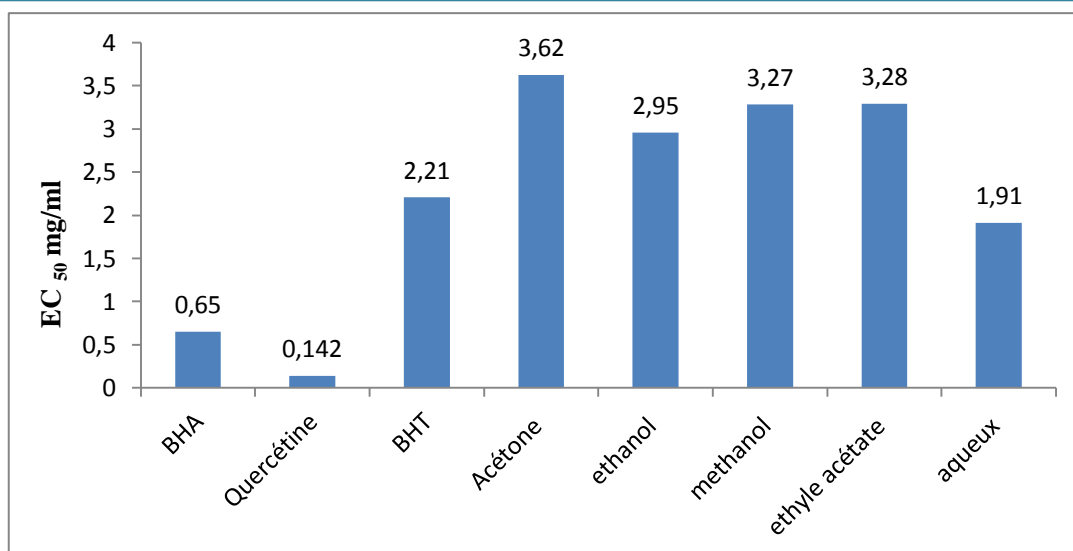


Figure 18: Activité antioxydante des extraits de *Ruscus Aculeatus* et de quelques antioxydants standards.

III. Discussion

III. Discussion.

Dans la présente étude, l'analyse des paramètres physicochimiques de *Ruscus Aculeatus* a montré un taux d'humidité de 47.51%. Plusieurs études soulignent que la différence du taux d'humidité est due à plusieurs facteurs tels que la variété, l'origine géographique et les conditions climatiques, le degré de maturité (**Lee et Kader, 2000**).

Le séchage des échantillons après leur récolte est une étape essentielle pour éliminer l'eau libre afin d'assurer leur conservation dans des conditions favorables. En effet, le séchage immédiat du matériel végétal permet de garantir une bonne conservation des échantillons pendant un certain temps sans modification de leur paramètres physicochimiques, car le séchage inhibe d'une part les enzymes responsables de la dégradation des polyphénols telles que: les polyphénoloxydases et d'autre part il empêche la prolifération bactérienne (**Adrian et al., 1998; Ribéreau-Gayon, 1968; Wichtl et Anton, 2003**).

La première étape cruciale de l'étude des antioxydants naturels issus des plantes est l'extraction. Les résultats obtenus montrent des rendements d'extraction différents entre les différents extraits. Cette différence est probablement due à la nature du solvant et les composés de chaque extrait et leurs propriétés. Plusieurs études ont signalé des variations dans les rendements d'extraction en fonction de la technique et du solvant d'extraction utilisés (**Altemimi et al., 2017; Hayouni et al., 2007; Me et al., 2007**).

Dans une étude faite sur dix plantes médicinales dont *Ruscus aculeatus*, **Luís et al. (2011)** ont trouvé que l'extrait méthanolique des tiges et des feuilles obtenu par soxhlet a donné un rendement de $18.3\% \pm 3.5$, cette valeur est assez proche du résultat obtenu dans la présente étude avec l'extrait méthanolique $16.85\% \pm 2.7$.

L'analyse phytochimique des extraits de plantes est également une étape importante puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques. Les résultats de l'étude phytochimique a montré des teneurs variables en polyphénols et en flavonoïdes en fonction du solvant d'extraction utilisé. Les résultats obtenus ont montré que la teneur moyenne en polyphénols enregistrée dans les différents extraits varie de 72.12 ± 10.26 à 29.1 ± 17.7 mg EAG/g d'extrait. Et indique que l'extrait acétonique et l'extrait aqueux présentent les teneurs les plus élevés en polyphénols. Ces résultats sont nettement supérieurs au résultat trouvé par **Luís et al. (2011)** qui ont été enregistré une faible teneur en polyphénols de l'ordre de 32.9 ± 0.3 mg EAG / g MS.

Hadžifejzović et al. (2013) ont rapporté une teneur de 43.45 ± 0.16 dans l'extrait méthanolique 70% tandis que les teneurs les plus élevées ont été enregistrées dans les extraits d'acétone et butanol de *Ruscus Aculeatus* avec des valeurs moyennes de 79.24 et de 46.84 $\mu\text{gGA} / \text{mg MS}$, respectivement. D'autre part, **Poljuha et al. (2015)** ont rapporté des teneurs en polyphénols des extraits éthanol 40 % et éthanol 96% de l'ordre de 617 ± 144 mg GAE/100 g ES et 166 ± 28 mg GAE/100 g ES, respectivement.

La différence de teneurs en polyphénols entre les plantes peut être due à différents facteurs tels que la solubilité des composés phénoliques (simples à fortement polymérisés), la diversité structurale des composés phénoliques est également responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques, et la polarité du solvant utilisé (**Mahmoudi et al., 2013**).

D'autre part, le solvant d'extraction permet l'extraction d'autres substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer le dosage des polyphénols (**Djeridane et al., 2007**). Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu donne une évaluation brute de tous les composés 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**).

Concernant la teneur moyenne en flavonoïdes dans les différents extraits, l'extrait acétonique a montré la plus haute teneur avec une valeur moyenne de 26.57 ± 2.79 mg QE/g extrait. **Luís et al. (2011)** indique que l'extrait méthanolique a une valeur de 37 mg QE/g MS, cette valeur est largement supérieure à celle trouvée dans notre étude.

Les résultats du dosage montrent aussi que la proportion en polyphénols est nettement supérieure à celle des flavonoïdes, ceci suggère que les polyphénols présents ne sont pas tous des flavonoïdes, il peut y avoir présence d'autres polyphénols tels que les tanins catéchiques ainsi que les coumarines donc d'autres classes de polyphénols peuvent être présents (**Luís et al., 2011**).

L'étude des pigments foliaires nécessite leur extraction dans des solvants choisis selon leur polarité. Leur composition chimique, leur poids et leur concentration peuvent ensuite être déterminés par différentes méthodes physico-chimiques comme la spectrophotométrie ou la chromatographie en phase liquide à haute pression (**Croft et Chen, 2017**).

La teneur en pigments foliaires constitue une des principales signatures de l'état physiologique des plantes. La mesure de l'évolution de l'équipement pigmentaire dans les feuilles permet de déterminer le stade phénologique, différencier les populations d'un écosystème, révéler les carences et les situations de stress éventuelles.

Les teneurs élevées des chlorophylles sont dues à la couleur verte de la plante, La lumière peut être un facteur qui affecte les teneurs en pigments. D'après **Poljuha et al. (2015)** il faut éviter l'exposition de matériel végétal étudiée au lumière pour éviter la dégradation des pigments ainsi que les composants phénoliques.

Dans la présente étude, l'extrait aqueux a montré un fort potentiel antioxydant, alors que **Luís et al. (2011)** ont enregistré une faible activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus* en enregistrant une IC₅₀ de l'ordre de 171.9 ± 21.1.

Une autre étude menée par **Hadžifejzović et al. (2013)** indique que l'extrait de *Ruscus aculeatus* était le plus actif avec une IC₅₀ de 71,8 g / mL.

La comparaison des valeurs obtenues dans notre étude avec les résultats d'autres auteurs sur la même espèce est à peine possible en raison de différentes expressions de résultat (sur la base de le poids de l'extrait ou le poids de la matière végétale fraîche / sèche) ou différentes méthodes d'extraction ou solvants utilisés.

Cette différence est certainement liée aux taux de polyphénols et de flavonoïdes qui est proportionnelle à l'activité antiradicalaire et qui peut être variable en fonction de certains facteurs écologiques comme le sol, l'humidité, la sécheresse, ou en fonction de la période de la récolte de la plante (**Adida et al., 2016**).

Conclusion

Conclusion

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques qui présentent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement. Le présent travail s'est intéressé aux effets antioxydants de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus* largement utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies dont l'insuffisance veineuse, les varices, etc...

L'extraction de la partie aérienne de *Ruscus Aculeatus* a permis d'obtenir des rendements qui sont différents en fonction de solvants utilisés 18.4%±3 pour l'extrait éthanolique, suivi par l'extrait méthanolique 16.85% ± 2.7 et l'extrait acétonique 14.79% ± 2.4 puis l'extrait d'éthyle acétate 14.66% ± 1.8 tandis que l'extrait aqueux présente le rendement le plus faible 6.97% ± 1.3.

La teneur en polyphénols totaux pour les cinq extraits a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait acétonique et l'extrait aqueux sont les plus riches polyphénols totaux. Les résultats du dosage des flavonoïdes ont montré des teneurs qui varient entre 26.57±2.79 et 9.45± 0.67 mg QE/g extrait, en effet l'extrait acétonique présente la teneur le plus élevée alors que l'extrait aqueux montre le plus faible teneur en flavonoïdes.

Les extraits étudiés ont montré des valeurs élevés en chlorophylles a et b.

Les résultats de l'activité antioxydante à l'égard du radical DPPH révèlent que l'extrait aqueux est celui ayant la meilleure activité antioxydante EC₅₀ est de 1.91 mg/ml, relativement faible que celle de BHA et la quercétine mais supérieur à celle du BHT.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est nécessaire pour obtenir une vue plus approfondie sur les propriétés antioxydantes des extraits de cette plante.

Références bibliographiques

Références

- Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E., Djaziri, R., 2016.** Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie* 14, 207–212. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0932-4>.
- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P., 1998.** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires, Ed.: TEC&Doc, ISBN : 2-7430-0270-0, pp : 29-145. ed.
- Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, R.M.-R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A., 1998.** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J. Ethnopharmacol.* 60, 265–271. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00153-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00153-0).
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D.G., Lightfoot, D.A., 2017.** *Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts* 23.
- Altern Med Rev., 2001.** *Ruscus aculeatus* (butcher's broom). Monograph.
- Antoine, S., Viguet, J., Carlos Cavaleiro, 2018.** Assessment report on *Ruscus aculeatus* L. rhizoma, European Medicines Agency. Comm. Herb. Med. Prod. HMPC 59.
- Balaban, R.S., Nemoto, S., Finkel, T., 2005.** Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 120, 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.001>.
- Ballinger, S.W., 2005.** Mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease. *Free Radic. Biol. Med.* 38, 1278–1295. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.014>
- Barry, H., John, G., 2015.** *Free Radicals in Biology and Medicine, Fifth Edition.* ed. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Baudin, B., 2020.** Doser les enzymes du stress oxydant, oui ou non ? *Rev. Francoph. Lab.* 2020, 62–65. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30164-7](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30164-7).
- Beaudeau, J.-L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Peynet, J., 2006.** Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-Anal. Amp Biol. Spéc.* 21, 144–150.
- Belkheiri, N., 2010.** *Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes* (phd). Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier.
- Berggren, J., 1844.** *Guide français-arabe vulgaire des voyageurs et des Francs en Syrie et en Égypte.* Comme suppl. aux Voyages en Orient.

- Boizot, N., Charpentier, J.-P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier 4.
- Books of dante, 2016.** Le fragon petit houx (*Ruscus aculeatus*). Books Dante. URL <https://booksofdante.wordpress.com/2016/11/23/le-fragon-petit-houx/> (accessed 6.12.20).
- Bouskela, E., Cyrino, F.Z., Marcelon, G., 1993.** Effects of *Ruscus* extract on the internal diameter of arterioles and venules of the hamster cheek pouch microcirculation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 22, 221–224. <https://doi.org/10.1097/00005344-199308000-00008>.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales, mdicales internationales Editions Technique&Documentation, Cachan,. ed. Tec & Doc, Paris.
- Butterfield, D.A., Perluigi, M., Sultana, R., 2006.** Oxidative stress in Alzheimer's disease brain: New insights from redox proteomics. *Eur. J. Pharmacol., Neurodegenerative disorders* 545, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.06.026>.
- cathy, wong, 2020.** The Health Benefits of Butcher's Broom ,Butcher's Broom for Chronic Venous Insufficiency [WWW Document]. Verywell Health. URL <https://www.verywellhealth.com/butchers-broom-for-chronic-venous-insufficiency-89426> (accessed 8.17.20).
- Chase, M.W., Reveal, J.L., Fay, M.F., 2009.** A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 161, 132–136. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00999.x>.
- Chira, K., Suh, J., Saucier, C., Teissedre, P.-L., 2008.** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie* 6, 75–82. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3>.
- Choubert, G., Guillou, A., Tyssandier, V., Borel, P., Grolier, P., 2001.** Valeur santé des caroténoïdes. *Sci. Aliments* 21, 467–480. <https://doi.org/10.3166/sda.21.467-480>
- Chrubasik-Hausmann, S., 2016.** *Ruscus aculeatus* L. *Z. Für Komplementärmedizin* 08, 44–45. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584371>.

- Croft, H., Chen, J., 2017.** Leaf Pigment Content, in: Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10547-0>.
- De Combarieu, E., Falzoni, M., Fuzzati, N., Gattesco, F., Giori, A., Lovati, M., Pace, R., 2002.** Identification of Ruscus steroidal saponins by HPLC-MS analysis. *Fitoterapia* 73, 583–596. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00220-4](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00220-4).
- De Marchi, E., Baldassari, F., Bononi, A., Wieckowski, M.R., Pinton, P., 2013.** Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity: role of p66Shc and protein kinase C. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013, 564961. <https://doi.org/10.1155/2013/564961>.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006.** Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97, 654–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>.
- Dugas, A.J., Castañeda-Acosta, J., Bonin, G.C., Price, K.L., Fischer, N.H., Winston, G.W., 2000.** Evaluation of the total peroxyl radical-scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *J. Nat. Prod.* 63, 327–331. <https://doi.org/10.1021/np990352n>.
- Durand, K., 2018.** Diabète et stress oxydant .La faculte de pharmacie de marseille (France) , Docteur en pharmacie.
- Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A., 2007.** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* 5, 194–203. <https://doi.org/10.1007/s10298-007-0252-4>.
- El-Haci, I.A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., Didi, M.A., 2012.** Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie* 10, 280–285. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0726-x>.
- Elliott, A.J., Scheiber, S.A., Thomas, C., Pardini, R.S., 1992.** Inhibition of glutathione reductase by flavonoids: A structure-activity study. *Biochem. Pharmacol.* 44, 1603–1608. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(92\)90478-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(92)90478-2).
- Facino, R.M., Carini, M., Stefani, R., Aldini, G., Saibene, L., 1995.** Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Arch. Pharm. (Weinheim)* 328, 720–724. <https://doi.org/10.1002/ardp.19953281006>.

- Favier, A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 64, 390–396.
[https://doi.org/10.1016/S0003-4509\(06\)75334-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4509(06)75334-2).
- Favier, A., 2003.** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique 8.
- Ferrali, M., Signorini, C., Caciotti, B., Sugherini, L., Ciccoli, L., Giachetti, D., Comporti, M., 1997.** Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Lett.* 416, 123–129. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01182-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01182-4).
- Foster, S., Tyler, V., 1999.** Tyler's Honest Herbal, 4 edition. ed, The Haworth Herbal Press. Routledge, New York.
- Frizon et Jean Christophe, 2018.** Fragon petit houx *Ruscus aculeatus* - faculté libre des science et technologie. [WWW Document]. URL <https://docplayer.fr/45858735-Frizon-jean-christophe-fragon-petit-houx-ruscus-aculeatus.html> (accessed 6.12.20).
- Garait, B., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin® (phdthesis). Université Joseph-Fourier - Grenoble I.
- Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., 2003.** Espèces réactives de l'oxygène 6.
- Ghedira, K., 2005.** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie* 3, 162–169.
<https://doi.org/10.1007/s10298-005-0096-8>.
- Goetz, M.E., Luch, A., 2008.** Reactive species: a cell damaging rout assisting to chemical carcinogens. *Cancer Lett.* 266, 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.02.035>
- Guarrera, P.M., 2005.** Traditional phytotherapy in Central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium). *Fitoterapia* 76, 1–25. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.09.006>.
- Guillouty, A., 2016.** Plantes médicinales et antioxydants (exercice). Université Toulouse III - Paul Sabatier.
- Gutowski, M., Kowalczyk, S., 2013.** A study of free radical chemistry: Their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim. Pol.* 60.
https://doi.org/10.18388/abp.2013_1944.
- Hadžifejzović, N., Kukić-Marković, J., Petrović, S., Soković, M., Glamočlija, J., Stojković, D., Nahrstedt, A., 2013.** Bioactivity of the extracts and compounds of *Ruscus aculeatus* L. and *Ruscus hypoglossum* L. *Ind. Crops Prod.* 49, 407–411.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.036>.

- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., Chapelle, J.-P., 2007.** Le stress oxydant. *Rev. Médicale Liège* 62.
- Hare, J.M., 2004.** Nitroso–Redox Balance in the Cardiovascular System. *N. Engl. J. Med.* 351, 2112–2114. <https://doi.org/10.1056/NEJMe048269>.
- Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.* 105, 1126–1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., 2004.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 2, 3–6. <https://doi.org/10.1007/s10298-004-0003-8>.
- Hitchon, C.A., El-Gabalawy, H.S., 2004.** Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 6, 265–278. <https://doi.org/10.1186/ar1447>.
- Jean-Pascal Milcent, 2011.** 3497 *Ruscus aculeatus* L. Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela botanica.
- Khojasteh, A., Sanchez-Muñoz, R., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R.M., Eibl, R., Palazon, J., 2019.** Biotechnological production of ruscogenins in plant cell and organ cultures of *Ruscus aculeatus*. *Plant Physiol. Biochem.* 141, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.029>.
- Koechlin-Ramonatxo, C., 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutr. Clin. Métabolisme* 20, 165–177. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2006.10.178>.
- Kültür, S., 2007.** Medicinal plants used in Kirklareli Province (Turkey). *J. Ethnopharmacol.* 111, 341–364. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.035>.
- Lazli, A., Beldi, M., Ghouri, L., Nouri, N.E.H., 2019.** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous. *Bull. Société R. Sci. Liège* 88, 22.
- Lee, S.K., Kader, A.A., 2000.** Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 207–220. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2).
- Lidija, C., Rositza, M., Aleksandar, S., Vassil, M., Nadya, Z., Georgi, M., Reneta, P., Mariyana, A., Iliana, K., Nikolay, D., Irini, D., Romyana, S., 2019.** Bone protective effects of purified extract from *Ruscus aculeatus* on ovariectomy-induced osteoporosis in rats.

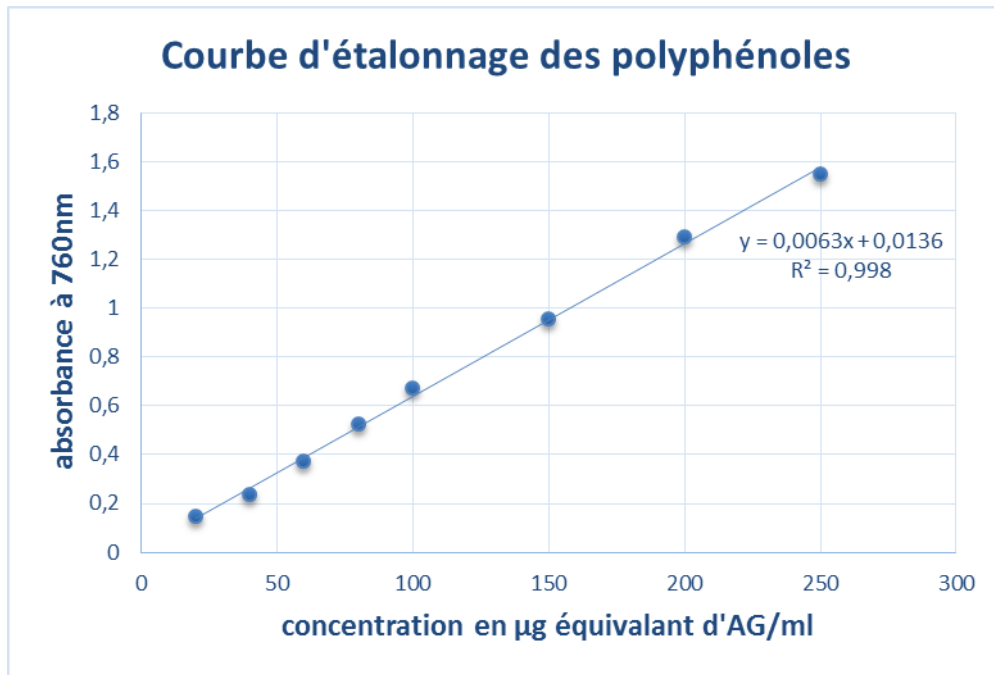
- Longo, L., Vasapollo, G., 2005.** Determination of Anthocyanins in *Ruscus aculeatus* L. Berries. J. Agric. Food Chem. 53, 475–479. <https://doi.org/10.1021/jf0487250>.
- Luís, A., Domingues, F., Duarte, A.P., 2011.** Bioactive compounds, RP-HPLC analysis of phenolics, and antioxidant activity of some Portuguese shrub species extracts. Nat. Prod. Commun. 6, 1863–1872.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Sarni -Manchado, P., 2006.** Composés phénoliques dans la plante– Structure, biosynthèse, répartition et rôle. In «Les polyphénols en agroalimentaire », Ed.: Lavoisier, ISBN 2-7430-0805-9, pp:1-27.
- MacKay, D., 2001.** Hemorrhoids and varicose veins: a review of treatment options. Altern. Med. Rev. J. Clin. Ther. 6, 126–140.
- Mahmoudi, S., Khali, m., Mahmoudi, N., 2013.** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Rev. Nat. Technol. 5, 35–40.
- Mandal, S.M., Chakraborty, D., Dey, S., 2010.** Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. Plant Signal. Behav. 5, 359–368. <https://doi.org/10.4161/psb.5.4.10871>.
- Mazur, A., Bayle, D., Lab, C., Rock, E., Rayssiguier, Y., 1999.** Inhibitory effect of procyanidin-rich extracts on LDL oxidation in vitro. Atherosclerosis 145, 421–422. [https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(99\)00115-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(99)00115-x).
- McKelvey, T.G., Höllwarth, M.E., Granger, D.N., Engerson, T.D., Landler, U., Jones, H.P., 1988.** Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney. Am. J. Physiol. 254, G753-760. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1988.254.5.G753>.
- Me, D.Y., Me, Q.W., Be, L.K., Be, J.J., Ying, T., 2007.** Antioxidant activities of various extracts of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizome 6.
- Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Smolčić-Bubalo, A., Mornar, A., 2004.** Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. Croat. Chem. Acta 77, 361–366.
- Middleton, E., Kandaswami, C., 1992.** Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. Biochem. Pharmacol. 43, 1167–1179. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(92\)90489-6](https://doi.org/10.1016/0006-2952(92)90489-6).
- Migdal, C., Serres, M., 2011.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. médecine/sciences 27, 405–412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>.

- Miller, V.M., Rud, K.S., Głowiczki, P., 2000.** Pharmacological assessment of adrenergic receptors in human varicose veins. *Int. Angiol. J. Int. Union Angiol.* 19, 176–183.
- Mimaki, Y., Kuroda, M., Kameyama, A., Yokosuka, A., Sashida, Y., 1998.** New steroidal constituents of the underground parts of *Ruscus aculeatus* and their cytostatic activity on HL-60 cells. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 46, 298–303. <https://doi.org/10.1248/cpb.46.298>.
- Mongens, M., 2013.** Origine et conséquences du stress oxydant ((Doctoral dissertation)). La faculté de médecine de créteil.
- Nagao, A., Seki, M., Kobayashi, H., 1999.** Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63, 1787–1790. <https://doi.org/10.1271/bbb.63.1787>.
- Nagata, M., Yamashita, I., 1992.** Simple Method for Simultaneous Determination of Chlorophyll and Carotenoids in Tomato Fruit. *NIPPON SHOKUHIN KOGYO GAKKAISHI* 39, 925–928. <https://doi.org/10.3136/nskkk1962.39.925>.
- Okado-Matsumoto, A., Fridovich, I., 2001.** Subcellular Distribution of Superoxide Dismutases (SOD) in Rat Liver Cu,Zn-SOD IN MITOCHONDRIA. *J. Biol. Chem.* 276, 38388–38393. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105395200>.
- Ortiz, G.G., Pacheco-Moisés, F.P., Bitzer-Quintero, O.K., Ramírez-Anguiano, A.C., Flores-Alvarado, L.J., Ramírez-Ramírez, V., Macias-Islas, M.A., Torres-Sánchez, E.D., 2013.** Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach. *Clin. Dev. Immunol.* 2013, 708659. <https://doi.org/10.1155/2013/708659>.
- Palazón, J., Moyano, E., Bonfill, M., Osuna, L.T., Cusidó, R.M., Piñol, M.T., 2006.** Effect of organogenesis on steroidal saponin biosynthesis in calli cultures of *Ruscus aculeatus*. *Fitoterapia* 77, 216–220. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.02.005>.
- Parks, D.A., Williams, T.K., Beckman, J.S., 1988.** Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am. J. Physiol.* 254, G768-774. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1988.254.5.G768>.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L., 2015.** Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 30, 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>.
- Pietta, P.-G., 2000.** Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/np9904509>.

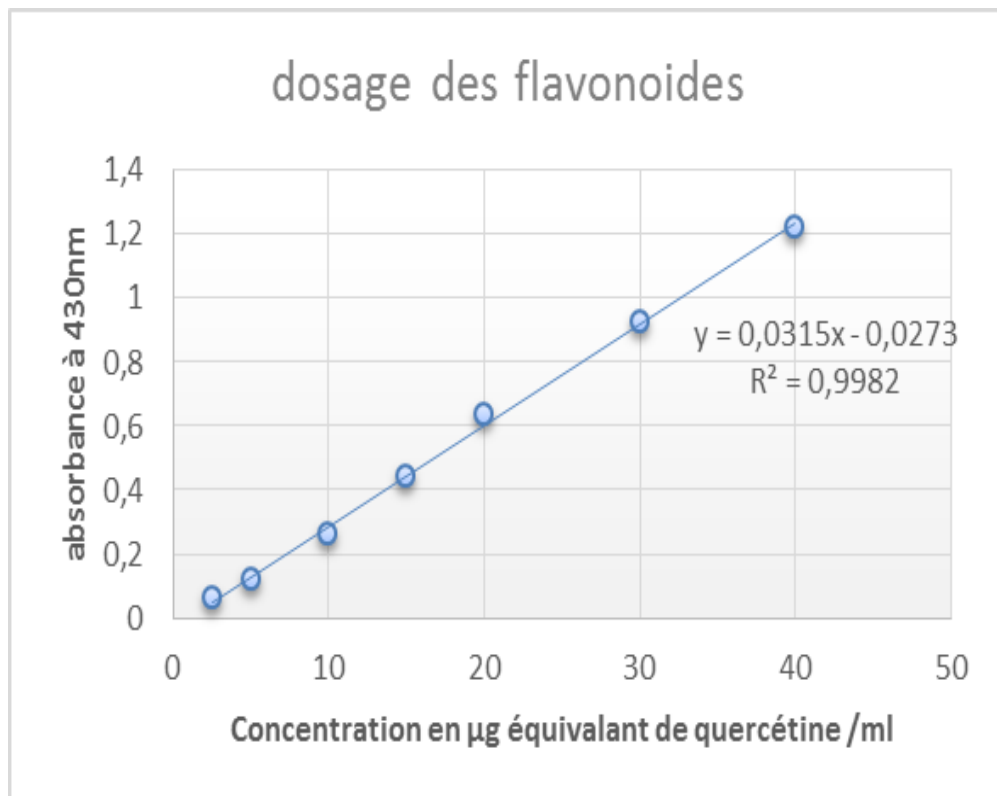
- Pincemail, J., 2001.** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. Mise Au Point 7.
- Poljuha, D., Šola, I., Bilić, J., Dudaš, S., Bilušić, T., Markić, J., Rusak, G., 2015.** Phenolic composition, antioxidant capacity, energy content and gastrointestinal stability of Croatian wild edible plants. *Eur. Food Res. Technol.* 241, 573–585. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2486-y>.
- Ribéreau-Gayon, P.A., 1968.** Notion générale sur les composés phénoliques. In «Les composés phénoliques des végétaux». Dunod. Paris.
- Richter, G., 1993.** Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie Ed: Française, ISBN: 2-88074-231-5, pp: 317-339.
- Ríos-Arrabal, S., Artacho-Cordón, F., León, J., Román-Marinetto, E., del Mar Salinas-Asensio, M., Calvente, I., Núñez, M.I., 2013.** Involvement of free radicals in breast cancer. *SpringerPlus* 2, 404. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-404>.
- Ross, R., 1999.** Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 340, 115–126. <https://doi.org/10.1056/NEJM199901143400207>.
- Rudofsky, G., 1991.** Effect of Ruscus extract on the capillary filtration rate. In: Vanhoute PM, ed. *Return Circulation and Norepinephrine*. Paris France John Libbey Eurotext.
- Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., Collectif, 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965.** Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Sorg, O., 2004.** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *C. R. Biol.* 327, 649–662. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2004.05.007>.
- Sturtz, L.A., Diekert, K., Jensen, L.T., Lill, R., Culotta, V.C., 2001.** A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J. Biol. Chem.* 276, 38084–38089. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105296200>.
- Svensjö, E., Bouskela, E., Cyrino, F.Z., Bougaret, S., 1997.** Antipermeability effects of Cyclo 3 Fort in hamsters with moderate diabetes. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 17, 385–388.

- Talbi, H., Boumaza, A., K,El-mostafa., J, Talbi., A, Hilali., 2015.** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4), pp.1111-1117. 7.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.064>.
- Thérond, P., 2003.** Le sélénium, un oligo-élément essentiel pour la santé humaine. *Cah. Nutr. Diététique* 38, 250–256.
- Thomas, P.A., Mukassabi, T.A., 2014.** Biological Flora of the British Isles: *Ruscus aculeatus*. *J. Ecol.* 102, 1083–1100. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12265>.
- Tison, 2014.** *Ruscus aculeatus* L., 1753 - Fragon, Petit houx, Buis piquant [WWW Document]. Inventaire Natl. Patrim. Nat. URL https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/119698 (accessed 8.19.20).
- Tuzlaci, E., Aymaz, P.E., 2001.** Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gönen (Balikesir). *Fitoterapia* 72, 323–343. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(00\)00277-x](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(00)00277-x).
- Uttara, B., Singh, A.V., Zamboni, P., Mahajan, R.T., 2009.** Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Curr. Neuropharmacol.* 7, 65–74. <https://doi.org/10.2174/157015909787602823>.
- Weiss, R. F, 1988.** *Herbal Medicine*; Beaconsfield Publishers: Beaconsfield, England, .
- Wichtl, M., Anton, R., 2003.** *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.*, Ed.: 2ème TEC&DOC, ISBN: 2-7430-0631-5, pp: 200-201. ed. Tec & Doc, Paris.
- Zerargui, F., 2015.** Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. *DEPARTEMENT Biochim.* 169.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999.** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2).

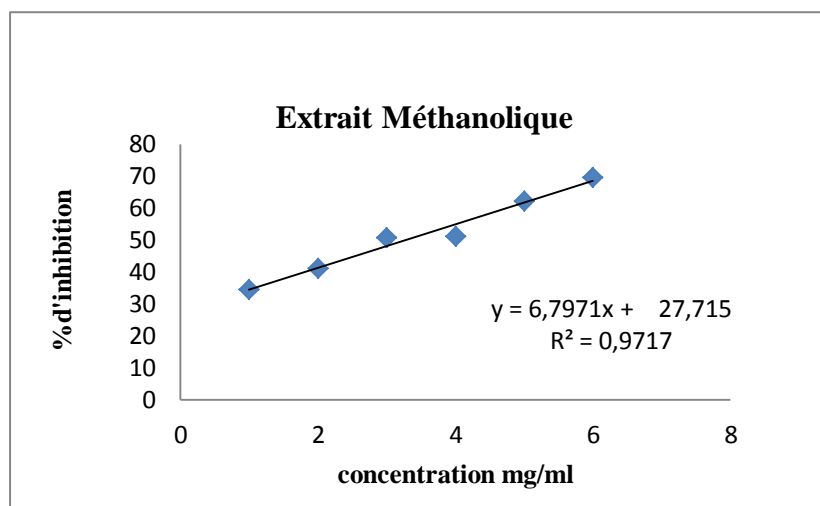
Annexes



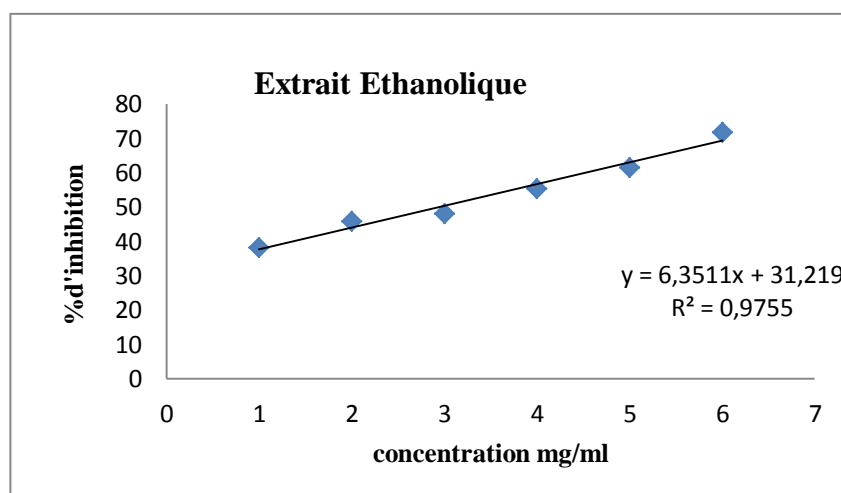
Annexe 01 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.



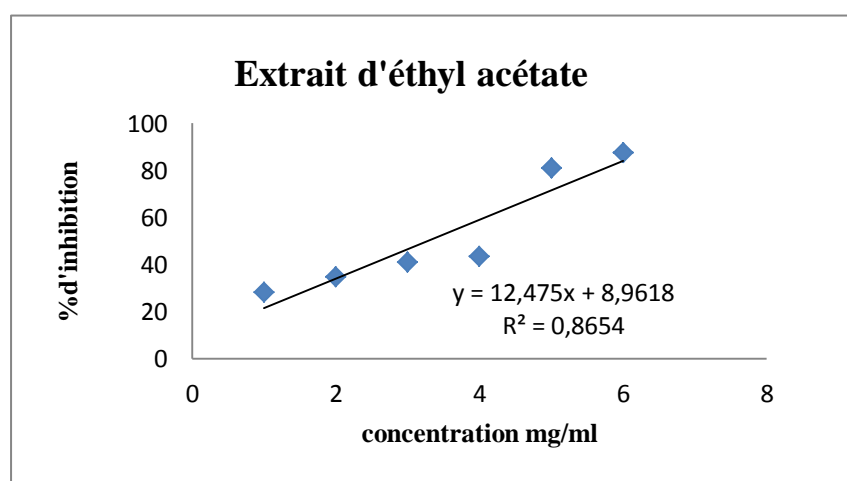
Annexe 02 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.



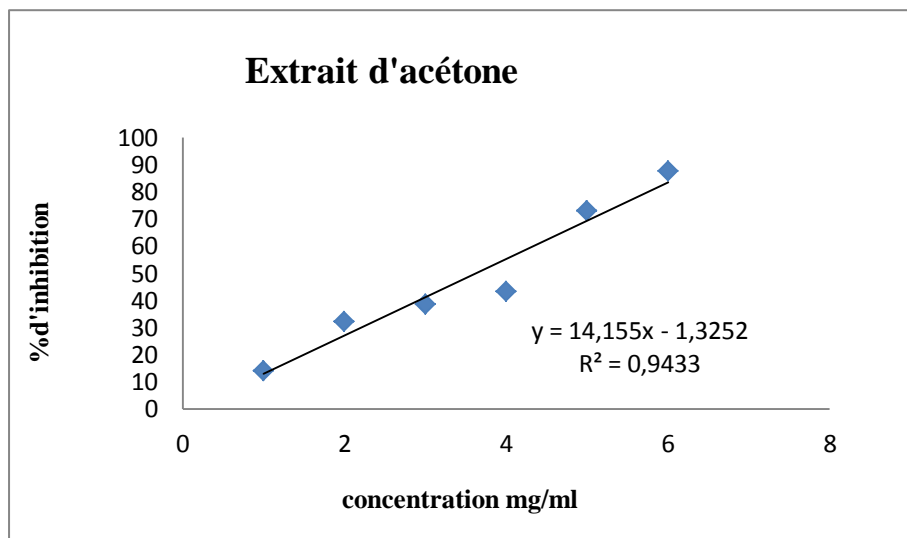
Annexe 03 : a : Cinétique d'activité anti-radicalaire d'extrait méthanolique.



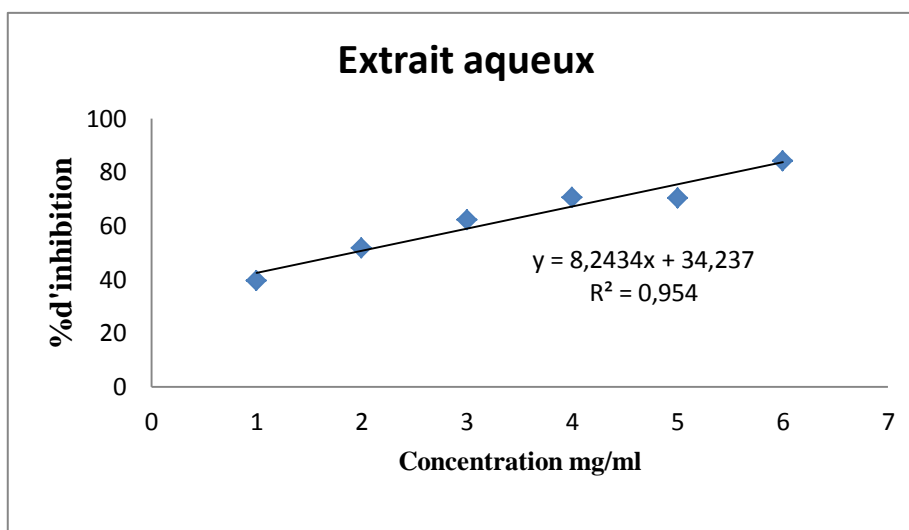
Annexe 03 : b : Cinétique d'activité anti-radicalaire d'extrait éthanolique.



Annexe 03 : c : Cinétique d'activité anti-radicalaire d'extrait d'éthyl acétate.



Annexe 03 : d : Cinétique d'activité anti-radicalaire d'extrait acétone.



Annexe 03 : e : Cinétique d'activité anti-radicalaire d'extrait aqueux.

Résumé

Ruscus Aculeatus connue sous le nom petit houx appartient à la famille des Asparagaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle dans de nombreux pays.

Le but de ce travail est l'étude de l'activité antioxydante des extraits bruts préparés par méthode d'extraction (macération) à partir de la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante *Ruscus Aculeatus* en utilisant 5 solvants différents (méthanol 70%, éthanol 70%, éthyle acétate 70%, acétone 70% et l'eau). Les rendements d'extractions étaient de 18.4%±3, 16.85%±2.7, 14.79%±2.4, 14.66%±1.8, 6.97%±1.3 pour l'extrait éthanolique, l'extrait méthanolique, l'extrait acétonique, l'extrait éthyl acétate et l'extrait aqueux, respectivement. Les résultats du dosage des polyphénols montrent que l'extrait acétonique et l'extrait aqueux présentent les teneurs les plus importantes 72.12±10.26 et 71.9± 9 mg EAG/g d'extrait, respectivement. Concernant la teneur en flavonoïdes dans les différents extraits de la plante, il a été constaté que les extraits acétonique 26.57±2.79 mg QE/g d'extrait et éthanolique 25.16±5.93 mg QE /g d'extrait présentaient les valeurs les plus élevées. La détermination des pigments liposolubles des différentes extraits montrent la richesse de la plante en chlorophylle a et b. L'évaluation de pouvoir antioxydant des extraits bruts par la méthode du piégeage du radical libre DPPH révèle que l'extrait aqueux présente un fort pouvoir antiradicalaire avec un EC₅₀ = 1.91 mg/ml.

Mots clés : *Ruscus Aculeatus*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

Abstract

Ruscus Aculeatus known as Butcher's broom belongs to the family Asparagaceae, widely used in traditional medicine in many countries.

The aim of this work is to study the antioxidant activity of raw extracts from aerial part (stems and leaves) of *Ruscus Aculeatus* prepared by extraction method (maceration) using different solvents (methanol 70, ethanol 70, ethyl acetate 70%, acetone 70% and water). The extraction yields were 18.4%±3, 16.85%±2.7, 14.79%±2.4, 14.66%±1.8, 6.97%±1.3, for hydro-ethanolic extract, hydromethanolic extract, hydro- acetonic extract, ethyl acetate extract and aqueous extract, respectively. Results of the colorimetric analysis of total phenols showed that aqueous extract and acetonic extract presented the highest levels with value of 72.12 ± 10.26 and 71.9 ± 9 mg EAG / g extract, respectively. Regarding the flavonoid contents, it was found that acetonic extract and ethanolic extract showed the highest values 26.57 ± 2.79 and 25.16 ± 5.93 mg QE / g extract, respectively. The determination of the liposoluble pigments in the various extracts showed that the studied plant was richest in chlorophyll a and b. The evaluation of the antioxidant power of the various extracts by DPPH free radical scavenging method revealed that aqueous extract was the most potent extract with EC₅₀ = 1.91 mg / ml.

Key words: *Ruscus Aculeatus*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.

ملخص

ينتمي *Ruscus Aculeatus* المعروف باسم الهولي الصغير إلى عائلة Asparagaceae ، ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في العديد من البلدان.

الهدف من هذا العمل هو دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الخام المحضرة بطريقة الاستخلاص (النقع) من الجزء الجوي (السيقان والأوراق) لنبات *Ruscus Aculeatus* باستخدام 5 مذيبات مختلفة (ميثانول 70%، إيثانول 70%، إيثيل أسيتات 70%، أسيتون 70% و الماء). كانت حصيللة الاستخلاص 18.4 ± 3 ، 16.85 ± 2.7 ، 14.79 ± 2.4 ، 14.66 ± 1.8 ، 6.97 ± 1.3 ، للمستخلص الإيثانولي ، المستخلص الميثانولي ، مستخلص الأسيتون ، المستخلص إيثيل أسيتات والمستخلص المائي على التوالي. أظهرت نتائج اختبار البوليفينول أن مستخلص الأسيتون والمستخلص المائي لهما أعلى مستويات 72.12 ± 10.26 و 71.9 ± 9 ملجم EAG / جرام من المستخلص على التوالي. فيما يتعلق بمحتوى الفلافونويد في المستخلصات النباتية المختلفة ، فقد وجد أن مستخلص الأسيتون 26.57 ± 2.79 ملجم QE / جرام من المستخلص والإيثانول 25.16 ± 5.93 ملجم QE / جرام من المستخلص أظهرت أعلى القيم. يوضح تحديد الأصباغ القابلة للذوبان في الدهون من المستخلصات المختلفة ثراء النبات بالكلوروفيل أ و ب. يكشف تقييم قوة مضادات الأكسدة للمستخلصات الخام بواسطة طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH أن المستخلص المائي له قوة قوية مضادة للجذور الحرة مع التركيز الفعال EC₅₀ = 1.91 ملجم / مل.

الكلمات المفتاحية: *Ruscus Aculeatus* ، البوليفينول ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة .