



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département: de la Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie Appliquée

Intitulé

Evaluation de l'activité antioxydante et enzymatique des feuilles du
Figuier *Ficus carica L*

Présenté par : Benelmadjat Imen

Le:03/ 09 /2020

Abdenour Fatima

Membres du jury :

Présidente du jury : M^me Medoukali I. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Encadreur : M^me Moussaoui S. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Examinatrice : M^me Guendouze A. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Année universitaire

2019 - 2020

*Remerciements et
dédicaces*



Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier **Dieu** le tout puissant qui nous a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'à son bout.*

*En tout premier lieu nous tenons à remercier notre promoteur et promotrice **Mme Moussaouie**, Pour le temps et l'attention qu'elle a bien voulu consacrer au bon déroulement de ce travail. Je la remercie vivement pour son aide, sa confiance et son soutien moral.*

*Nous remercions aussi **Mr Bensouici Chaouki** responsable du laboratoire de la Biochimie et tous les membres de l'équipe du centre de recherche en biotechnologies.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à l'ensemble des membres de jury, **Mme Medoukali Zmen** en tant que présidente de jury et **Mme Guendouze Assia** en tant qu'examinatrice, pour avoir mobilisé de leur temps pour examiner et juger ce travail.*

*Nous remercions aussi toute l'équipe du laboratoire de biochimie à savoir : **Nabil, Hamida et Hocine**.*

Nous tenons également à remercier tous les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail Qu'ils trouvent ici notre sincère et profonde gratitude





Dédicace

Je dédie ce modeste travail de recherche à :

*Mon cher père « **Mohsen** » que j'aime très fort et qui fait tout son possible pour que je puisse être ainsi, pour tous leurs efforts et leur patience durant toutes ces années, Pour m'avoir orienté et encouragé dans mes études.*

*Ma chère mère « **Fouzia** », que j'aime très fort et qui a toujours espéré ma réussite et qui m'a donné assez d'affection et je prie le dieu de la protéger du mal, celle que je lui souhaite une longue vie pleine de santé et de prospérité.*

*Mes très chers frères « **Mouatez** », « **Youssef** » et « **Mohamed Amine** » qui me servit d'avantage dans ma vie, je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.*

*Ma sœur « **Aya** » qui m'encourage dans mes études afin de réaliser mes projets.*

*À tout mes adorables tantes et oncles, cousins et cousines en particulier **Nabila** (son mari **Samir** et son fils **Mouad**).*

À toute mes amies à qui je souhaite une vie pleine de joie, bonheur et Santé

*Ma binôme **Fatima** et toute sa famille.*

*À ma chère amie « **Imen** » Pour son aide dans les moments difficiles.*

À tous ceux qui me sont chers. Et que j'ai omis de citer leurs noms...

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

Imen



Dédicace

Mes remerciements vont tout d'abord au bon **DFV** pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade, du fond de mon cœur, Je dédie ce modeste travail à :

Et mon espoir dans la vie et mon honneur : mes très chers parents « **Htouria et Atzedine** », que dieu les garde, Pour votre amour, votre patience votre soutien inestimable, votre encouragement permanent Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.

Et ma chère sœur **Imane** et son époux **Abderrahmane** ainsi que son fils **Jadj el dine**, pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

Et mon cher fiancé **Zakaria** qui m'a supporté et encouragée tout au long de ce travail. Merci d'avoir montré beaucoup de patience avec moi durant les moments les plus stressants, merci pour ta fidélité et ta gentillesse.

Et mes chères sœurs : **Sara, Youssta, Uham, Ritaj** pour votre amour, votre joie de vivre, Vos conseils si précieux, Votre soutien et votre confiance, Je vous remercie de tout cœur.

Et mes très chères tantes et ma grande mère **Aldjia** que dieu leur donne santé et bonheur, je leur dis merci pour leur soutien et leur prières pour ma réussite.

Et mon binôme **Imane** J'ai partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.

Et toute mes amies et mes collègues d'études.

Et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Et toute la Promotion **Master 2 Biochimie Appliquée 2019 /2020**.

Fatima

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des unités

Introduction générale..... 01

Etude bibliographique

I. Aperçu bibliographique du figuier.....	3
I.1. Historique.....	3
I.2. Description de l'arbr.....	3
I.3. Origine et répartition dans le mond.....	4
I.4. Position systématique du figuie.....	4
I.5. Composition biochimiqu.....	5
I.6. Caractéristiques de figuier.....	6
I.6.1. Bourgeon termina.....	6
I.6.2. Rameaux fructifère.....	7
I.6.3. Feuille.....	7
I.6.4. L'inflorescence et la fleur.....	8
I.6.5. FruiT.....	8
I.6.6. Latex.....	9
I.7. Production de figuier.....	10
I.7.1. Production mondiale.....	10
I.7.2. Production nationale.....	10
I.8. Diverses variétés de la figue.....	11
I.9. Activités biologiques.....	13
I.9.1. Activité antioxydante.....	13
I.9.2. Activité antibactérienne et activité antifongique.....	13
I.9.3. Activité antidiabétique.....	13
II. Le stress oxydant.....	14
II.1. Définition.....	14
II.2. Radicaux libres.....	15
II.3. Sources des radicaux libres.....	16

II.3.1.	Principales Sources endogènes.....	16
II.3.2.	Principales Sources exogènes.....	17
III.	Antioxydants.....	17
III.1.	Définition.....	17
III.2.	Classification des antioxydants.....	17
III.2.1.	Système d'antioxydants endogène.....	17
III.2.2.	Système d'antioxydants exogène.....	18

Matériel et méthodes

I.	Matériel végétale utilisée.....	26
II.	Extraction des composés phénoliques.....	26
II.1.	Dosage des polyphénols totaux.....	27
II.2.	Dosage des flavonoïdes totaux.....	29
II.3.	Évaluation des activités biologiques in vitro.....	30
II.3.1.	Évaluation de l'activité Antioxydante.....	30
II.3.1.1.	Test de piégeage du radical DPPH.....	31
II.3.1.2.	Test de l'ABTS.....	32
II.3.1.3.	Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	32
II.3.1.4.	Pouvoir réducteur.....	33
II.3.1.5.	Test du phénanthroline.....	34
II.3.1.6.	Activité de piégeage du radical galvinoxyl (GOR).....	34
II.3.1.7.	Test de la capacité antioxydante Silver nanoparticle assay (SNP).....	35
II.3.2.	Évaluation de l'activité enzymatique.....	36
II.3.2.1.	Activité d'acétylcholinestérase.....	36
II.3.2.2.	Activité inhibitrice de l' α -amylase.....	37

Résultats et Discussion

I.	Analyses phytochimiques.....	39
I.1.	Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.....	39
II.	Évaluation de l'activité Antioxydante.....	42
II.1.	Le radical libre diphényle-picryl-hydrazyle (DPPH).....	42
II.2.	L'activité de piégeage d'ABTS.....	44
II.3.	Réduction du cuivre (CUPRAC).....	46
II.4.	L'activité de piégeage de Galvinoxyl radical (GOR).....	48
II.5.	L'activité phénanthroline.....	49
II.6.	Pouvoir réducteur (FRAP).....	51
II.7.	Silver nanoparticle (SNP) assay.....	53

III.	Evaluation de l'activité enzymatique.....	55
III.1.	Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase.....	55
III.2.	Activité inhibitrice de l'alpha-Amylase.....	56
	Conclusion et perspectives.....	59

Références Bibliographiques.

Résumé.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Teneur en nutriments des figues fraîches et sèches.....	06
Tableau 02 : Production mondiale de la figue (Tonnes).....	10
Tableau 03 : Types d'espèces réactives oxygénées.....	16
Tableau 04 : Gamme d'étalon de l'acide gallique.....	28
Tableau 05 : Gamme d'étalon de la quercétine.....	30
Tableau 06 : Teneur en polyphénols totaux (TPC) ET en flavonoïdes (TFC) des extraits.....	39
Tableau 07 : Valeurs d'IC ₅₀ du test DPPH des extraits et standards.....	42
Tableau 08 : Valeurs d'IC ₅₀ du test de balayage ABTS des extraits et standards.....	44
Tableau 09 : Valeurs (A _{0,50}) du test de réduction du cuivre (CUPRAC) des extraits et standards.....	46
Tableau 10 : Valeurs d'IC ₅₀ du Galvinoxyl radical (GOR) test des extraits et standards.....	48
Tableau 11 : Valeurs (A _{0,50}) du test de phenanthroline des extraits et standards.....	50
Tableau 12 : Valeurs (A _{0,50}) du test pouvoir réducteur des échantillons et standards.....	51
Tableau 13 : Valeurs (A _{0,50}) du test silver nanoparticle (SNP) assay des échantillons et Standards.....	53
Tableau 14 : Valeurs d'IC ₅₀ du test de l'activité inhibitrice d'ACHE des extraits et du standard.....	55
Tableau 15 : Valeurs d'IC ₅₀ de test inhibiteur de l'alpha-Amylase des extraits et du standard....	57

Liste des figures

Figure 01 : Photographie d'un bourgeon terminal du figuier.....	07
Figure 02 : Photographie du rameau fructifère de figuier.....	07
Figure 03 : Photographie d'une feuille de l'espèce <i>Ficus carica L.</i>	08
Figure 04 : Photographie de la fleur à l'intérieur du fruit.....	08
Figure 05 : Coupe transversale d'une figue.....	09
Figure 06 : Photographie représentative du liquide blanc du figuier (latex).....	09
Figure 07 : Pourcentages de la production du figuier par wilayas d'Algérie.....	11
Figure 08 : Quelques variétés de figes (a): unifères (b): bifères.....	12
Figure 09 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène.....	15
Figure 10 : Origines des espèces réactives à l'oxygène.....	16
Figure 11 : Systèmes Antioxydants d'enzymes.....	18
Figure 12 : Classification des polyphénols.....	23
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	27
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	29
Figure 15 : Forme libre et réduite du DPPH.....	31
Figure 16 : La réaction de test du CUPRAC.....	33
Figure 17 : Réduction des ions Ag^+	35
Figure 18 : Profil de la microplaque de dosage des polyphénols totaux.....	39
Figure 19 : Profil de la microplaque de dosage des flavonoïdes totaux.....	40
Figure 20 : Histogramme représentent la teneur en polyphénols totaux (TPC) et en flavonoïdes (TFC) des rxtraits.....	40
Figure 21 : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti radicalaire DPPH.....	42

Figure 22 : Valeurs IC_{50} du test DPPH.....	43
Figure 23 : Profil de la microplaque de l'activité de balayage ABTS.....	45
Figure 24 : Valeurs des IC_{50} dans le test ABTS.....	45
Figure 25 : Profil de la microplaque de la réduction du cuivre (CUPRAC).....	47
Figure 26 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test CUPRAC.....	47
Figure 27 : Profil de la microplaque de Galvinoxyl radical (GOR).....	48
Figure 28 : Valeurs des IC_{50} du test radical galvinoxyl.....	49
Figure 29 : Profil de la microplaque de phénanthroline.....	50
Figure 30 : Valeurs des $A_{0,50}$ dans le test phénanthroline.....	50
Figure 31 : Profil de la microplaque de l'activité de pouvoir réducteur.....	52
Figure 32 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test FRAP.....	52
Figure 33 : Profil de la microplaque de l'activité Silver nanoparticle.....	54
Figure 34 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test Silver nanoparticle (SNP) assay.....	54
Figure 35 : Profil de la microplaque de l'activité inhibitrice d'AChE.....	56
Figure 36 : Profil de la microplaque de l'activité inhibitrice l'alpha-Amylase.....	57

Liste des abréviations

µg GAE: microgramme équivalent d'acide gallique.

µg QE: microgramme équivalent de quercétine.

A_{0.50}: Absorbance inhibitrice médiane.

ABTS: 2,2'-azynobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AChE: Acétylcholinestérase.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

Al (NO₃)₂: Nitrate d'aluminium.

BHA: Butylhydroxyanisole.

BHT: Butylhydroxytoluène.

CAT: Catalase.

CH₃COOK: Acétate de potassium.

CUPRAC: Cupric Réducing Antioxidant Capacity.

Cu(II)-Nc: Cuivre (II)-Néocuproïne.

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DTNB: Elleman's Réagent, 5,5'-Dithiobis – (2-Nitrobenzoic Acid).

EA: Extrait d'acétate d'éthyle.

EAG: Equivalent d'acide gallique.

EM: Extrait méthanolique.

EQ: Equivalent de quercétine.

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

FCR: Réactif de Folin–Ciocalteu.

Fe²⁺: Ions ferreux.

Fe³⁺: Ions ferriques

FeCl₃: chlorure ferrique.

FRAP: Pouvoir Antioxydant de Réduction Ferrique.

GOR: Galvinoxyl radical.

GPx: Glutathion peroxydase.

GR: glutathion réductase.

GSH: Glutathion réduit.

GST: glutathion S-transférase.

H₂O₂: Le peroxyde d'hydrogène.

HO₂: radical perhydroxyl.

HCl: Acide chlorhydrique.

IC₅₀: Concentration Inhibitrice à 50 %.

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de Potassium.

MeOH: Méthanol.

Na₂CO₃: Sodium carbonate.

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NO•: Radical Monoxyde d'azote.

1O₂: L'oxygène singulet.

O₂^{°-}: Anion superoxyde.

O₂• -: Radical superoxyde.

OH: Hydroxyle.

OH•: Radical hydroxyle.

ONOO-: Peroxynitrite.

R•: Radical libre.

RO•: Radical alkoxyde.

ROO•-: Radical peroxy.

ROS: Reactive oxygen species.

SNP: Silver nanoparticle assay.

SOD: superoxyde dismutase.

TBHQ: Tétrabutylhydroquinone.

TCA: Acide trichloracétique.

TFC: Teneur en composés flavonoïdes.

TPC: Teneur en composés phénoliques totale.

UV: ultra-violet.

Liste des unités

C°:Degré Celsius.

mg:Milligramme.

ml:Milli litre.

nm:Nanomètre.

Ppm:Partie par million.

µg:Microgramme.

µg EAG/mg:Microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait sec.

µg EQ/mg:Microgramme d'équivalent de la quercitine par milligramme d'extrait sec.

µg/ml:Microgramme par millilitre.

µl:Micro litre.

>:Supérieur.

±:Plus ou moins.

Introduction

Introduction

L'emploi des plantes médicinales suscite un intérêt croissant à travers le monde en raison de leurs avantages thérapeutiques potentiels comme thérapies complémentaires et alternatives (**Iffat A. et al., 2020**). Ces plantes médicinales sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point des futurs médicaments (**Doukani et al., 2017**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle surtout en milieu rural du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne (**Zeggwagh A. et al., 2013**).

De même il s'est avéré, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif (**Ouelbani R. et al., 2016**).

L'Algérie compte parmi les pays du bassin méditerranéen connu par la richesse et la diversité de sa flore à intérêt médicinal. On dénombre environ 146 d'espèces à des fins thérapeutiques existant parmi les milliers espèces végétales que compte notre pays (**Hamel T. et al., 2018**).

Dans ce contexte, la flore méditerranéenne est remarquable par sa diversité et sa richesse en plantes médicinales. Parmi elles *Ficus carica L* qui appartient à la famille des Moraceae (**Lahmadi A. et al., 2019**).

Pour cela, la sélection de cette plante comme sujet de travail est justifiée par le fait qu'elle est parmi les plantes médicinales les plus populaires utilisées dans le monde entier. Cette plante est très intéressante dans le domaine de la médecine traditionnelle indigène pour traiter différents troubles telles que les maladies cardiovasculaire et le cancer (**Ergul M. et al., 2018**) et leur richesse en polyphénols et flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses, aussi elle est surtout reconnue en thérapeutique traditionnelle pour leurs propriétés remarquables (antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse) (**Ara I. et al., 2020**). Aussi son effet bénéfique pour la santé a été mentionné dans les livres religieux, y compris la Bible et la sourate al-Teen du Coran (**Rahmani A. H. et Aldebasi H., 2017**).

A cet effet, notre travail de recherche s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique dont le but principal est d'évaluer l'activité antioxydante et enzymatique des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle de feuilles du *Ficus carica L*. Notre présent travail est scindé en trois parties :

Introduction

- ✚ La première comprend une analyse bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier concerne des généralités sur la plante étudiée et ses activités biologiques. Le deuxième chapitre représentera le stress oxydatif et antioxydants.
- ✚ La deuxième partie reporte la partie expérimentale ainsi que la méthodologie suivie, à savoir:
 - ✓ Une analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes.
 - ✓ Une évaluation de l'activité antioxydante des extraits de cette plante, en utilisant les méthodes suivantes (le radical DPPH, l'ABTS, GOR, le pouvoir réducteur, CUPRAC, phenanthroline, silver nanoparticle).
 - ✓ Une détermination de l'activité inhibitrice d'acétylcholinestérase et l' α -amylase par des tests enzymatiques.
- ✚ Les principaux résultats obtenus et leur discussion, sont présentés au troisième chapitre. Et enfin, nous terminerons par une conclusion générale.

Etude
bibliographique

Etude bibliographique

I. Aperçu bibliographique du figuier

I.1 Historique

Figuier, fruit très ancien, est connu partout dans le monde et dont l'histoire commence depuis l'antiquité, il est reconnue comme fruit sacré et figure dans tous les livres saints. Son nom français est empreinté à l'occitan « figa », dialecte du sud français (**Jeddi. 2009**). Alors que (*Ficus carica L*) provient du mot « *Ficus* » qui signifie verrue, et le mot « *carica* » indiquant une région en Turquie où il a probablement existé pour la première fois (**Vidaud J., 1997**).

Le figuier est considéré comme le plus ancien arbre cultivé après la découverte de neuf figues carbonisées et des centaines de drupelets stockés dans la vallée du Jourdain en Palestine. Nous suggérons que ces fruits comestibles proviennent d'arbres parthénocarpiques, c'est-à-dire ne produisant pas de graine et dont la culture nécessitait l'intervention de l'homme, en recourant à des boutures. Ces figues seraient vieilles de 11400 ans (**Kislev G. et al., 2006**).

Le figuier était connu dans le Moyen Orient dès le IIIème millénaire chez les ancêtres des Sumériens qui le cultivaient à Babylone. De même, il y a plus de 5000 ans, les Egyptiens considéraient la figue comme un présent des dieux, comme le montre les chapelets de figues trouvées dans la tombe d'un Pharaon de la XIXème dynastie à Saqqarah (**El Bouzidi S., 2002**).

I.2 Description de l'arbre

Ficus constitue l'un des plus grands genres des plantes médicinales avec environ 750 espèces de plantes ligneuses, des arbres et des arbustes. Elles sont surtout présentes dans les régions subtropicales et tropicales à travers le monde (**Baby J. et Raj J., 2011, Saeed A. et al., 2013**).

La variabilité morphologique des *Ficus* est impressionnante. Toutes ces espèces produisent des faux fruits appelés figues. Ces plantes produisent toutes du latex, et certaines sont utilisées pour la production de caoutchouc (**Jander E. A. et Machado K. C., 2008**).

L'arbre de *Ficus carica L* est habituellement d'une taille de 15 à 20 pieds, avec de nombreuses branches du déploiement et un tronc d'un diamètre de plus de 7 pieds (**Chawla A. et al., 2012**). Les rameaux étant rigides, s'entrecroisent mais s'éloignent au fur et à mesure que l'arbre s'agrandit. Le bois du figuier est faible et décroît rapidement. Le tronc porte souvent de

Etude bibliographique

grosses tumeurs ganglionnaires, où les branches ont été poussées ou retirées. La sève laiteuse abondante contient le latex (**Baby J.et Raj J., 2011**).

L'écorce est légèrement rugueuse (**Starr F. et al., 2003**) dont la couleur varie de grisâtre au vermeil (**Patil V. V. et Patil V. R., 2011**). *Ficus carica* possède une étonnante capacité de régénération végétative et de production de fruit sans production de fleurs visibles. Le figuier possède deux espèces les bifères avec deux productions : figues de première récolte ou figues fleurs (El bakkor) et figues de deuxième récolte ou figues d'automne (karmouce) et les unifères avec une seule production.

Origine et répartition dans le monde

Le figuier (*Ficus carica L*) est l'un des plus anciens arbres fruitiers connu dans le monde (**Ait H. et al., 2013**). Son origine reste un peu confuse. Selon **Vidaud J**, il serait originaire du bassin méditerranéen, et de moyen orient, plus exactement d'Afghanistan. Son aire de répartition s'étend depuis les îles de canarie jusqu'en Inde et au Pakistan, sur les côtes de l'Océan Atlantique comme sur toutes celles de la méditerranée et dans le moyen orient (**Vidaud J., 1997**).

Cette espèce a été cultivée par les Phéniciens, les Syriens, les Egyptiens et les Grecs dans tout le bassin méditerranéen (**Vilmorin J. et al., 2003, Michel A. et al., 2002**). C'est une plante indigène à ces milieux. Elle appartient au genre *Ficus* qui comprend 700 espèces, reconnaissables toutes par la présence d'une figue. La seule espèce cultivée pour ses fruits comestibles est *Ficus carica L* (**Michel A. et al., 2002**).

Il est cultivé dans presque toutes les régions tropicales et subtropicales des pays. Il est cultivé principalement à la région méditerranéenne, l'est de la Turquie, l'Espagne et l'ouest du Portugal. Il est également cultivé commercialement dans certaines parties des États-Unis, et le Chili et avec une faible fréquence en Inde, en Arabie Saoudite, la Chine et le Japon (**Patil V. et al., 2010**).

Position systématique du figuier

Le figuier *Ficus carica L*. appartient à la famille des moracées qui comprend environ 1500 espèces classées en 52 genres dont le genre *Ficus* décrit par Linné (**Vidaud J., 1997, Slepinsse J. M. et Leterme E., 2005 ; Rameau J. C. et al., 2008**). La classification botanique est la suivante (**Baby J.et Raj J., 2011, Bachi K. et al., 2011**) :

Etude bibliographique

Embranchement : Phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Hamamélidées

Série : Apétales unisexuées

Ordre : Urticales

Famille : Moraceae

Genre : *Ficus*

Espèce : *Ficus carica L.*

Composition biochimique

La figue joue un rôle équilibrant dans l'alimentation, grâce à sa teneur élevée en glucides assimilables, son faible apport en lipides et l'absence de cholestérol, ses fibres se montrent très efficaces pour stimuler les intestins, elle est riche en éléments minéraux, eau, et les antioxydants comme les composés phénoliques, les acides organiques, la vitamine E, et les caroténoïdes qui éliminent les radicaux libres, de ce fait empêchant les mécanismes oxydants qui peuvent mener aux maladies dégénératives (**du Toit R . et al., 2001 , Silva R. H . et al., 2004**). Le tableau 01 montre les différents composants avec leurs valeurs dans les figues fraîches et séchées.

Etude bibliographique

Tableau 01 : Teneur en nutriments des figes fraîches et sèches (Arvanitia O S.*et al.*, 2019).

Composants diététiques	Valeurs /100 g fruits frais	Valeurs / 100 g fruits séchés
Eau (g)	79.11	30.05
Calories totales (kcal)	74.0	249.0
Protéines (g)	0.75	3.30
Matières grasses totales (g)	0.30	0.93
Graisses saturées (g)	0.06	0.93
Fibres (g)	2.9	908
Sucres (g)	16.26	47.92
Cholestérol (mg)	0.0	0.0
Calcium (mg)	35.0	162
Fer (mg)	0.37	2.03
Magnésium (mg)	17.0	68.0
Phosphore (mg)	14.0	67.0
Potassium (mg)	232.0	680
Sodium (mg)	1.0	10.0
Zinc (mg)	0.15	0.55
Vitamine A (UI)	142.0	10
Vitamine C (mg)	2.0	1.2
Thiamine (mg)	0.060	0.085
Riboflavine (mg)	0.050	0.082

Caractéristiques du figuier

I.2.1 Bourgeon terminal

Le figuier est constitué d'un bourgeon terminal. Ce dernier est constitué de deux stipules correspondant à la dernière feuille mise en place. Dans ce bourgeon se trouve de 9 à 11 ébauches de feuilles avec leurs stipules (Vidaud J. 1997) (Figure 01).



Figure 01 : Photographie d'un bourgeon terminal du figuier (Vidaud J., 1997).

I.2.2 Rameaux fructifères

Le rameau est constitué d'un ensemble d'entre nœuds. Chaque nœud constitue le point d'insertion d'une feuille et des bourgeons axillaires. Leur disposition alternée, rarement opposée sur le rameau, est une spécificité de la famille des Moracées (Vidaud J., 1997) (Figure 02).



Figure 02: Photographie du rameau fructifère de figuier (Vidaud J., 1997).

I.2.3 Feuilles

Les feuilles du figuier sont caduques, ostensiblement à nervation palmée (Figure 03). Elles sont très polymorphes larges de 25 cm et épaisse et à bords ondulés qui sont généralement à 5 lobes, mais peuvent avoir seulement 4 ou 3 lobes (Baby J. et Raj J., 2011, Vidaud J., 1997). La face supérieure est rugueuse et de couleur vert foncé. Quant à la face inférieure, elle présente des nervures très saillantes de couleur vert clair (Vidaud J., 1997).



Figure 03 : Photographie d'une feuille de l'espèce *Ficus carica L* (Vidaud J., 1997).

I.2.4 L'inflorescence et la fleur

L'inflorescence du figuier est très particulière. Les fleurs de la figue sont hors de vue et groupés à l'intérieur des fruits verts (Vidaud J., 1997) (Figure 04).



Figure 04: Photographie de la fleur à l'intérieur du fruit (Vidaud J., 1997).

I.2.5 Fruit

La figue n'est pas un vrai fruit (Deborah H. et Stéphanie O., 2008). La partie comestible est communément appelée un fruit bien qu'il soit un synconium, c'est à dire une charnue, un réceptacle creux avec une petite ouverture au sommet partiellement fermé par des petites écailles (Duenas M. *et al.*, 2008).

La figue est alors composée d'une pellicule (peau ou épiderme), une pulpe composée d'un réceptacle contenant les graines (akènes), un ostiole (œil ou opercule) et un pédoncule (Haesslein D et Oreiller S. 2008) (Figure 05). Le fruit est axillaire, habituellement, ayant une forme identique (Patil V. V. et Patil V. R. 2011) qui ressemble à une poire. La figue est composée d'une peau externe pigmentée (verte pur, marron, pourpre ou noire) (Chawla A. *et al.*,

Etude bibliographique

2012), la face interne de la peau est blanche et contient de nombreux akènes (en nombre de 30 à 1600 par fruit) attachés à la chair gélatineuse (Baby J., Raj J. 2011).

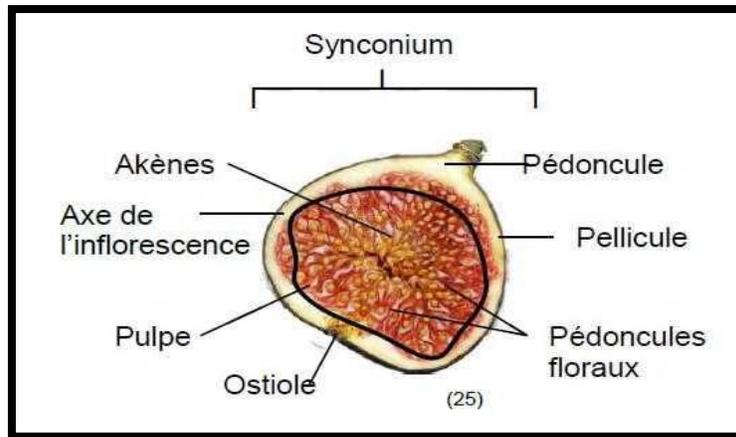


Figure 05 : Coupe transversale d'une figue (Haesslein D. et Oreiller S., 2008).

I.2.6 Latex

Dans toutes les parties du figuier, circule une sève blanche laiteuse, le latex (Figure 06), à caractère irritant pour la peau à cause de son contenu enzymatique essentiellement constitué d'une protéase appelée « ficine » (Chawla A. *et al*, 2012).

Le latex est constitué de caoutchouc, résine, albumine, sucre, acide malique, enzymes protéolytiques, diastase, estérase, lipase, catalase et peroxydase (Baby J., Raj J., 2011). Traditionnellement, il est utilisé dans le traitement de la goutte, des ulcères et des verrues (Lansky E. P., 2008, Coliveira A. *et al.*, 2010).



Figure 06 : Photographie représentative du liquide blanc du figuier (latex) (Vidaud J., 1997).

Etude bibliographique

Production de figuier

I.2.7 Production mondiale

La production mondiale de figues représente plus d'un million de tonnes dont plus de 90% récoltées autour du bassin méditerranéen (**Tableau 02**) (**FAO., 2016**). Les producteurs majeurs sont la Turquie avec 29.16% de la production mondiale, suivi par l'Egypte avec 16% et l'Algérie avec 12.58% (**FAO., 2016**).

Tableau 02 : Production mondiale de la figue (Tonnes) (**FAO., 2016**).

Pays	Production en Tonnes
Turquie	305450
Egypte	167622
Algérie	131798
Iran	70178
Maroc	59881
Syrie	43098
Etats unis	31600
Brésil	26910
Espagne	25224
Tunisie	22500

I.2.8 Production nationale

La production de la figue en Algérie (troisième producteur mondial) se réduit principalement à la région du nord en particulier la wilaya de Bejaia et Tizi-Ouzou (**Figure 07**) (**Dsa D. 2017**).

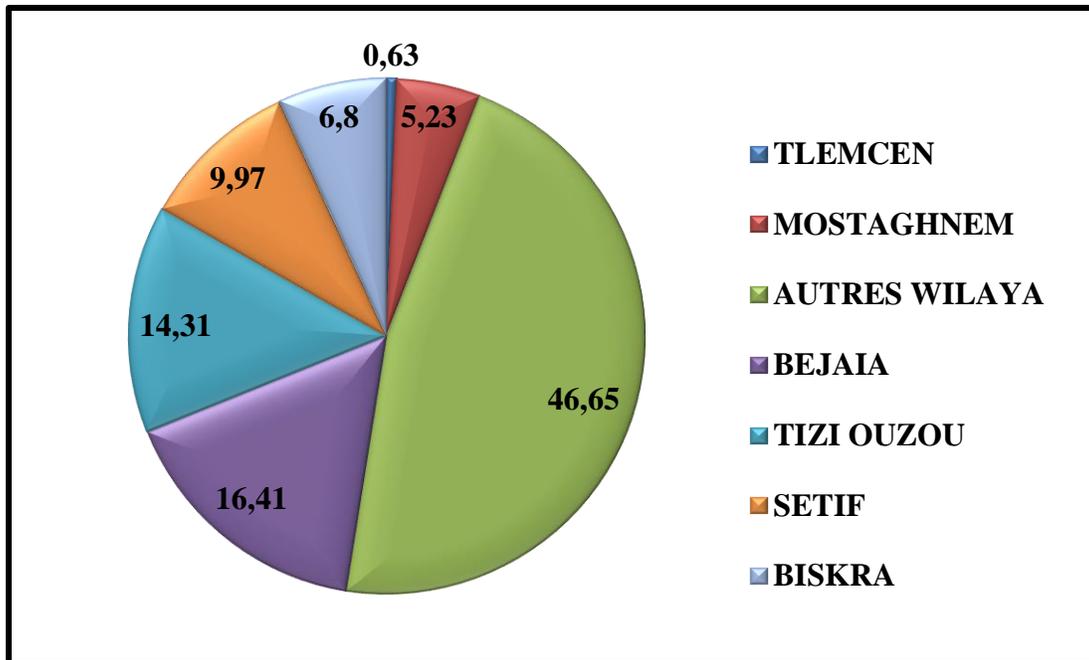


Figure 07 : Pourcentages de la production du figuier par wilayas d'Algérie (Dsasi D., 2017).

Diverses variétés de la figue

Il existe environ 250 espèces de figuiers et 3 groupes de couleurs de figues (blanches ou vertes, grises ou rouges, noires ou violettes foncées) (**Figure 08**). Selon leur forme, on divise les figues en trois groupes. Le premier est constitué de figues tout simplement rondes, souvent aplaties à la base et parfois également en haut. Toute une série de figues ont un profil triangulaire ou en forme de cône rappelant la forme d'une poire et le dernier groupe est constitué de fruits oblongs, irréguliers ou asymétriques (**Bauwens P., 2008**).

Etude bibliographique



Col de dame noir



Napolitaine



Ronde de Bordeaux



Marseillaise



Panachée



Boule d'or



Brown Turkey



Mission noir



Goutte d'or



Dalmatie



Grise Saint Jean



Sultane

Figure 08: Quelques variétés de figes (a): unifères (b): bifères (Bouakkaz S., 2013).

Activités biologiques

I.2.9 Activité antioxydante

F. carica contient de nombreux composés phénoliques qui jouent de nombreux rôles physiologiques dans les plantes. Certains d'entre eux sont également favorables à la santé humaine, car ils sont capables d'agir comme antioxydants de différentes manières: agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, piègeurs de radicaux libres, extincteurs à toxine unique et ainsi de suite. Les fruits contenaient les niveaux les plus élevés de polyphénols, de flavonoïdes et d'anthocyanes et exposaient la capacité antioxydante la plus élevée (**Shukranul M. et al., 2013**).

I.2.10 Activité antibactérienne et activité antifongique

Des extraits d'hexane, de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de méthanol du latex de *F. carica* ont été étudiés pour leurs propriétés antimicrobiennes in vitro contre cinq espèces bactériennes et sept souches de champignons à l'aide de la méthode de diffusion par disque. Alors que l'extrait de méthanol de *F. carica* a montré une forte activité antibactérienne contre les bactéries buccales. Les effets combinés de l'extrait de méthanol avec de l'ampicilline ou de la céramique en synergie contre les bactéries buccales ont montré que les figes pouvaient agir comme un agent antibactérien naturel (**Shukranul M. et al., 2013**).

I.2.11 Activité antidiabétique

Perez et al. (2003) ont étudié chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine, traités avec des extraits aqueux et chloroformiques de Feuilles de *Ficus carica L.* Les concentrations de glucose et de lipides sont significativement diminuées chez tous les rats traités avec *Ficus carica L* (**Chawla A. et al., 2012**).

II. Le stress oxydant

Définition

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes (**Migdal M. et Serres M., 2011**).

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (**Pincemail J. et Defraigne J. O., 2008**). Cette situation provient d'un déséquilibre de l'homéostasie redox suite à une surproduction des EROs ou une suppression insuffisante résultant, d'un manque de la capacité anti-oxydante (**Belaich R. et Boujraf S., 2016**). Son retentissement sur l'organisme dépend de la concentration en EROs, du type cellulaire atteint (**Favier A., 2006 , Benachour S. et Boughida R., 2017**). Les conséquences du stress oxydatif sont variables, des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires (protéines, lipides et acides nucléiques) provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose (**Benachour S. et Boughida R., 2017**). Les ERO ont la capacité à « oxyder » bon nombre de molécules biologiques comme les glucides, les acides nucléiques, les lipides et les protéines (**Figure 09**) (**Durand et al., 2013**).

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Figure 9**). L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (**Favier A., 2003**).

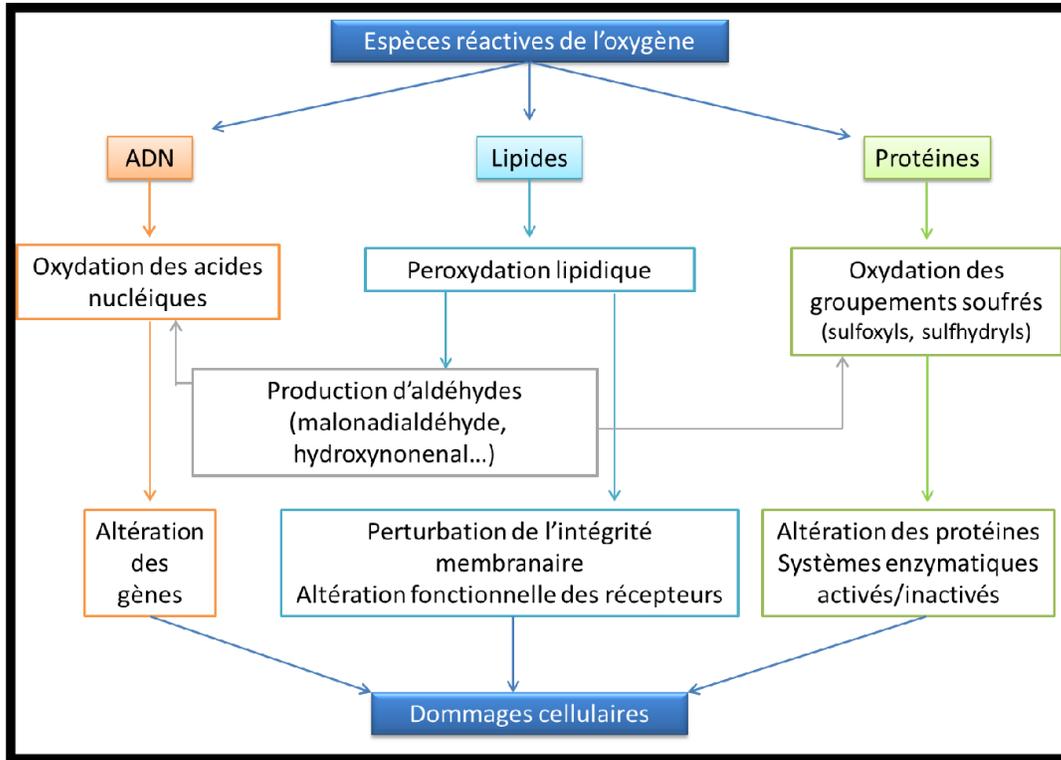


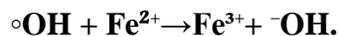
Figure 09 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson C., 2013).

Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique, rendant ainsi cette espèce chimique particulièrement instable. Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) ou « réactive oxygen species » (ROS) (Tableau 04) (Durand D. *et al.*, 2013). En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Favier A., 2003).

Les ERO peuvent oxyder un substrat selon trois modes d'action :

- Arrachement d'un électron, exemple :



- Arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique RH, exemple :



Etude bibliographique

Tableau 03: Types d'espèces réactives oxygénées (Fontaine E .*et al.*, 2002 , Berger M M., 2006 , Durand D. *et al.*, 2013).

Espèces radicalaires libres	Espèces non radicalaires
Radical superoxyde ($O_2\cdot^-$)	Peroxide d'hydrogene (H_2O_2)
Hydroxyle (OH)	Peroxynitrite (ONOO-)
Perhydroxyle ($HO_2\cdot$)	Oxygene singuliet ($1O_2$)
Peroxyle (ROO.)	
Alcoxyle (RO.)	
Monoxyde d'azote (NO.)	

Sources des radicaux libres

La formation de radicaux libres peut être d'origine endogène ou exogène et résulte de réactions enzymatiques ou non enzymatiques (Figure 10) (Pham-Huy L.*et al.*, 2008).

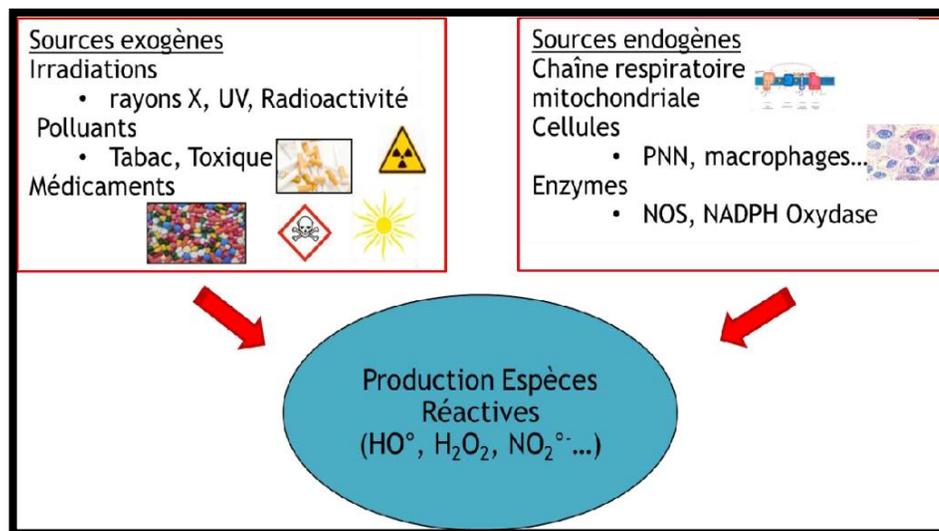


Figure 10 : Origines des espèces réactives à l'oxygène (Poisson C., 2013).

II.1.1 Principales Sources endogènes

Les principaux complexes enzymatiques impliqués sont la NADPH oxydase membranaire, la xanthine oxydase, les enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipooxygénase, cyclo-oxygénase), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome

Etude bibliographique

P450) et du peroxyosome (**Durand D *et al.*, 2013**). En plus des NOX, qui est la principale source pour la production des ERO d'origine enzymatique ; il y a d'autres sources cytosoliques, les lysosomes et le noyau (qui possèdent des cytochromes oxydases et une chaîne de transport d'électrons) sont également capables de produire es ERO (**Migdal M., Serres M. 2011**).

II.1.2 Principales Sources exogènes

Il s'agit principalement d'agents environnementaux pro-oxydants, tels que l'intoxication aux métaux lourds, les irradiations (rayons ionisants ou ultraviolets), les particules inhalées (amiante, silice), toxicité de l'alcool, des résidus de la fumée de cigarette, ou de nombreux médicaments, carence en antioxydants apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques (**Migdal M., Serres M., 2011, Favier A., 2003**).

III. Antioxydants

Définition

Un antioxydant est une molécule suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité d'endommagement (**Lobo V. *et al.*, 2010**). Il est défini comme toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé retarde ou inhibe l'oxydation de ce substrat (**Sindhi *et al.*, 2013**). Bien que le terme « antioxydant » soit fréquemment utilisé, il est difficilement définissable car il couvre un large nombre de molécules et filières très divers comme l'alimentation, l'industrie chimique, l'industrie pharmaceutique (**Halliwell B.*et al.*, 2012**). Ces molécules retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement par leur propriété d'élimination des radicaux libres (**Lobo V. *et al.*, 2010, Sindhi *et al.*, 2013**).

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (**Delattre J. *et al.*, 2007**).

Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes (**Benaissa B.*et al.*, 2012**).

Etude bibliographique

III.1.1 Systèmes d'antioxydants endogènes

Ce sont des molécules qui sont produites par les cellules de notre organisme, on peut distinguer :

III.1.1.1 Système enzymatique

Les antioxydants enzymatiques représentent la composante la plus importante des systèmes de défenses cellulaires contre les attaques oxydatives. Les principales enzymes antioxydants sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et la glutathion S-transférase (GST) (**Figure 11**) (**Matés J.M. et al., 1999**).

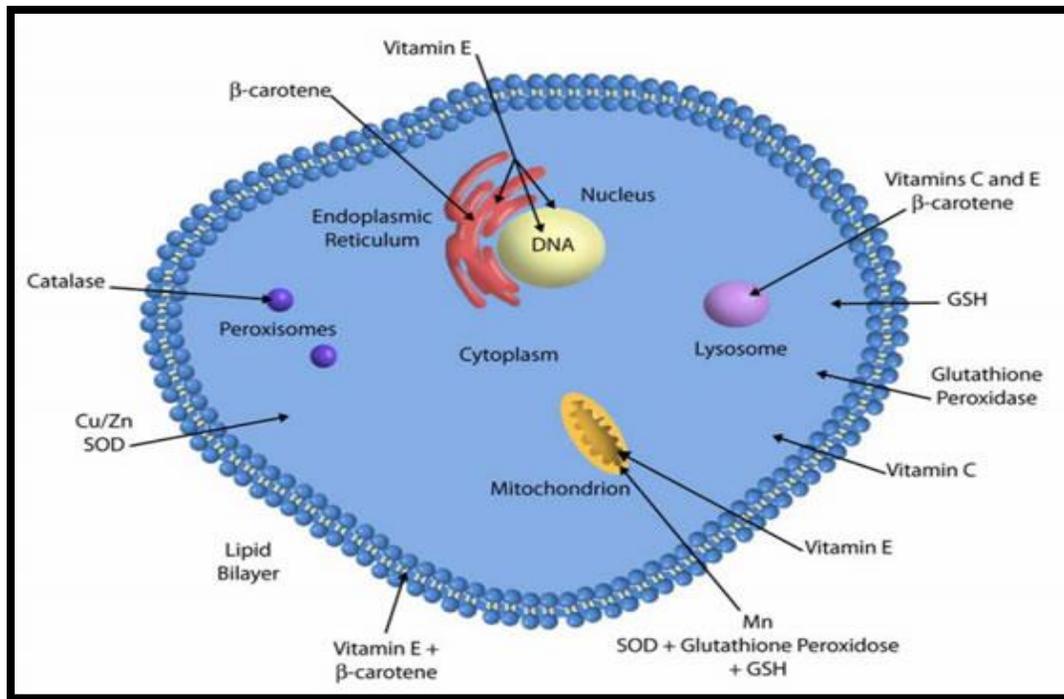
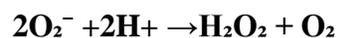


Figure 11: Systèmes antioxydants d'enzymes (www.news-medical.net/health).

❖ Superoxyde dismutase (SOD)

Les superoxyde dismutases (SOD) sont une classe d'enzymes étroitement liées qui catalysent la dégradation de l'anion superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène par la réaction suivante (**Papa et al., 2014, Lobo et al., 2010**) :



Etude bibliographique

Les enzymes SOD sont présentes dans presque toutes les cellules aérobies et dans les fluides extracellulaires (**Figure 11**). Il existe trois grandes familles de superoxyde dismutase, selon le cofacteur métallique : Cu / Zn (qui lie à la fois le cuivre et le zinc), Fe et Mn (qui se lie soit au fer ou au manganèse), et enfin le type Ni qui lie le nickel (**Lobo v et al., 2010**).

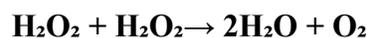
❖ Glutathion peroxydases (GPx)

Plusieurs études suggèrent que l'enzyme antioxydante Gpx joue un rôle dans l'athérogenèse utilisant le glutathion pour réduire les peroxydes, y compris hydroperoxydes lipidiques, et elle a également la capacité de se protéger contre les dommages causés par le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique selon les deux réactions suivantes (**Lonn M. E. et al., 2012, Jacquot J. P. et al., 2013, Lobo V. et al., 2010**) :



❖ Catalase

La catalase est une enzyme antioxydante omniprésente située principalement dans les peroxysomes catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène et l'eau selon la réaction suivante (**Bonnefont R et Collin. 2010, Ighodaro O M. et Akinloye. 2017**) :



❖ Glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases présentent une activité élevée avec les peroxydes lipidiques. Ces enzymes sont à des niveaux particulièrement élevés dans le foie et servent également au métabolisme de désintoxication (**Lobo V. et al., 2010**).

III.1.1.2 Système antioxydant non enzymatique

Les composants non enzymatiques du système de défense antioxydant comprennent les principaux tampons redox cellulaires (**Blanco G et Blanco A., 2017**).

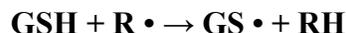
Etude bibliographique

❖ Bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau. La bilirubine est capable de piéger ROO• et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Haleng J. et al., 2007**).

❖ Glutathion et protéines-thiols

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) (**Haleng J. et al., 2007, Beaudeau et Geneviève., 2011**). Le glutathion oxydé (GSSG) est accumulé à l'intérieur des cellules et le rapport GSH / GSSG est une bonne mesure du stress oxydatif d'un organisme. Les rôles protecteurs du glutathion contre le stress oxydatif / nitrosatif sont qu'il peut agir comme cofacteur pour plusieurs enzymes de détoxification, participer directement au transport des acides aminés à travers la membrane plasmique, éliminer directement le radical hydroxyle et l'oxygène singlet directement et régénérer les vitamines C et E pour leurs formes actives (**Kurutas E. B. et al., 2016**). La réaction du glutathion avec le radical R • peut être décrite (**Valko M. et al., 2006**).



❖ Acide α -lipoïque

Acide α -lipoïque (acide 1,2-dithione-3-pentanoïque) est un antioxydant contenant du soufre avec des capacités de chélation des métaux et d'antiglycation (**Kurutas E. B., 2016**).

❖ Acide urique

L'acide urique représente environ la moitié de la capacité antioxydante du plasma. En fait, l'acide urique peut remplacer l'ascorbate dans l'évolution humaine. Cependant, comme l'ascorbate, l'acide urique peut également arbitrer la production d'espèces actives d'oxygène (**Lobo et al., 2010**). Il piège le HO•, ROO•, HOCl• et l'O₂ (**David G. W., 2015**).

Etude bibliographique

III.1.2 Systèmes antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des substances synthétiques ou naturelles qui sont présentes à de faibles concentrations avec les biomolécules qu'ils devraient protéger. Ils pénètrent dans l'organisme par l'alimentation (existant dans des aliments déterminés) ou par des suppléments avec des antioxydants formulations et cofacteurs (cuivre, zinc, manganèse, fer et sélénium). La consommation d'antioxydants d'exogènes peut augmenter la protection du corps et aider les antioxydants endogènes dans la lutte contre les maladies (**Romero A. C. et al., 2013**).

III.1.2.1 Antioxydants de synthèse

Les antioxydants synthétiques (SA) ont été largement utilisés depuis de nombreuses années comme antioxydants pour préserver et stabiliser la fraîcheur, la valeur nutritive, la saveur et la couleur des aliments et des produits d'alimentation animale (**Çabuk H. et al., 2017**).

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels (**Lee C. Y. et al., 2009**). Pour une utilisation pratique, les antioxydants ne doivent pas être toxiques, ils doivent être hautement actifs à des faibles concentrations (0.01-0.02%). Parmi les polyphénols de synthèse, on peut citer à titre d'exemple : la 3,3', 5,5'-Tetra-*t*-butyl-biphenyl-4, 4'-diol (**Duong et al., 2014**).

Les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutyhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (**Çabuk H. et al., 2017**). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (**Yu et al., 2000**).

III.1.2.2 Antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont largement distribués dans les aliments et les plantes médicinales. Ces antioxydants naturels, en particulier les polyphénols et les caroténoïdes, présentent un large éventail d'effets biologiques, y compris anti-inflammatoire, anti-âge, anti-athérosclérose et anticancéreux (**Xu D. et al., 2017**). Les antioxydants se trouvent également dans une variété d'herbes et d'aliments tels que le thé vert, les légumes et les fruits (**Atta E. et al., 2017**). L'extraction efficace et la bonne évaluation des antioxydants contenus dans les aliments et les plantes médicinales sont essentielles pour explorer les sources d'antioxydants potentielles et

Etude bibliographique

promouvoir l'application des aliments fonctionnels, des produits pharmaceutiques et des additifs alimentaires (**Xu D. et al., 2017**). Ces antioxydants naturels provenant de matières végétales sont principalement des polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanes, lignanes et stilbènes), caroténoïdes (xanthophylles et carotènes) et vitamines (vitamines E et C et A) (**Xu D. et al., 2017, Atta E. et al., 2017**).

III.3. Composés phénoliques

III.3.1. Définition et rôle

Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes contenant des propriétés antioxydantes (**Kumar G. et Baojun X., 2017**) que l'on trouve principalement dans les fruits, les légumes, le thé, le café, les chocolats, les légumineuses, les céréales et les boissons (**Kumar G. et Baojun X., 2017, Angelo S. et al., 2019**). Sa structure contient un ou plusieurs cycles benzéniques auxquels sont attachés au moins deux groupes hydroxyles (**Cuevas V. et al., 2016**). Il existe plus de 8 000 polyphénols identifiés dans la nature et leurs principales fonctions sont des antioxydants agréables (**Kumar G. et Baojun X., 2017**) (**Cory H. et al., 2018**).

La consommation de polyphénols peut jouer un rôle vital dans la santé grâce à la régulation du métabolisme, du poids, des maladies chroniques et de la prolifération cellulaire (**Cory H. et al., 2018**). Ils protègent notre corps contre les dommages causés par les radicaux libres et les défendent contre les rayons UV ou contre les agressions des agents pathogènes (**Kumar G. et Baojun X., 2017**).

Ces composés sont restés pendant des décennies parmi les molécules les plus intensivement étudiées par des chercheurs en chimie et biochimie alimentaire (**Cuevas V. et al., 2016**). L'oxydation chimique ou enzymatique des composants phénoliques des tissus végétaux donne une couleur sombre qui est particulièrement importante dans la technologie alimentaire (**Biljana K. et Djendji V., 2019**).

Etude bibliographique

III.3.2. Classification

Les polyphénols peuvent être classés de différentes manières ; en fonction du nombre de cycles phénoliques présents et des composants structuraux qui lient ces cycles entre eux, différenciant les molécules en acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes et lignanes, comme illustré à la **figure 12**. Les flavonoïdes sont le groupe le plus largement disséminé de ces composés (**Cutrim C. S. et Cortez M. A., 2018**).

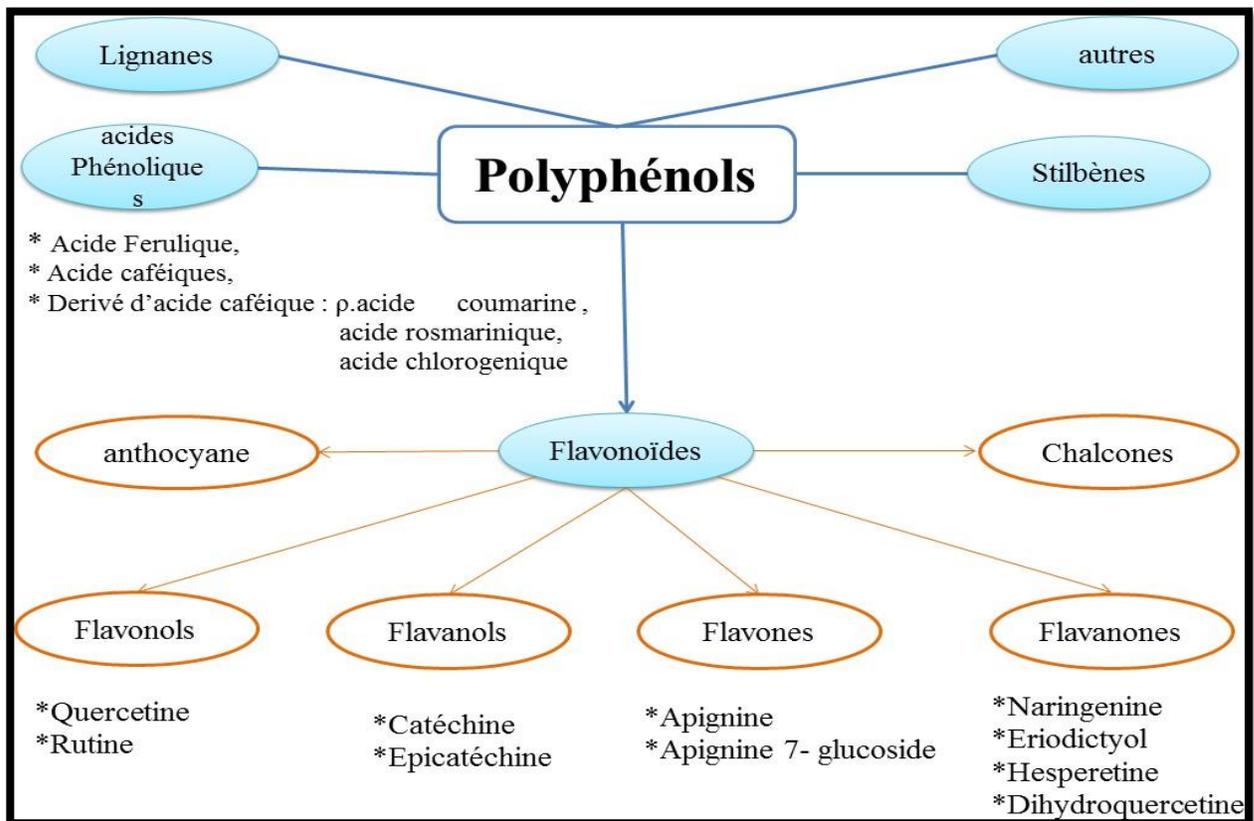


Figure 12 : Classification des polyphénols (de la Rosa *et al.*, 2019).

❖ Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le plus grand groupe de polyphénols. La structure chimique est caractérisée par 15 atomes de carbone, dérivés de la flavone et partagent tous certaines propriétés (**Angelo S. *et al.*, 2019, Cutrim C. S. et Cortez M. A., 2018**).

Ils sont principalement solubles dans l'eau ; ils sont présents dans la plante sous forme de glycosides et dans la même plante ; il peut y avoir une aglycone flavonoïde en combinaison avec différents sucres. Leur nom dérive de flavus (jaune) et fait référence au rôle qu'ils jouent en tant

Etude bibliographique

que pigments végétaux. La coloration qu'ils donnent aux tissus dépend du pH. Un groupe spécifique de flavonoïdes, les anthocyanes, est responsable des couleurs rouges, bleues et violettes des fleurs et des fruits et est donc très important en tant que médiateur de la pollinisation. Il n'est donc pas surprenant que la variété des nuances de couleur associées aux anthocyanes ait augmenté au cours du processus évolutif (**Angelo S. et al., 2019**).

III.3.3. Rôles biologiques des polyphénols

❖ **Activité antioxydante**

Les polyphénols, sont le principal contributeur aux activités antioxydantes totales des fruits, plutôt que la vitamine C. Les polyphénols se sont avérés être de puissants antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en faisant don d'un électron ou d'un atome d'hydrogène. Le système hautement conjugué et certains modèles d'hydroxylation tels que le groupe 3-hydroxy dans les flavonols sont considérés comme importants dans les activités antioxydantes. Les polyphénols suppriment la génération de radicaux libres, réduisant ainsi le taux d'oxydation en inhibant la formation ou la désactivation des espèces actives et des précurseurs de radicaux libres. Plus fréquemment, ils agissent en tant que piègeurs de radicaux directs des réactions en chaîne de la peroxydation lipidique (casseurs de chaîne). Les briseurs de chaîne donnent un électron au radical libre, neutralisant les radicaux et devenant eux-mêmes des radicaux stables (moins réactifs), arrêtant ainsi les réactions en chaîne (**Rong T. et al., 2010**).

❖ **Activité antidiabétique**

Les effets hypoglycémiques des composés polyphénoliques alimentaires peuvent être liés à l'inhibition de la digestion des glucides en inhibant l' α -amylase salivaire et pancréatique et l' α -glucosidase intestinale, inhibition de l'absorption du glucose et stimulation de la sécrétion d'insuline et la protection des cellules β pancréatiques contre la glucotoxicité. Les polyphénols peuvent supprimer la libération de glucose par le foie et améliorer l'absorption du glucose dans les tissus périphériques en modulant la signalisation intracellulaire. Les polyphénols ont une activité antioxydante et peuvent inhiber le produit final de glycation avancée (AGE) (**Kim Y. et al., 2016**).

❖ **Activité anti Alzheimer**

Les troubles neurodégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer représente un problème croissant dans nos sociétés vieillissantes, principalement en raison de l'augmentation de la

Etude bibliographique

prévalence de la maladie d'Alzheimer avec l'âge. Ces troubles neurodégénératifs et d'autres semblent être déclenchés par des événements multifactoriels, notamment la neuroinflammation, l'excitotoxicité glutamatergique, l'augmentation du stress oxydatif, le fer et / ou l'épuisement des antioxydants endogènes. En termes de modulation alimentaire de cette maladie ; des études épidémiologiques ont suggéré que l'apport alimentaire régulier d'aliments et / ou de boissons riches en flavonoïdes a été associé à une réduction de 50% du risque de démence, à une préservation des performances cognitives avec le vieillissement, à un retard dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer.

Les flavonoïdes peuvent agir pour protéger le cerveau de plusieurs façons, notamment en protégeant les neurones vulnérables, en améliorant la fonction neuronale existante ou en stimulant la régénération neuronale . Par exemple, il a été démontré que les polyphénols protègent les neurones contre le stress oxydatif et les lésions neuronales induites par les extraits de Ginkgo biloba riches en polyphénols se sont révélés neuroprotecteurs en protégeant les neurones hippocampiques de l'oxyde nitrique - et neurotoxicité induite par les bêta-amyloïdes. De plus, les anthocyanes et les isoflavones peuvent être capables de réduire la neurodégénérescence associée aux AGE d'accumulation pendant le vieillissement normal et anormal du cerveau (**Vauzour D. *et al.*, 2010**).

*Matériel et
méthodes*

Matériel et méthodes

L'objectif de notre étude est l'évaluation des activités biologiques à savoir : l'activité antioxydante et enzymatique « *in vitro* » des feuilles du figuier *Ficus carica L.* Cette partie englobe l'étude expérimentale qui est organisée comme suit :

- Préparation des extraits méthanolique et acétate d'éthyle des feuilles de *Ficus carica L.*
- Dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits préparés.
- Etude de l'activité antioxydante et enzymatique des extraits de cette plante.

Toutes les étapes d'extraction ont été effectuées au sein du laboratoire pédagogique de Biochimie de l'université des Frères Mentouri Constantine 1. L'évaluation des activités biologiques est effectuée au centre de recherche des biotechnologies (CRBt).

I. Matière végétale utilisée

Notre travail s'intéresse à l'étude des feuilles du figuier *Ficus carica L.* Elles ont été récoltées à la région de Bouzeguène, la wilaya de « Tizi Ouzou ».

Les feuilles sont séchées à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant un mois. Ensuite, elles ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette dernière est ensuite conservée dans des bocaux à une température de -20°C jusqu'à son utilisation.

II. Extraction des composés phénoliques

Dans le but d'obtention des composés phénoliques des feuilles de cette plante, nous avons adopté le procédé d'extraction par macération. Cette méthode d'extraction a été effectuée grâce aux deux solvants organiques différents : le méthanol et l'acétate d'éthyle selon le protocole préconisé par **Sibel K. et al., (2005)**.

Les extraits ont été obtenus par macération. Une quantité de 40 g de la poudre des feuilles est mise en macération dans 200 ml du solvant (méthanol ou acétate d'éthyle) sous agitation magnétique, pendant 24h, à l'abri de la lumière et à température ambiante.

Le surnageant obtenu est filtré sous vide, le filtrat est récupéré, alors que le précipité a subi une autre macération dans les mêmes conditions.

Matériel et méthodes

Cette procédure est répétée trois fois successivement avec renouvellement du solvant chaque 24 heures pour extraire le maximum des polyphénols. Les trois fractions filtrées sont regroupées et évaporées à sec à l'aide de rotavapeur (**Buchi R., 210**) à une température de 40°C. Les extraits ainsi obtenus sont récupérés sous forme d'une pâte dans une boîte de pétri en verre.

II.1 Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le dosage des polyphénols totaux est déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique de dosage sur microplaque décrite par **Muller *et al.*, (2010)**, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui, en milieu alcalin, est réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols (**Khantouche L et Abderabba M.2018**). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxys présents dans l'extrait (**Ali-Rachedi F *et al.*, 2018**). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorbance maximale aux environs de 750 - 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression d'une courbe étalonnage ($y=ax + b$) réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme une référence à différentes concentrations (**Figure 13**).

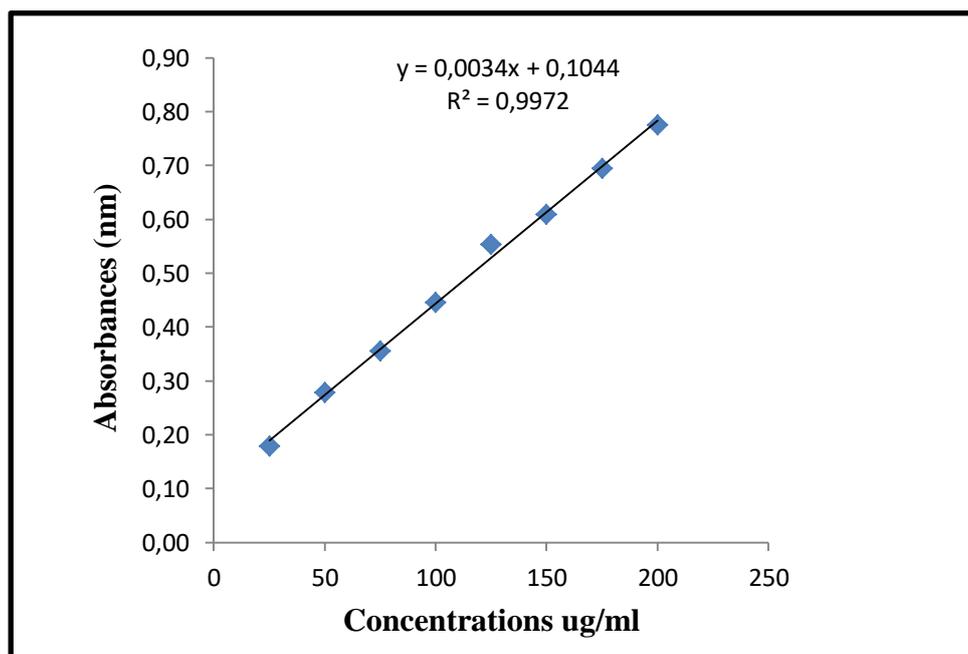


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Matériel et méthodes

Mode opératoire

❖ Préparation de l'extrait de la plante

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol.

Ce dosage est déterminé selon la méthode de **Muller *et al.* (2010)**. Un volume de 20 μ l d'extrait de plante est déposé dans les puits de la microplaque, en ajoutant ensuite 100 μ l de FCR dilué (1/10) et 80 μ l de carbonate de sodium (7,5%). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 2h ensuite une lecture est réalisée à 765nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol).

❖ Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Les dilutions de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique sont préparées à partir d'une solution mère S₁ (0,5 mg de l'acide gallique dissout dans 5 ml de méthanol) d'une concentration de 0,2 mg/ml. Des dilutions de la solution mère sont réalisées selon le tableau 3.

Tableau 04 : Gamme d'étalon de l'acide gallique.

Tubes	Concentrations (acide gallique)	Solution mere	Méthanol
1	25 μ g/ml	25 μ l	175 μ
2	50 μ g /ml	50 μ l	150 μ l
3	75 μ g/ml	75 μ l	125 μ l
4	100 μ g/ml	100 μ l	100 μ l
5	125 μ g /ml	125 μ l	75 μ l
6	150 μ g /ml	150 μ l	50 μ l
7	175 μ g /ml	175 μ l	25 μ l
8	200 μ g /ml	200 μ l	/

Après la préparation des dilutions, un volume de 20 μ l de chaque dilution est transféré dans une microplaque puis 100 μ l FCR (1/10) et 75 μ l de Na₂CO₃ (7,5%) sont additionnés. La microplaque est incubée pendant 2h et lue à une longueur de 765nm.

Matériel et méthodes

II.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ali-Rachedi F *et al.* 2018).

La concentration des flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression d'une courbe étalonnage ($y = a x + b$) réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la quercétine comme une référence à différentes concentrations (Figure 14).

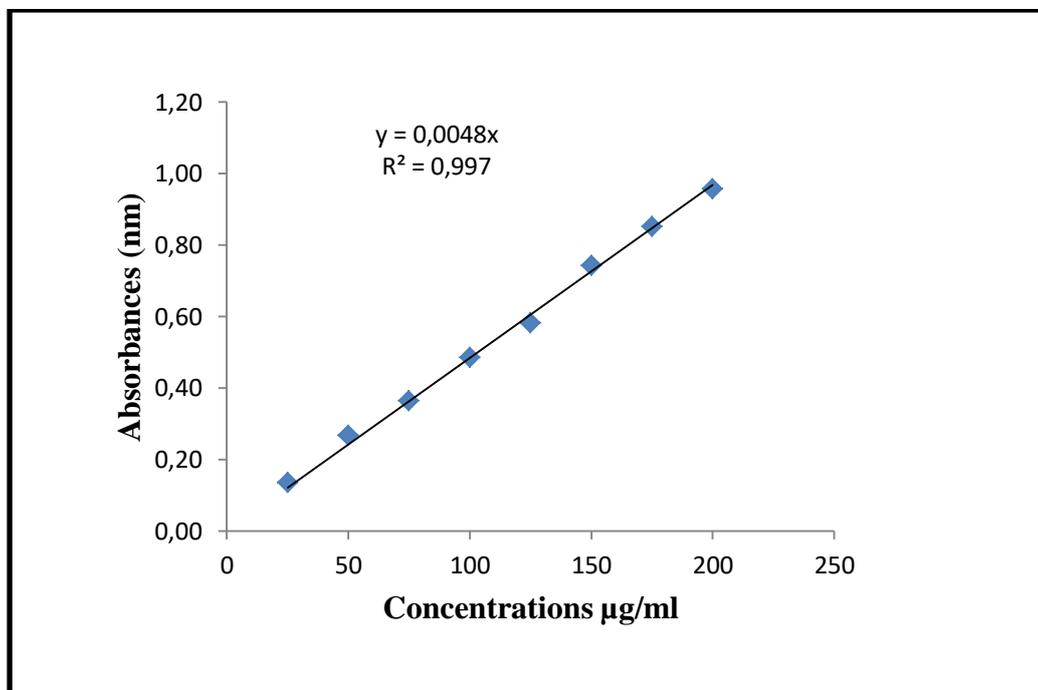


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Mode opératoire

❖ Préparation de l'extrait de la plante

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution mère.

Cette méthode est déterminée selon Topçu *et al.* (2007). Un volume de 50µl de l'extrait de la plante est transféré sur une microplaque suivi d'une addition de 130µl de méthanol (MeOH), 10µl d'acétate de potassium(CH₃COOK) et 10µl de nitrate d'aluminium

Matériel et méthodes

(Al(NO₃)₂, 9H₂O). Attendre 40 min pour la lecture à 415nm. Un blanc est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol).

❖ Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

Les dilutions de la courbe d'étalonnage de la quercétine sont préparées à partir d'une solution mère S₁ (1 mg de la quercétine dissout dans 5 ml de Méthanol) d'une concentration de 0,2mg/ml. Des dilutions de la solution mère sont réalisées selon le **Tableau 4**.

Tableau 05 : Gamme d'étalon de la quercétine.

Tubes	Concentrations(Quercétine)	Solution mère	Méthanol
1	25 µg/ml	25 µl	175 µl
2	50 µg /ml	50 µl	150 µl
3	75 µg/ml	75 µl	125 µl
4	100 µg/ml	100 µl	100 µl
5	125 µg /ml	125 µl	75 µl
6	150 µg /ml	150 µl	50 µl
7	175 µg /ml	175 µl	25 µl
8	200 µg /ml	200 µl	/

Après la préparation des dilutions, un volume de 50µl de chaque dilution est transféré dans une microplaque à 96puits, puis 130µl MeOH, 10 µl (S₁) (CH₃COOK) et 10 µl (Al(NO₃)₂, 9H₂O) sont ajoutés. La microplaque est incubée pendant 40 min et la lecture se fait à 415 nm.

II.3 Evaluation des activités biologiques *in vitro*

II.3.1 Evaluation de l'activité Antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple: DPPH⁺ (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), ou ABTS (2,2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6-sulphonate) et CUPRAC (capacité antioxydante par réduction de cuivre).

Dans ce travail, les propriétés antioxydantes des extraits de *Ficus carica L.* ont été testées par les méthodes suivantes : DPPH radical libre, méthode CUPRAC, méthode du

Matériel et méthodes

pouvoir réducteur, l'activité de piégeage d'ABTS, l'activité de piégeage de Galvinoxyl radical (GOR), l'activité phénanthroline et Silver nanoparticle assay (SNP).

❖ Préparation des échantillons

Les concentrations préparées sont utilisées pour toutes les méthodes. La concentration des solutions mères de chaque échantillon est exprimée en ppm.

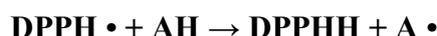
Une quantité de 4 milligrammes d'extrait a été dissoute dans 1 ml du méthanol (solution mère de 4000ppm).

Ensuite une série de dilution au 1/2 de la solution mère est préparée.

II.3.1.1 Test de piégeage du radical DPPH

Le principe

Le principe de ce test est basé sur la réduction de la DPPH, un radical stable libre par un antioxydant selon la réaction suivante (**Figure 15**).



Pendant la réaction, la solution alcoolique de DPPH passe de la couleur violette foncée à la couleur jaune claire. Le dosage des radicaux libres DPPH a été effectué dans une microplaque à 96 puits en utilisant la méthode décrite précédemment (**Boly R. et al., 2016**).

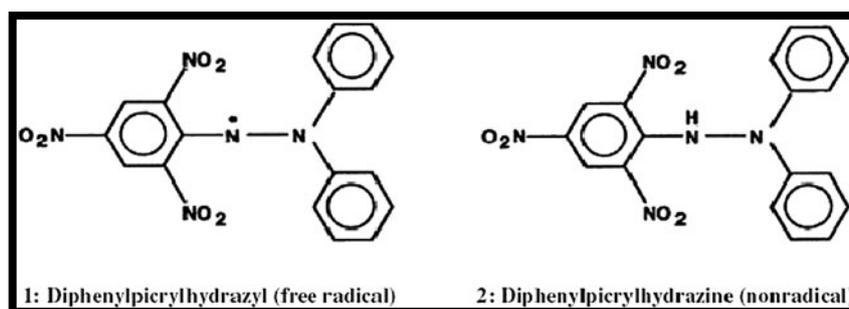


Figure 15 : Forme libre et réduite du DPPH (**Sagar B. K. et Singh R. P., 2011**).

Mode opératoire

Cette activité est déterminée selon la méthode de **Blois (1958)**. Un volume de 40µl des différentes concentrations d'échantillon est déposé en triplicata sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 160µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,4mM). Le blanc est préparé en parallèle, en mélangeant 40µl du méthanol avec 160µl d'une solution méthanolique de DPPH, Après incubation à température ambiante à l'obscurité

Matériel et méthodes

pendant 30min, la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance à 517nm. Les standards antioxydants utilisés sont l' α -tocophérol, le BHT et le BHA. Le pourcentage d'inhibition le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{inhibition (DPPH)} = [(A \text{ Contrôle} - A \text{ Extrait}) / A \text{ Contrôle}] \times 100$$

A Contrôle : est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs / **A Extrait** : est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

II.3.1.2 Test de l'ABTS

Principe

La technique de l'ABTS (acide 2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) implique la production directe de chromophore bleu/vert par la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium. Cela a une absorption maximale aux longueurs d'onde 645 nm, 734 nm (**Re R. et al., 1999**).

Mode opératoire

Cette activité est déterminée par la méthode de **Re R et al., (1999)**. 160 μ l de l'ABTS⁺ ont été ajoutés à 40 μ l de chaque extrait ; après 10 min la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance à 734 nm. Les absorbances obtenues ont été comparées avec celles du BHA et BHT qui sont est utilisés comme des standards antioxydants.

L'activité ABTS⁺ a été exprimée en pourcentage et calculée par l'équation suivante :

$$(\%) \text{ Inhibition ABTS}^+ = (A \text{ Contrôle} - A \text{ Extrait} / A \text{ Contrôle}) \times 100$$

II.3.1.3 Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).

Principe

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur la mesure d'absorbance du complexe Cu (I) - néocuproïne (Nc) formé suite à la réaction redox d'antioxydants avec le réactif CUPRAC, cation bis (néocuproïne) cuivre (II) [Cu (II) -Nc], où l'absorbance est enregistrée à la longueur d'onde d'absorption lumineuse maximale de 450 nm (**Figure 16**). Le réactif oxydant chromogène de la méthode CUPRAC, Cu (II) -Nc, réagit avec

Matériel et méthodes

le réducteur n-électrons antioxydants (AOX) selon l'équation de la **figure 16 (Resat A et Fereidoon S.2017)**.

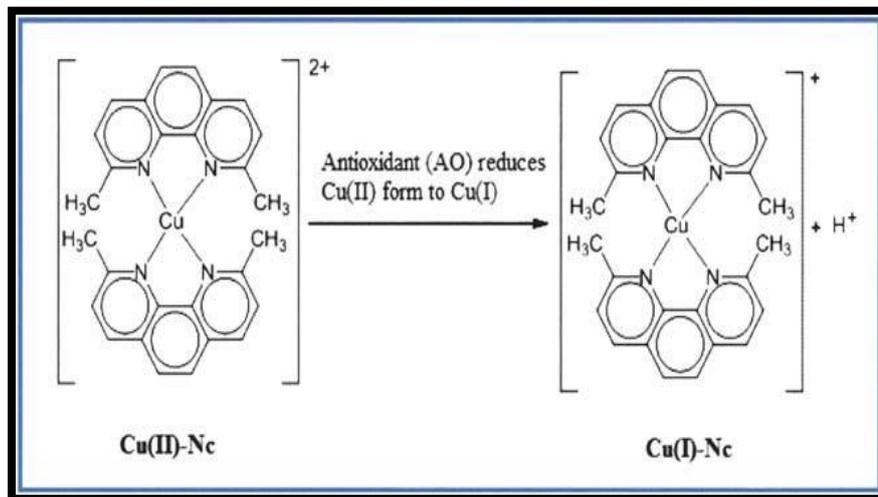


Figure 16 : La réaction du test CUPRAC (özyürek *et al.*, 2011).

Mode opératoire

Ce test est déterminé par la méthode CUPRAC (Apak *et al.*, 2004). Un volume de 40 µl de l'extrait est déposé sur une microplaque à 96 puits, suivi d'une addition de 60 µl de la solution acétate d'ammonium (ACNH₄ et H₂O), 50 µl de la néocuproïne et 50 µl de la solution (Cu Cl₂, 2H₂O). Après 1 h d'incubation une lecture est réalisée à 450 nm.

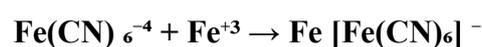
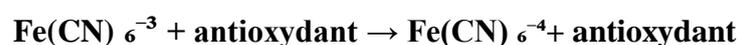
II.3.1.4 Pouvoir réducteur

Principe

L'activité du pouvoir réducteur est déterminée par la méthode d'Oyaizu M. (1986) avec une légère modification.

Le pouvoir réducteur se base sur la réaction d'oxydoréduction. Cette technique est basée sur la capacité réductrice du fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium [FeCl₃/K₃Fe(CN)₆] en fer ferreux (Fe²⁺).

Cette réaction est révélée par un virage de la couleur jaune du fer ferrique au bleu vert du fer ferreux qui est mesuré au spectrophotomètre à 700 nm (Oyaizu M .1986, Berker K *et al.* 2007, Karagozeler A *et al.* 2008).



Matériel et méthodes

Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits ; 10 µl de la solution d'extrait ont été ajoutés à 40 µl du tampon phosphate (pH 6.6) puis 50 µl du potassium ferricyanide à 1% $K_3Fe(CN)_6$ (1 g de $K_3Fe(CN)_6$ dans 100 ml H_2O). Après l'incubation à 50 °C pendant 20mn ; 50 µl d'acide trichloroacétique (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml H_2O), 40 µl d' H_2O et 10 µl de ferricchloride $FeCl_3$ (0.1%) (0,1 g de $FeCl_3$ dans 100 ml H_2O) sont ajoutés. L'absorbance a été déterminée à 700 nm, les standards utilisés sont l'acide ascorbique, l'acide tannique et l' α -tocophérol.

II.3.1.5 Test du phénanthroline

Principe

Le fer ferreux Fe^{2+} forme un complexe stable avec l'orthophénanthroline et donne une couleur orangée. On nomme ce complexe ferroïne et il se quantifie photométriquement à une longueur d'onde de 510 nm (**Zaidi B., 2019**).

Mode opératoire

Cette activité est déterminée par la méthode de **Szydłowska C., (2008)**. Un Volume de 10 µl d'extrait est déposé sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 50 µl $FeCl_3$ (0.2%), 30 µl de phénanthroline (0.5%) et 110µl de MeOH. Après une incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C, la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance à 510 nm.

II.3.1.6 Activité de piégeage du radical galvinoxyl (GOR)

Principe

Le radical galvinoxyle est un radical phénolique relativement stable, il est largement utilisé pour évaluer l'activité antiradicalaire des composés phénoliques et déterminer leur capacité à transférer des protons H^+ aux radicaux libres. Sa couleur change du jaune foncé en jaune pâle en présence d'un antioxydant et son absorbance diminue (**Shi H. et al., 2001**).

Mode opératoire

Cette activité galvinoxyl radical (GOR) est déterminée par la méthode de **Shi H et al. (2001)**. Un volume 40 µl (extrait) est déposé sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 160 µl (0,1mM galvinoxyl) (4 mg dans 100 ml de

Matériel et méthodes

MeOH). Après 120 min la microplaque est insérée dans le spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance à 428 nm.

II.3.1.7 Test de la capacité antioxydante Silver nanoparticle assay (SNP)

Principe

Une méthode colorimétrique sensible pour la détection des polyphénols a été proposée dans cette méthode basée sur la réduction des ions d'argent (Ag^+) par les polyphénols dans la présence de graines d'argent stabilisées au citrate (**Figure 17**). La couleur de la suspension stable a été contrôlée en faisant varier la concentration de citrate trisodique, de nitrate d'argent et de graines d'argent (**Özyürek M. et al., 2012**).

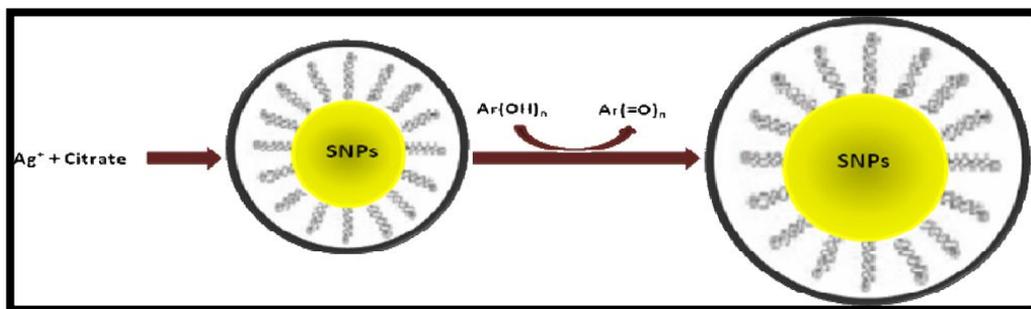
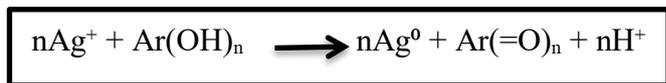


Figure 17 : Réduction des ions Ag^+ (**Özyürek M. et al., 2012**).

La première étape de la méthode SNP consiste à préparer des SNP sphériques de petite taille par réduction chimique d' AgNO_3 avec du citrate trisodique, produisant éventuellement de la dicarboxyacétone:

Dans la deuxième étape, les groupes réactifs $\text{Ar} - \text{OH}$ des polyphénols sont oxydés en les quinones correspondantes tandis qu' Ag^+ est réduit en SNP hautement colorés (formation de noyau-enveloppe) montrant une absorption maximale à 423 nm:



Mode opératoire

L'activité métal chélate est déterminée selon la méthode d'**Özyürek M et al. (2012)**. Un volume de 20 μL de chaque dilution est transféré dans une microplaque à 96 puits. Ensuite une quantité de 130 μL (solution SNP) et 50 μL H_2O sont ajoutés. Après 30 min d'incubation

Matériel et méthodes

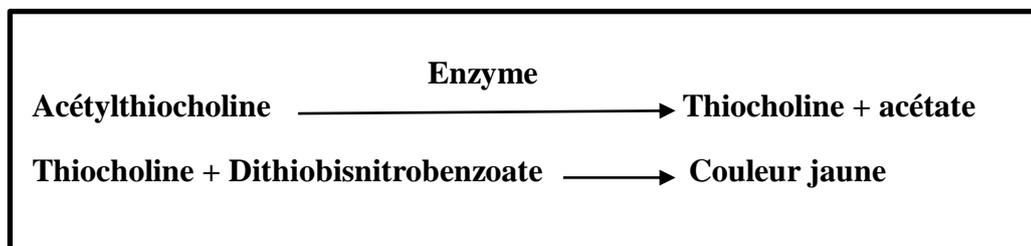
à une température de 25°C ; l'absorbance est lue à 423nm. Le standard antioxydant utilisé est le Trolox.

II.3.2 Evaluation de l'activité enzymatique

II.3.2.1 Activité d'acétylcholinestérase

Principe

L'activité Acétylcholinestérase est déterminée par la méthode d'**Ellman *et al.*, (1961)**. C'est une méthode photométrique pour déterminer l'activité acétylcholinestérase des extraits. L'activité enzymatique est mesurée en suivant l'augmentation de la couleur jaune produite à partir de la thiocholine lorsqu'il réagit avec l'ion dithiobisnitrobenzoate. Elle est basée sur le couplage de ces réactions :



Mode opératoire

Dans une microplaque à 96 puits, un volume 50 µl de du tampon phosphate de sodium (pH=8) (100Mm) est déposé avec 10µl d'extrait dissout dans le méthanol à différentes concentrations, ensuite 20 µl d'AChE sont additionnés. Après 15 min d'incubation à une température de 25°C ; 10 µl de DTNB (0.5mM) et 10µl d'acétylthiocholine iodide sont ajoutés. A la fin deux lectures sont faites à 412 nm ($t_0 = 0\text{min}$ et $t_1 = 15\text{min}$). Le Galantamine est utilisé comme référence.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE est déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule :

$$\frac{(E - S)}{E} * 100$$

E : Activité de l'enzyme sans extrait

S : Activité de l'enzyme avec l'extrait

Matériel et méthodes

II.3.2.2 Activité inhibitrice de l' α -amylase

Principe

Cette activité a été réalisée en utilisant la méthode iode / iodure de potassium (IKI) qui est l'indicateur de fonctionnement avec quelques modifications pour déterminer la quantité d'amidon hydrolysé. Dans la présence d'un inhibiteur de l' α -amylase moins l'amidon serait hydrolysé en maltose ou glucose, et la valeur d'absorbance serait diminuée. L'absorbance a été mesurée à 630 nm. (Zengin G. *et al.*, 2014, Yang X. W. *et al.*, 2012).

Mode opératoire

Dans une microplaque de 96 puits, Nous le divisons en 5 sections (A_c , A_e , A_{s1} , A_{s2} , A_b). Dans chaque section on va mettre:

A_c : 25 μ l MeOH + 50 μ l Tampon

A_e : 25 μ l MeOH + 50 μ l Enzyme

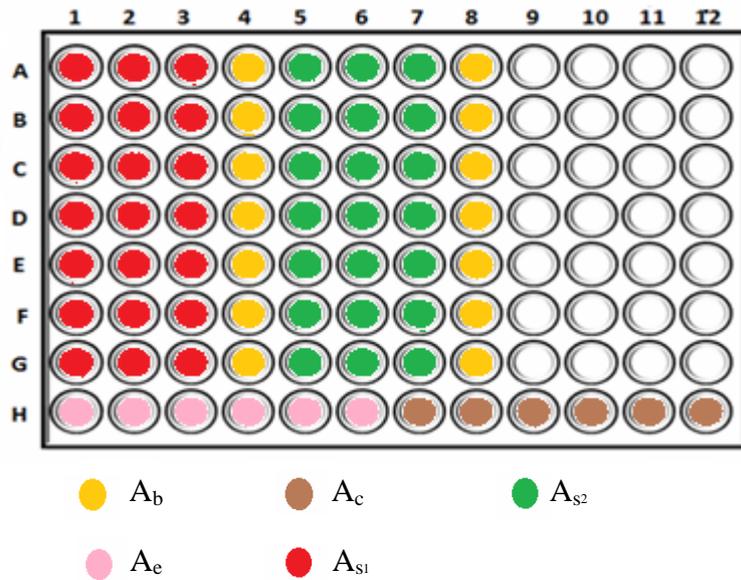
A_{s1} : 25 μ l Extrait methanol + 50 μ l Enzyme

A_{s2} : 25 μ l Extrait Acetate + 50 μ l Enzyme

A_b : 25 μ l Extrait + 125 μ l Tampon

Après 10 min d'incubation à une température de 37°C. En ajouté dans chaque section sauf (A_b) 50 μ l d'amidon et mettre en deuxième incubation de 20min à une température de 37°C. Puis 25 μ l HCl et 100 μ l IKI (3 g d'iodure de potassium dissoute dans 100 ml d'eau auquel a été ajouté 127 mg d'iode) sont ajoutés sauf dans la section d' A_b ; 100 μ l IKI seulement sont ajoutés. La lecture est faite à la longueur d'onde 630 nm.

Matériel et méthodes



Le pourcentage d'inhibition :

$$\%INH = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b) / (A_c - A_e)]$$

A_c = Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

A_e = Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

A_s = Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

A_b = Absorbance [Extrait+IKI+125 μ l de tampon]

*Résultats et
Discussion*

Résultats et discussion

I. Analyses phytochimiques

I.1 Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

L'estimation quantitative des polyphénols totaux en équivalent d'acide gallique, des extraits des feuilles de *Ficus carica L* a été réalisée par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR) (Muller *et al*, 2010). L'acide gallique a été utilisé comme standard pour tracer une courbe d'étalonnage. Les quantités des polyphénols correspondantes ont été exprimées en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{g GAE /mg}$ d'extrait).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de Topçu *et al*. (2007). La quercétine a été utilisée comme standard pour tracer une courbe d'étalonnage. Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en μg d'équivalent de quercétine par mg d'extrait ($\mu\text{gQE/mg}$).

Les résultats de la teneur en composés phénoliques sont présentés dans le **tableau05**.

Tableau06: Teneur en polyphénols totaux (TPC) ET en flavonoïdes (TFC) des'extraits.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux ($\mu\text{g GAE/mg}$)	Teneur en flavonoïdes totaux ($\mu\text{g QE/mg}$)
Extrait de methanol (EM)	31,45 \pm 3,97	140,90 \pm 6,33
Extrait d'acetate (EA)	46,15 \pm 1,67	195,4167 \pm 5,89

$\mu\text{g GAE/mg}$: μg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait.

$\mu\text{g QE/mg}$: μg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.

Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénolique totaux et des flavonoides sont illustrés à la **figure18, 19** et l'histogramme de la **figure20**.

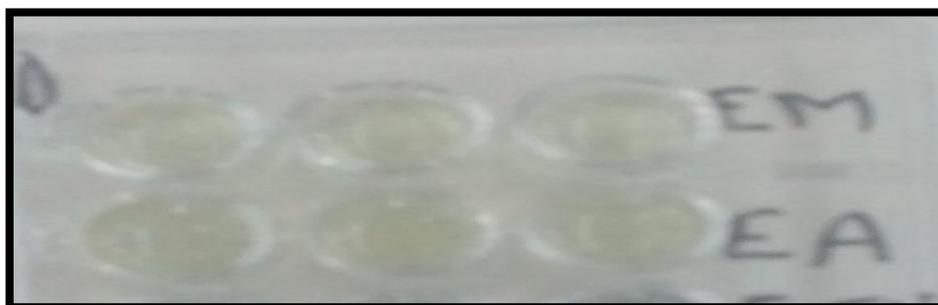


Figure 18 : Profil de la microplaque du dosage des polyphénols totaux.

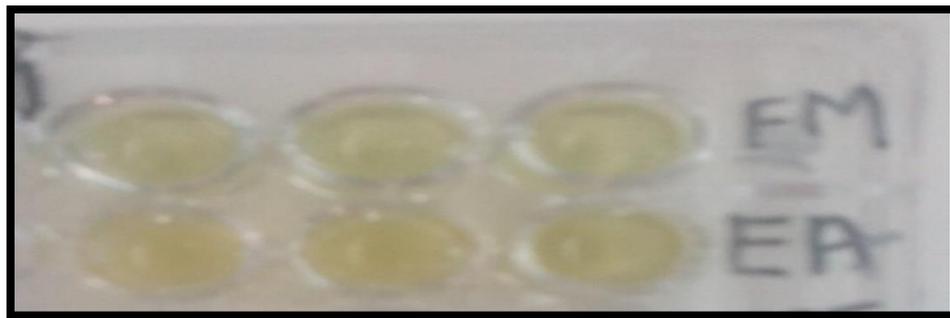


Figure 19 : Profil de la microplaque de dosage des flavonoïdes totaux.

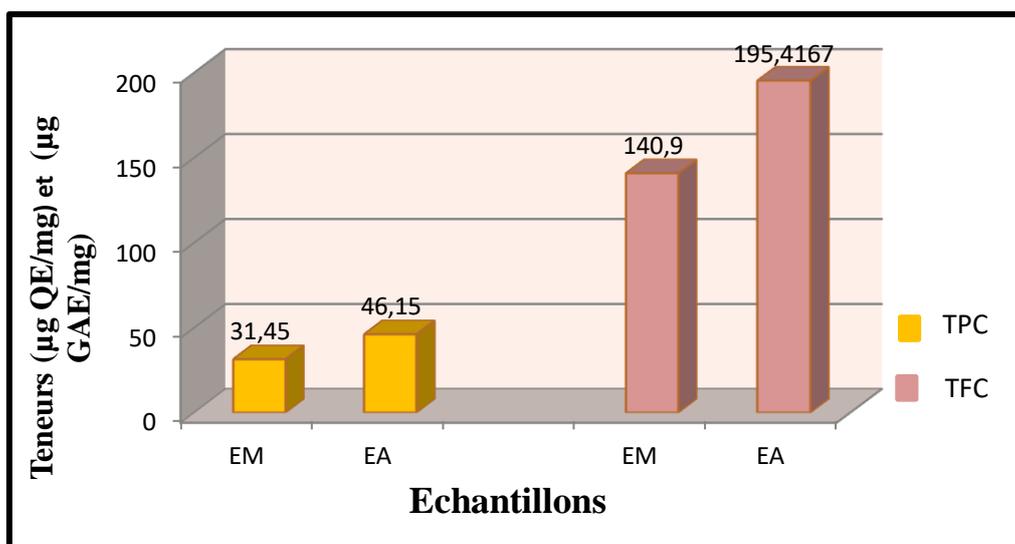


Figure 20: Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux (TPC) et en flavonoïdes totaux (TFC) des extraits.

D'après les résultats représentés au **tableau 05** et les **Figures 19, 18, 20**, les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle des feuilles du *Ficus carica L* sont de $31,45 \pm 3,97$ µg GAE/mg et $46,15 \pm 1,67$ µg GAE/mg respectivement. Les teneurs en flavonoïdes totaux sont de l'ordre de $140,90 \pm 6,33$ µg QE/mg pour l'extrait méthanolique et $195,4167 \pm 5,89$ µg QE/mg pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

Ces résultats montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle renferme un taux peu plus élevé en polyphénols et flavonoïdes que l'extrait méthanolique. La différence des résultats des solvants indique que la récupération phénolique des matières végétales est influencée par la solubilité dans le solvant utilisé pour le processus d'extraction. En outre, la polarité du solvant joue un rôle clé dans l'augmentation de la solubilité (**Bey M et al., 2013**).

Résultats et discussion

Plusieurs études se sont intéressés à la détermination des taux des polyphénols sur des extraits méthanoliques des feuilles du *Ficus carica L.* Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus des feuilles de Plovdiv par **Ivanov I et al.,(2015)** et des feuilles de la flore sauvage de Saklıkent / Fethiye par **Ergul M et al.,(2019)** avec des valeurs variant entre 3,9 µg GAE/mg et 16,11 µg GAE/mg respectivement, et inférieur à ceux d'**Ara I. et al., (2020)** et **Lahmadi A et al.,(2019)** à partir des feuilles ont été récoltées dans Lakhdaria, Province de Bouira (nord-est de l'Algérie) ayant trouvé des valeurs de $353,5 \pm 10,772$ µg GAE/mg et $96,46 \pm 0,42$ µg GAE/mg respectivement.

Les résultats des polyphénols totaux des extraits d'acétate d'éthyle, sont supérieurs à ceux obtenus par **Konyaloğlu S et al.,(2005)** qui travaillent par des feuilles de deux variétés différentes (Sarilop; jaune et Bursa siyahi; violet) de figes fraîches ont été récoltées des vergers des provinces d'Aydin et de Bursa, et **Ramgopal M et al.,(2018)** ayant trouvé des valeurs variant entre $5,090 \pm 0,097$ µg GAE/mg et $12,22 \pm 0,124$ µg GAE/mg respectivement.

Plusieurs études se sont intéressés à la détermination des taux de flavonoïdes sur des extraits méthanoliques des feuilles du *Ficus carica L.* Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Ergul M et al.,(2019)**, **Lahmadi A et al.,(2019)**, **Ivanov I et al.,(2015)** et **Mahmoudi S et al.,(2015)** qui ont trouvé des valeurs variant entre 11,29 µg QE/mg, $33,52 \pm 1,34$ µg QE/mg, 1,4 µg QE/mg et $14,388 \pm 0,333$ µg QE/mg respectivement.

Les résultats des polyphénols totaux des extraits d'acétate d'éthyle sont supérieurs à ceux obtenus par **Konyaloğlu S et al., (2005)** et **Ramgopal M et al.,(2018)** avec des valeurs variant entre $1,188 \pm 0,034$ µg QE/mg et $9,24 \pm 0,215$ µg QE/mg respectivement.

Selon **Kamiloglu E et Capanoglu E., (2013)** et **Zadernoski et al., (2005)**, ces différences de résultats peuvent être dus aux facteurs agroécologiques, génétiques et des méthodes d'extraction utilisées. D'un autre côté **Fernando V et al., (2012)**, estiment que les conditions météorologiques et l'influence de la région de culture (nord ou sud), de la méthode de culture (en serre ou en extérieur) et / ou du style de culture (conventionnel ou biologique) pourraient avoir une influence sur les concentrations finales de composés phénoliques.

Evaluation de l'activité Antioxydante

I.2 Le radical libre diphényle-picryl-hydrazyle (DPPH)

Dans cette étude, la méthode DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux libres des feuilles de *Ficus carica L.* Les antioxydants sont des substances qui réduisent la forme radicalaire de la DPPH grâce à un donneur d'électrons ou d'hydrogène (Saeideh Allahyari, 2014) par cette réaction on remarque que le DPPH change la couleur du violet au jaune (Figure 21). L'activité antioxydante piégeant l'extrait des feuilles du *Ficus carica L.* a été considérablement augmentée avec l'augmentation de la concentration de l'extrait (Tableau 06).

Tableau 07 : Valeurs d'IC₅₀ du test DPPH des extraits et standards.

Extraits/Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de méthanol (EM)	235,45±3,66
Extrait d'acétate (EA)	268,34±6,75
BHA	6,14±0,41
BHT	12,99±0,41
α-Tocophérol	13,02±5,17

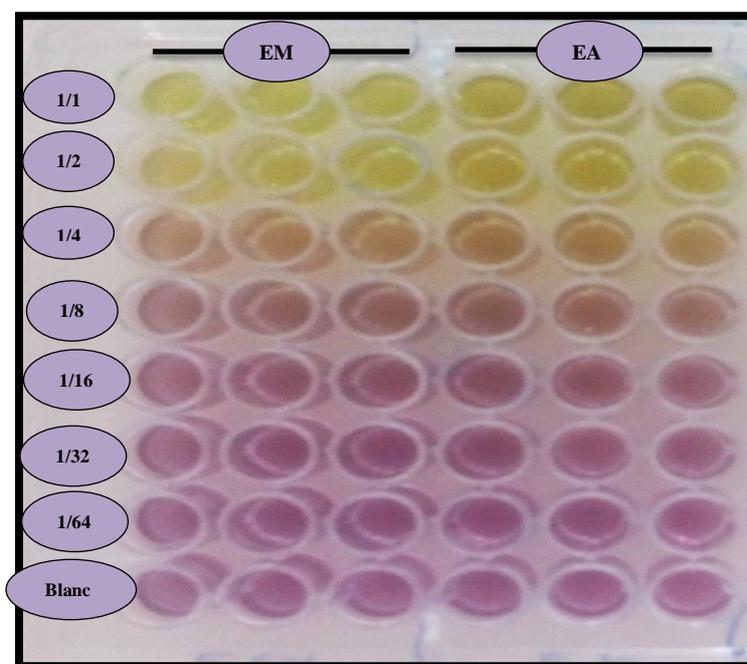


Figure 21 : Profil de la microplaque du dosage de l'activité anti radicalaire DPPH.

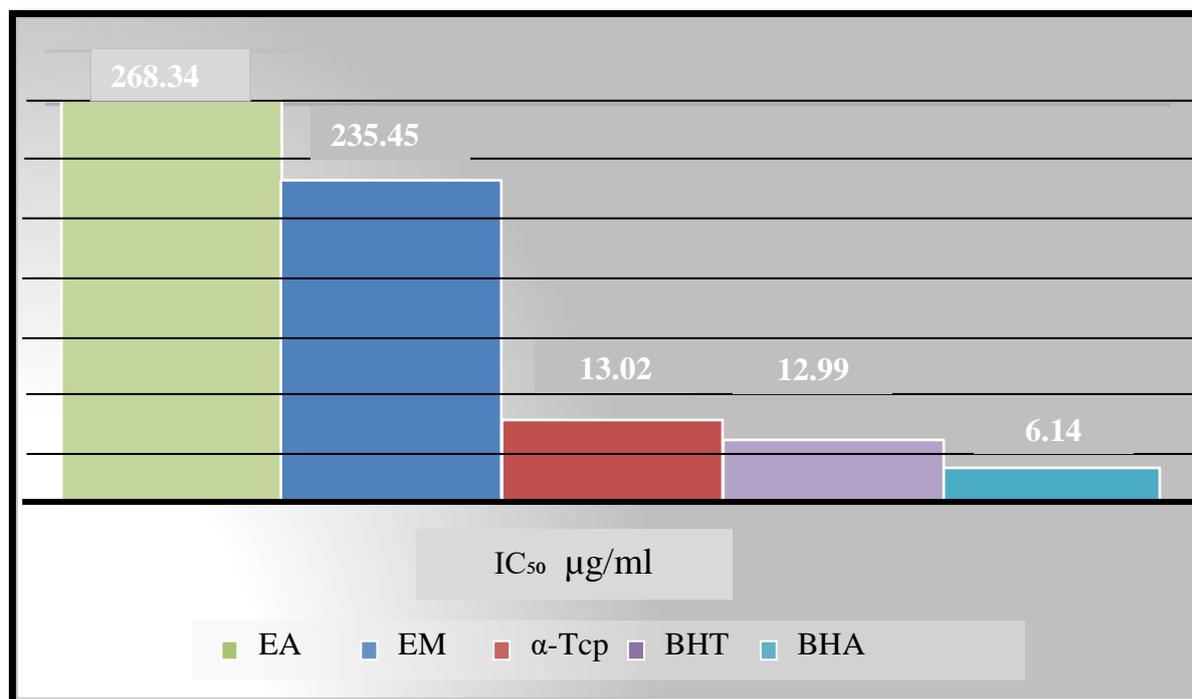


Figure 22 : Valeurs IC₅₀ du test DPPH.

La valeur d'IC₅₀ est la concentration des antioxydants nécessaires pour réduire 50% du radical DPPH. Elle a été déterminée graphiquement par la régression linéaire. une faible valeur d'IC₅₀ d'un extrait indique sa forte activité antioxydante (Nurul J *et al.*, 2017, Diomande A. *et al.*,2018).

D'après les valeurs du **tableau06** et les **figures 21,22** ; nous constatons que les extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle ont un pouvoir antioxydant faible, (avec des IC₅₀ respectives de : 235,45±3,66 µg/ml et 268,34±6,75 µg/ml). Ces valeurs d'IC₅₀ sont supérieurs à celles des standards : BHT (IC₅₀=12,99±0,41µg/ml), BHA (IC₅₀=6,14±0,41µg/ml) et l'α-tocophérol (13,02±5,17µg/ml). L'extrait méthanolique a exhibé une activité meilleure que celle de l'extrait d'acétate d'éthyle.

Comparativement à d'autres études réalisées sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Ficus carica L*, notre résultat est supérieur à celui obtenu par Ara I *et al.*,(2020) (IC₅₀ = 17,407 µg/mL) des feuilles qu'ont été récoltés régions du nord du Pakistan (Naran, Kaghan et Khyber Pakhtunkhwa) ,et inférieur à celui obtenu par Ergul M *et al.*,(2019), Mahmoudi S *et al.*,(2015) et Lahmadi A *et al.*,(2019) qui ont trouvé des valeurs variant entre 1450 µg/mL, 849,21 µg/mL et 275,23 ±0,045µg/mL respectivement.

Résultats et discussion

Le résultat obtenu dans notre étude pour l'extrait d'acétate d'éthyle est différent de celui d'une autre étude réalisée sur des feuillettes de *Ficus carica L* de la forêt de Seshachalam à Tirupati en Inde. Les résultats ont montré une valeur d'IC₅₀ de 899,55±109,737 µg/mL (**Ramgopal M et al., 2018**). Dans la même étude, les auteurs ont montré différentes valeurs d'IC₅₀ qui varient selon le type du solvant d'extraction : 1233±40,764 µg/ml pour l'hexane, 175,857±8,932 µg/ml pour l'éthanol et 322,110±12,970 µg/ml pour l'extrait aqueux.

Selon **Andreia P. Oliveira., et al (2009)** et **Mahmoudi S., et al (2015)**, Ces différences des résultats peuvent être le résultat des quantités de composés phénoliques présentes dans les feuilles parce que la capacité antioxydante des feuilles de figuier était significativement corrélée avec le contenu phénolique.

I.3 L'activité de piégeage d'ABTS

L'ABTS est une activité d'élimination des cations radicalaires et reflète également la capacité de donner de l'hydrogène (**Sowndhararajan K. Kang S C 2012**). Les résultats de l'activité de piégeage d'ABTS sont présentés dans le **tableau 07** et les **figures 23,24**.

Tableau08 : Valeurs d'IC₅₀ du test de balayage ABTS des extraits et standards.

Extraits/Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de méthanol (EM)	79,64±11,97
Extrait d'acétate (EA)	83,04±11,01
BHA	1,29±0,30
BHT	1,81±0,10

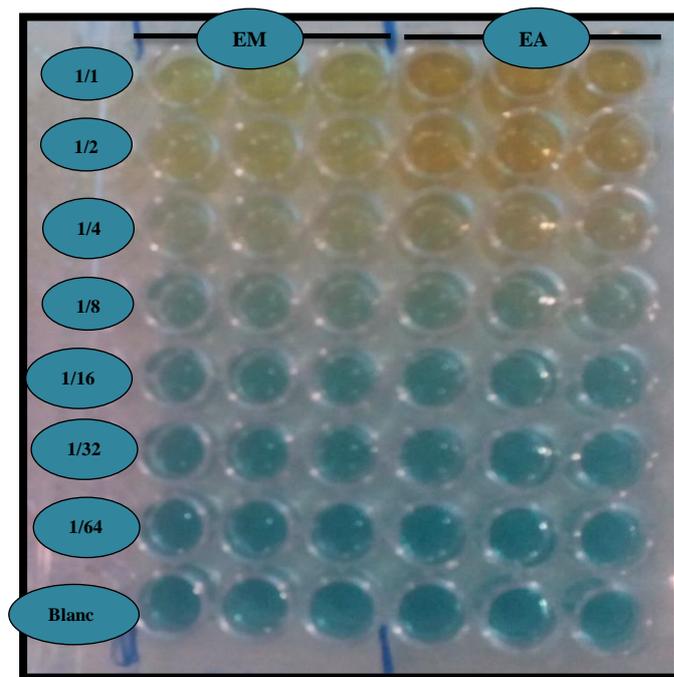


Figure 23 : Profil de la microplaque de l'activité de balayage ABTS.

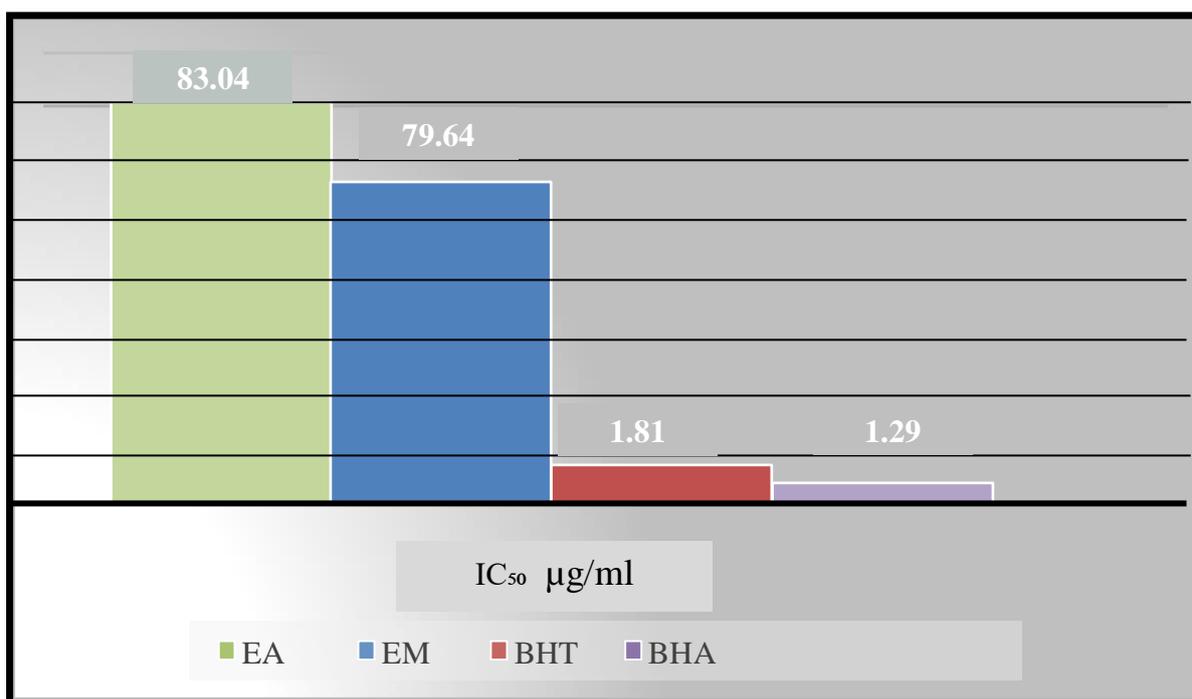


Figure 24 : Valeurs des IC₅₀ dans le test ABTS.

Selon les résultats mentionnés au **tableau 07** et les **figures 23,24** ; nous constatons que l'extrait méthanolique a montré une très faible activité antiradicalaire ABTS avec une IC₅₀ de l'ordre de 79,64±11,97 µg/ ml, cette activité est proche de celle de l'extrait d'acétate d'éthyle qui présente une IC₅₀ égale à 83,04±11,01 µg/ ml.

Résultats et discussion

En comparaison aux standards ; on remarque que l'extrait méthanolique a manifesté une activité antiradicalaire ABTS 44 fois plus faible que celle du BHA ($IC_{50} = 1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) et 62 fois plus faible que celle du BHT ($IC_{50} = 1,29 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$), tandis que l'activité antiradicalaire de l'extrait d'acétate d'éthyle est 46 fois inférieure à celle du BHA et 64 fois inférieure à celle du BHT.

Dans notre étude, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles de *Ficus carica L* est 7 fois inférieur à celle obtenu par **Ergul M et al., (2019)** avec une IC_{50} égale à $559,39 \mu\text{g/ml}$. De plus, une étude sur les feuilles de *Ficus carica L* de Bejaia, les auteurs ont montré une activité de piégeage d'ABTS pour l'extrait méthanolique avec une valeur d' IC_{50} égale à $316,23 \pm 14,9 \mu\text{g/ml}$ pour des feuilles séchées à l'abri de la lumière et $348,34 \pm 15,58 \mu\text{g/ml}$ pour les feuilles séchées dans le four (**Boukhalfa F., et al 2019**). A partir de ces résultats ; on peut conclure que nos extraits ont une bonne activité de piégeage d'ABTS.

Comparativement aux résultats de la présente étude, les travaux menés par **Amessis-Ouchemoukh et al., (2016)** concernant l'extrait méthanolique des figes blanches (*Ficus carica*) de Beni Maouche ont démontré une activité antiradicalaire ABTS meilleure à celle de nos extraits ($IC_{50} = 68,98 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$).

Nous n'avons pas trouvé de travaux similaires sur les feuilles de *Ficus carica L* ayant étudié le potentiel ABTS d'un extrait d'acétate d'éthyle. Par conséquent nos résultats ne peuvent être comparé à celles d'autres études.

I.4 Réduction du cuivre (CUPRAC)

Les résultats de la capacité de réduire le cuivre de l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle du *Ficus carica L* sont présentés au **tableau 08** et les **figures 25, 26**. Le changement de la couleur observée dans la microplaque indique la réduction du complexe cuivre-néocuproin par un agent antioxydant.

Tableau09 : Valeurs ($A_{0,50}$) du test de réduction du cuivre des extraits et standards.

Extraits/Standards	$A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Extrait de méthanol (EM)	$90,12 \pm 3,62$
Extrait d'acétate (EA)	$63,88 \pm 0,88$
BHA	$5,35 \pm 0,71$
BHT	$8,97 \pm 3,94$

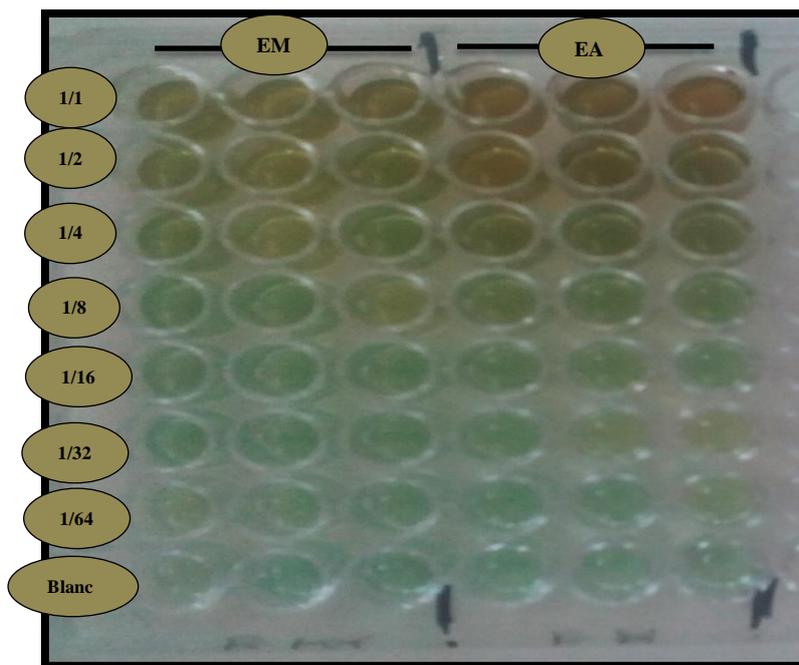


Figure 25 : Profil de la microplaque de la réduction du cuivre (CUPRAC).

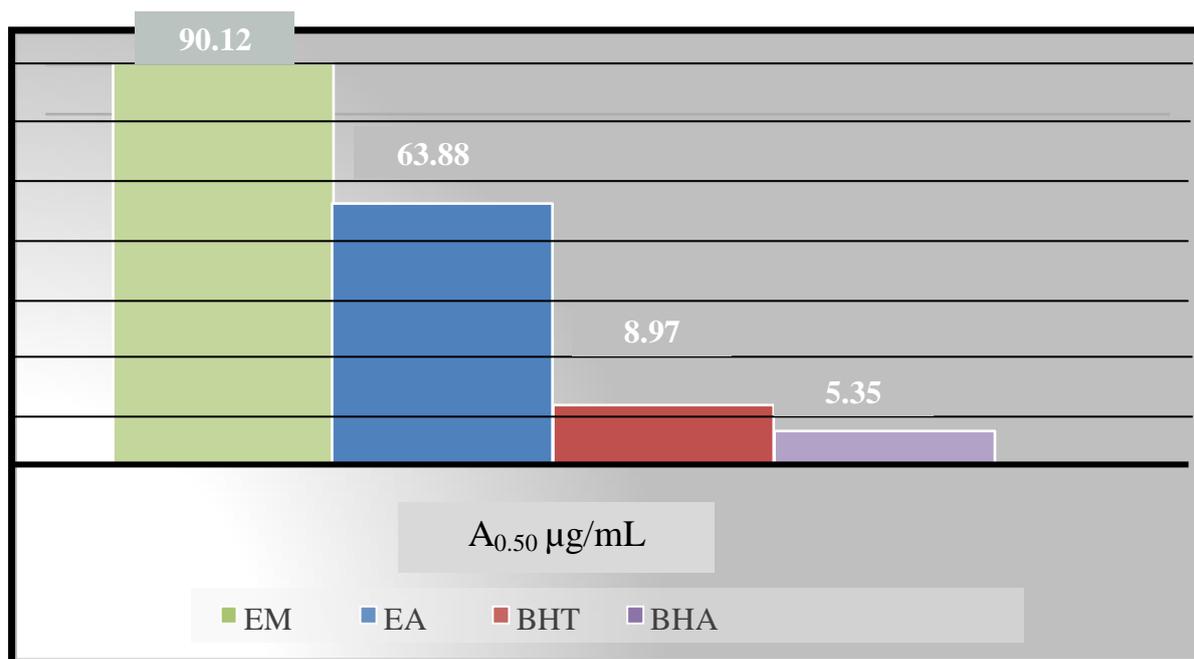


Figure 26 : Valeurs des $A_{0.50}$ du test CUPRAC.

Les valeurs d' $A_{0.50}$ des extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle sont de $90,12 \pm 3,62 \mu\text{g/ml}$ et $63,88 \pm 0,88 \mu\text{g/ml}$ respectivement. On remarque que la réduction du cuivre de l'extrait d'acétate d'éthyle est largement supérieure par rapport à l'extrait méthanolique. Comparés aux BHT ($8,97 \pm 3,94 \mu\text{g/ml}$) et BHA ($5,35 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$), les deux extraits sont relativement plus faibles que les standards. L'extrait méthanolique possède une activité 16

Résultats et discussion

fois faible que le BHA et 10 fois que le BHT. L'extrait d'acétate d'éthyle possède une activité 11 fois faible que le BHA et 7 fois faible que le BHT.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'activité de réduction du cuivre sur des extraits de feuilles du figuier, nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

I.5 L'activité de piégeage de Galvinoxyl radical (GOR)

Les résultats de l'activité de piégeage de Galvinoxyl radical (GOR) de l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle de *Ficus carica L* sont présentés au **tableau09** et les **figures 27, 28**.

Tableau10 : Valeurs d'IC₅₀ du Galvinoxyl radical (GOR) test des extraits et standards.

Extraits/Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de méthanol (EM)	80,40±1,33
Extrait d'acétate (EA)	190,22±1,59
BHA	3,32±0,18
BHT	5,38±0,06

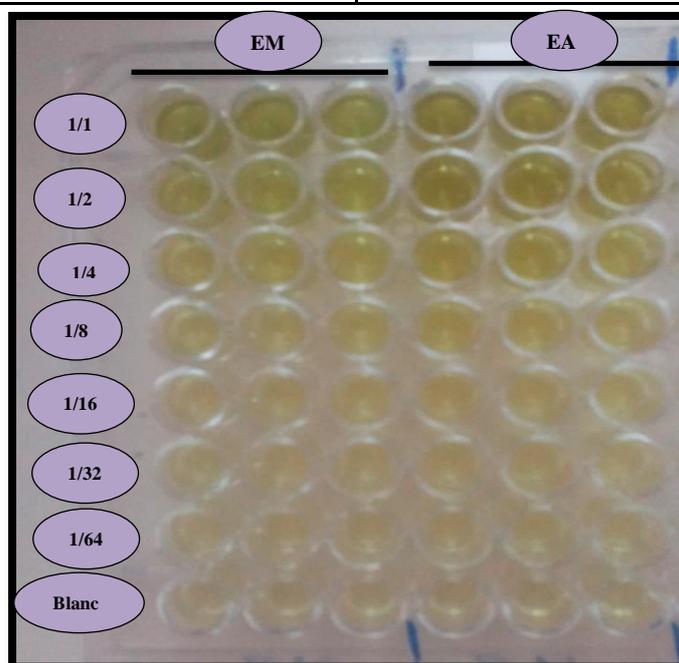


Figure 27 : Profil de la microplaque de Galvinoxyl radical (GOR).

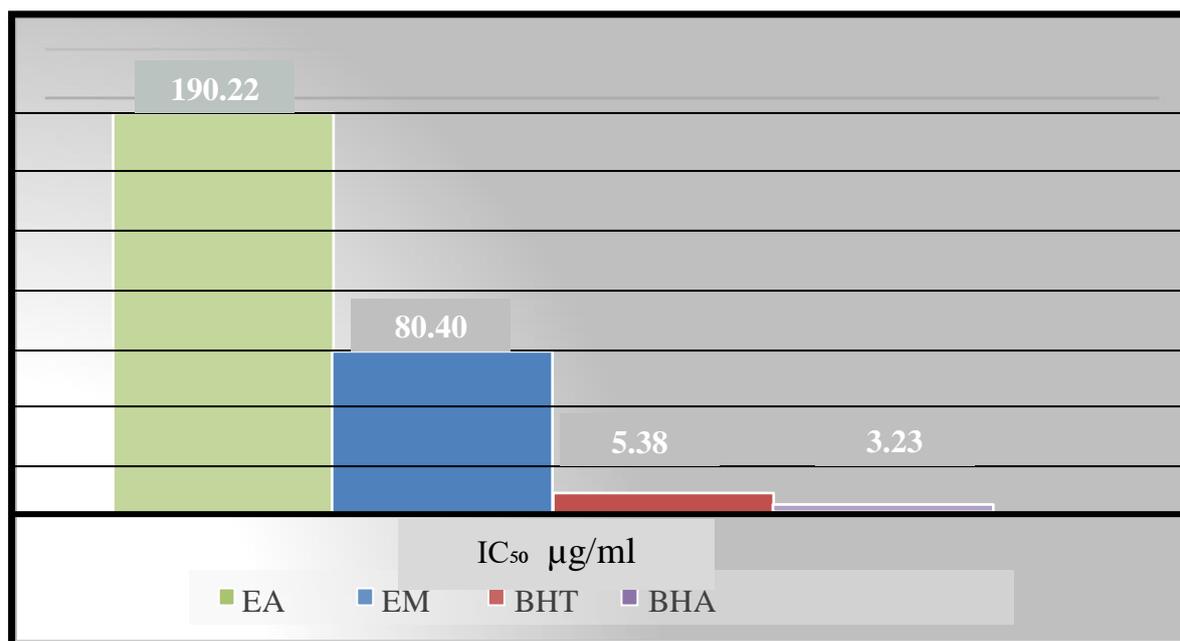


Figure 28 : Valeurs des IC₅₀ du test radical galvinoxyl.

D'après les résultats du **tableau09** et les **figures 27, 28** ; nous constatons que l'extrait méthanolique montre une faible activité antiradicalaire avec une IC₅₀ de l'ordre de 80,40±1,33 µg/ ml. Cette activité est largement inférieure à celles des standards le BHA et BHT qui présentent une IC₅₀ égale à 3,32±0,18 µg/ ml et 5,38±0,06 µg/ ml respectivement et 2 fois supérieure à celle de l'extrait d'acétate d'éthyle avec une IC₅₀ de 190,22±1,59 µg/ml. Néanmoins, l'extrait d'acétate d'éthyle est 57 fois moins que le BHA et 35 fois moins actif que le BHT.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'activité de piégeage de Galvinoxyl radical (GOR) sur des extraits de feuilles du figuier nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

I.6 L'activité phénanthroline

L'activité phénanthroline est caractérisée par une réaction de réduction des ions Fe³⁺ en ions Fe²⁺. Cette conversion est illustrée par l'apparition de la couleur orange dans la microplaque. Les résultats de l'activité phénanthroline de l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle de *Ficus carica L* sont présentés au **tableau10** et les **figures 29, 30**.

Résultats et discussion

Tableau11 : Valeurs ($A_{0,50}$) du test de phenanthroline des extraits et standards.

Extraits/Standards	$A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Extrait de méthanol (EM)	$70,98 \pm 0,85$
Extrait d'acétate (EA)	$51,24 \pm 0,84$
BHA	$0,93 \pm 0,07$
BHT	$2,24 \pm 0,17$

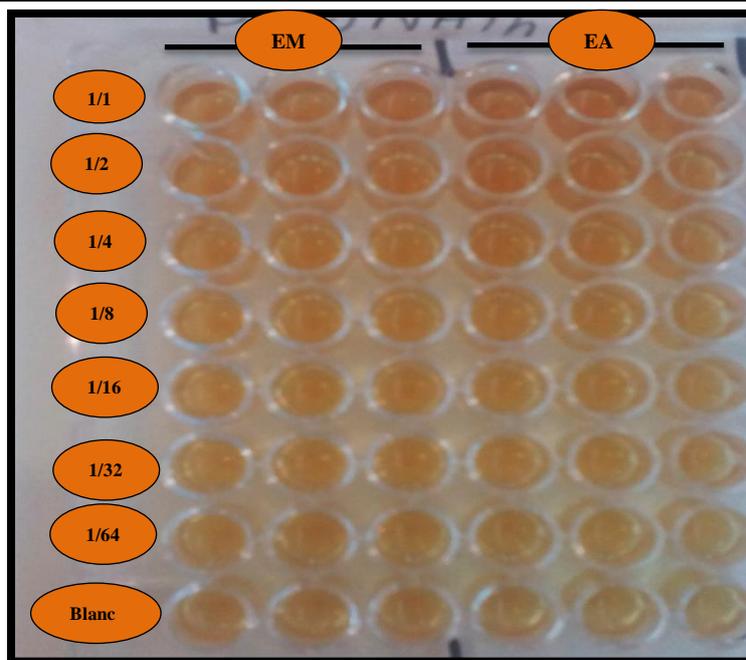


Figure 29 : Profil de la microplaque de phenanthroline.

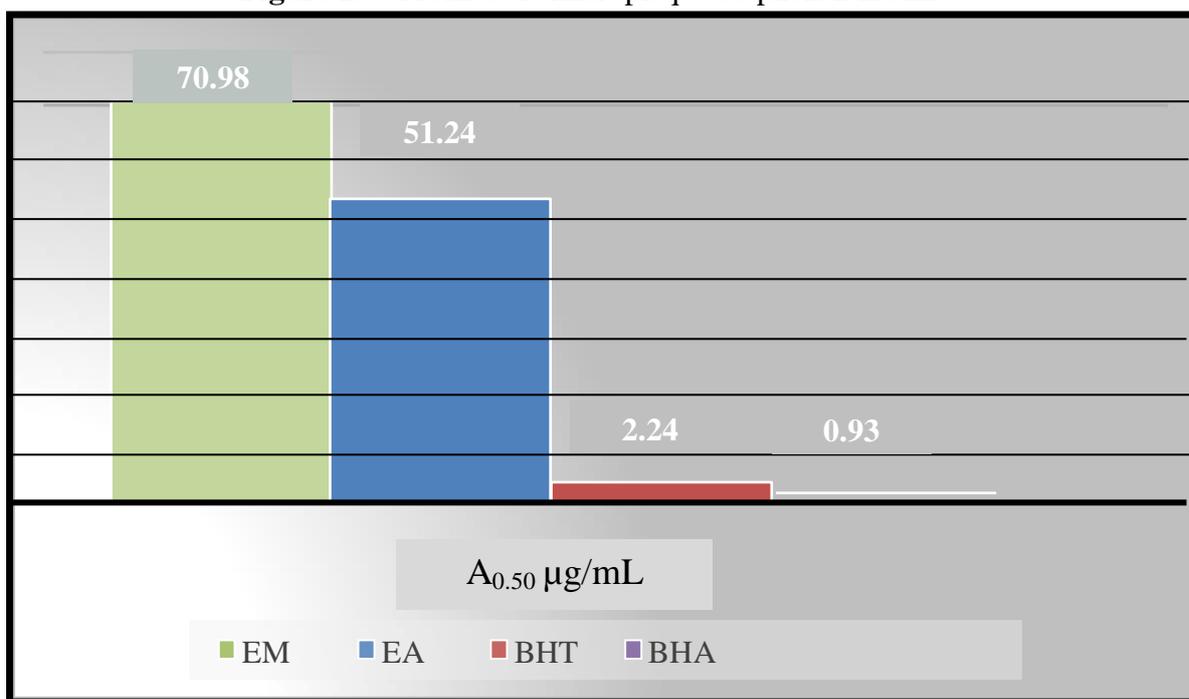


Figure 30 : Valeurs d' $A_{0,50}$ dans le test phénanthroline.

Résultats et discussion

D'après les résultats présentés au **tableau10** et les **figures 29, 30** ; on observe que les valeurs d' $A_{0,50}$ obtenus pour les deux extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle sont de l'ordre de $70,98 \pm 0,85 \mu\text{g/ml}$ et $51,24 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles des standards le BHA ($A_{0,50} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$) et le BHT ($A_{0,50} = 2,24 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$), donc nos extraits possèdent une activité antioxydante très faible.

Nous constatons aussi que l'extrait méthanolique présente la plus grande valeur d' $A_{0,50}$ en comparaison à celle d'acétate d'éthyle. Donc l'extrait méthanolique a une très faible activité par rapport à celle d'acétate d'éthyle.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'activité de phénanthroline sur les extraits d'intérêt, nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

I.7 Pouvoir réducteur (FRAP)

Cette méthode est un essai simple, rapide et reproductible. La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} complexe ferricyanide à la forme ferreux Fe^{2+} . Ce dernier peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel (**Bougandoura N et Bendimerad N., 2012**). L'activité observée indiquerait la présence de composés donneurs d'électrons dans les extraits étudiés, entraînant la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} . Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir d'indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Diomande A.et al., 2018**). Les résultats de l'activité antiradicalaire au FRAP sont représentés au **tableau11** et les **figures 31et 32**. Le changement de la couleur du jaune au bleue observé dans la microplaque indique la présence de substances possédant une capacité à transférer un électron.

Tableau 12 : Valeurs ($A_{0,50}$) du test pouvoir réducteur des échantillons et standards.

Extraits/Standards	$A_{0,50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Extrait de méthanol (EM)	>200
Extrait d'acétate (EA)	>200
Acide Ascorbique	$6,77 \pm 1,15$
α -Tocophérol	$34,93 \pm 2,38$

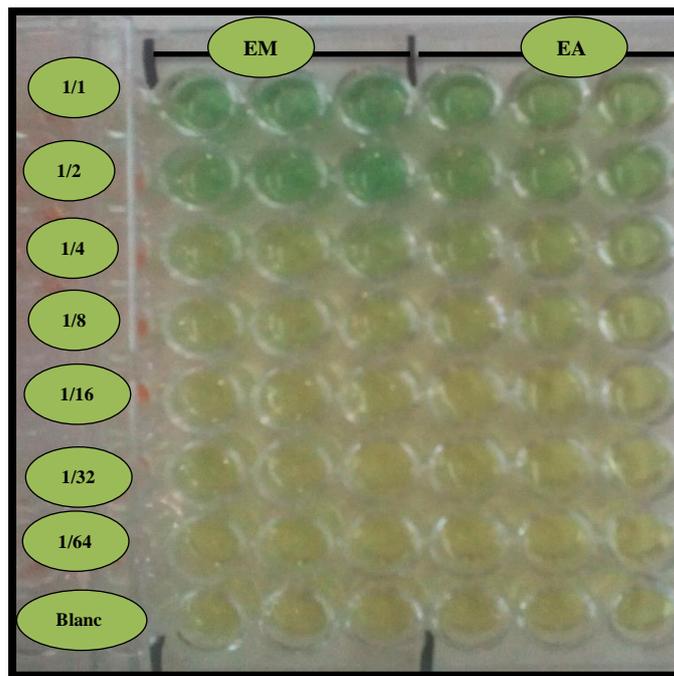


Figure 31 : Profil de la microplaque de l'activité de pouvoir réducteur.

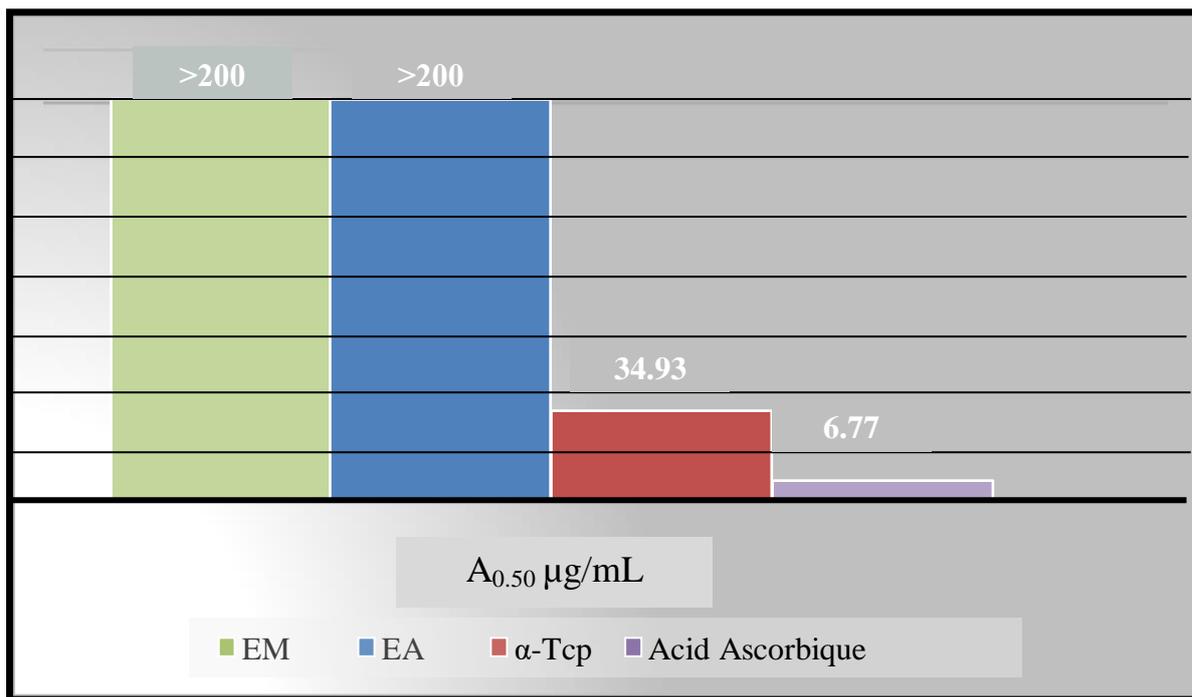


Figure 32 : Valeurs des $A_{0.50}$ du test FRAP.

Les résultats obtenus au **tableau 11** et les **figures 31, 32** suggèrent clairement que les deux extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle ont montré une très faible activité avec un

Résultats et discussion

$A_{0.50} > 200$ $\mu\text{g/ml}$ par rapport aux standards l' α -Tocophérol et l'acide ascorbique avec des $A_{0.50}$ respectives de $34,93 \pm 2,38$ $\mu\text{g/ml}$ et $6,77 \pm 1,15$ $\mu\text{g/ml}$.

Contrairement à la présente étude, d'autres auteurs ont prouvé que les feuilles possèdent une activité réductrice de Fe^{3+} en Fe^{2+} notamment **Lahmadi A et al., (2019)** ont montré des valeurs d' $A_{0.50}$ pour l'extrait méthanolique variant entre $0,113 \pm 0,004$ $\mu\text{g/ml}$ et $0,494 \pm 0,008$ $\mu\text{g/ml}$. Une autre étude de **Ghazi F et al., (2012)** réalisée sur des extraits méthanolique et aqueux des feuillettes du *Ficus carica L* du Royaume d'Arabie saoudite ; les auteurs ont trouvé des valeurs d' $A_{0.50}$ variant entre $131,39 \pm 13,96$ $\text{mmol Fe} / 100 \text{g}$ pour l'extrait méthanolique et $16,66 \pm 4,40$ $\text{mmol Fe} / 100 \text{g}$ pour l'extrait aqueux.

I.8 Silver nanoparticle (SNP) assay

SNP est une méthode colorimétrique sensible pour la détection des polyphénols, la coloration jaune de la microplaque est due à la formation de SNP (formation de noyau-enveloppe) indiquant que les polyphénols sont oxydés en les quinones correspondantes tandis que l' Ag^+ est réduit en SNP (**Mustafa O et al., 2012**) (**Figure33,34**)(**Tableau12**).

Tableau13 : Valeurs ($A_{0.50}$) du test silver nanoparticle (SNP) assay des échantillons et standards.

Extraits/Standards	$A_{0.50}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Extrait de méthanol (EM)	$177,22 \pm 7,29$
Extrait d'acétate (EA)	$86,74 \pm 0,87$
Acide ascorbique	$7,14 \pm 0,05$
Trolox	$34,17 \pm 1,23$

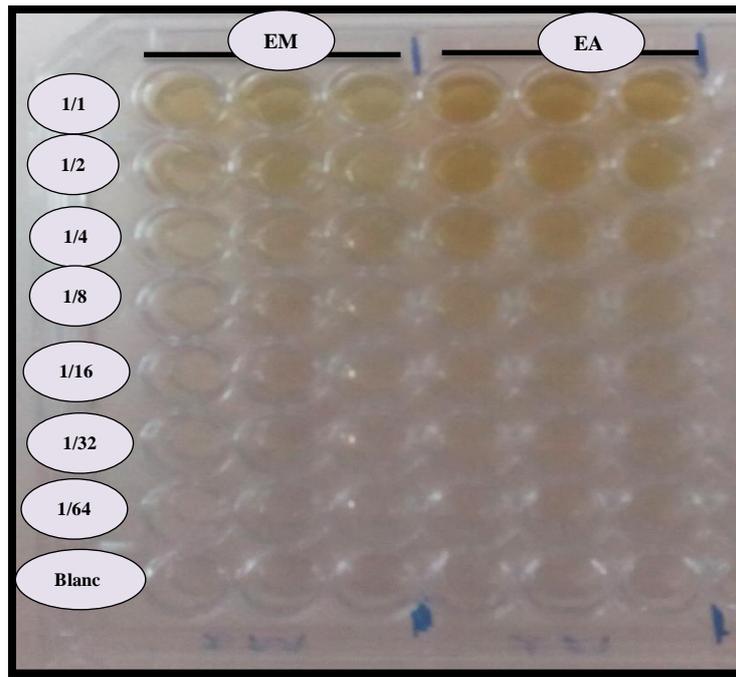


Figure 33 : Profil de la microplaque de l'activité silver nanoparticle.

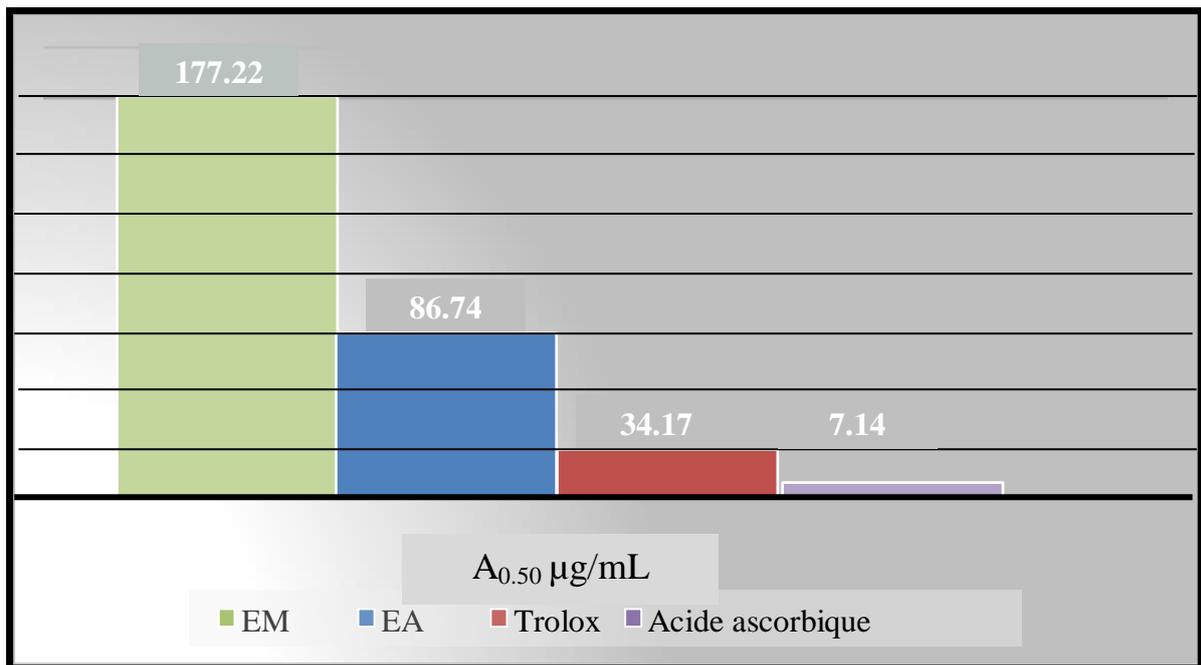


Figure 34 : Valeurs des $A_{0.50}$ du test Silver nanoparticle (SNP) assay.

Selon les valeurs obtenues d' $A_{0.50}$ (Tableau12 et Figure33, 34), nous constatons que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une bonne activité que l'extrait méthanolique avec des valeurs d' $A_{0.50}$ de l'ordre de $177,22 \pm 7,29 \mu\text{g/ml}$ et $86,74 \pm 0,87 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Résultats et discussion

Comparé à l'acide ascorbique ($7,14 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$) et le trolox ($34,17 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$), les deux extraits possèdent des activités relativement plus faibles que celles des standards. L'extrait méthanolique possède une activité 24 fois faible que l'acide ascorbique et 5 fois que le trolox en comparaison à celle de l'extrait d'acétate d'éthyle qui possède une activité 12 fois faible que l'acide ascorbique et 2 fois que le trolox.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'activité Silver nanoparticle (SNP) sur des extraits des feuilles du figuier, nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

Evaluation de l'activité enzymatique

I.9 Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase

La butyrylcholinestérase (BChE) et l'acétylcholinestérase (AChE) sont des enzymes biologiques importantes (Saeed A *et al.*, 2016). L'acétylcholine étant dégradée dans la fente synaptique principalement par l'acétylcholinestérase (Bordet R., 2007). La maladie neurodégénérative d'Alzheimer est causée par une diminution de l'activité cholinergique. L'une des approches pour la prise en charge de la maladie d'Alzheimer est la consommation de butryl-cholinestérase et d'acétyl cholinestérase (Saeed A *et al.*, 2016). Donc, l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase est parmi les voies permettant le développement de médicaments pour le traitement de certains troubles neurologiques, tels que la maladie d'Alzheimer (Andreia P. Oliveira *et al.*, 2009). Nous nous sommes intéressés au cours de notre étude à tester l'activité anti-Alzheimer en se basant sur le test d'inhibition de l'enzyme l'AChE. Les résultats de *Ficus carica L* des activités d'inhibition d'AChE sont présentés dans au **tableau13** et la **figure 35**.

Tableau14 : Valeurs d' IC_{50} du test de l'activité inhibitrice d'AChE des extraits et du standard.

Extraits/Standards	IC_{50} $\mu\text{g/ml}$
Extrait de méthanol (EM)	Négative
Extrait d'acétate (EA)	Négative
Galantamine	$6,27 \pm 1,15$

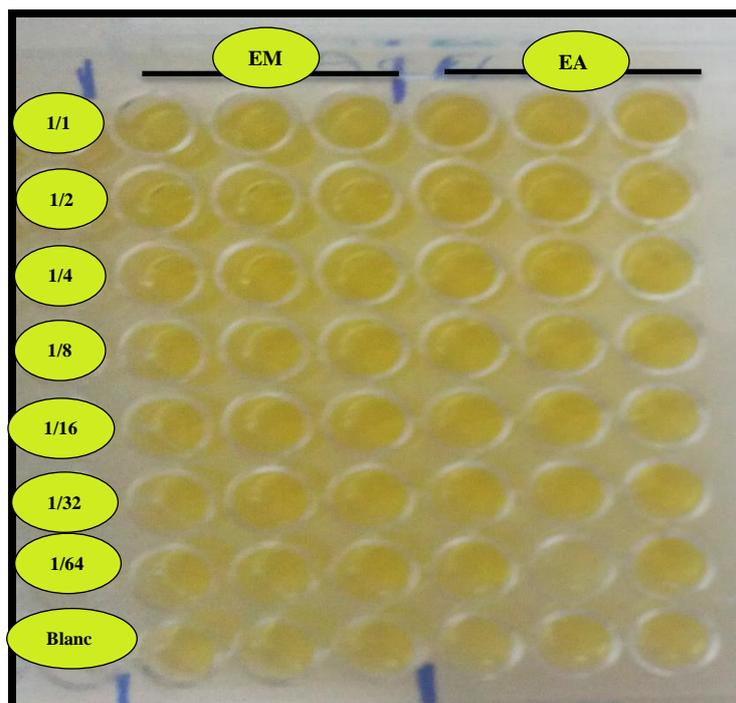


Figure 35 : Profil de la microplaque de l'activité inhibitrice d'AChE.

D'après les résultats présentés au **tableau 13** et la **figure 35**, on observe que les deux extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle n'ont aucune activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase, ces résultats sont similaires de ceux d'**Andreia P. Oliveira et al., (2009)** des feuilles étaient collectés dans la région de Mirandela (nord-est du Portugal). Cependant lors d'une étude réalisée par **Ergul M et al., (2019)** ; les auteurs ont montré la présence d'une activité inhibitrice avec un pourcentage d'inhibition d'une valeur de $53,33 \pm 3,21$ mg/ml.

Selon **Houghton et al., (2006)**, les composés phénoliques comme les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les furano et les isocoumarines ont la capacité d'inhiber cette enzyme. Bien que nos échantillons aient présenté des quantités élevées en flavonoïdes, mais ils n'ont eu aucun effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Alors qu'**Andreia P. Oliveira et al., 2009** ; ont montré que le manque d'inhibition de l'acétylcholinestérase pourrait être lié à la structure chimique des composés identifiés. De plus, les interactions entre les composés phénoliques et d'autres composés présents dans l'extrait testé peuvent entraîner une absence d'activité.

I.10 Activité inhibitrice de l'alpha-Amylase

Il est connu que l' α -amylase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des polysaccharides et des disaccharides aux monosaccharides. L'inhibition de cette enzyme

Résultats et discussion

entrave l'absorption rapide de la glycémie en retardant la digestion des glucides (**Ergul M et al., 2019**). Les résultats de *Ficus carica L* des activités d'inhibition d'alpha-Amylase sont présentés au **tableau14** et la **figure 36**.

Tableau 15 : Valeurs d'IC₅₀ de test inhibiteur de l'alpha-Amylase des extraits et du standard.

Extraits/ Standards	IC ₅₀ µg/ml
Extrait de méthanol (EM)	Negative
Extrait d'acétate (EA)	Negative
Acarbose	275,43±1,59

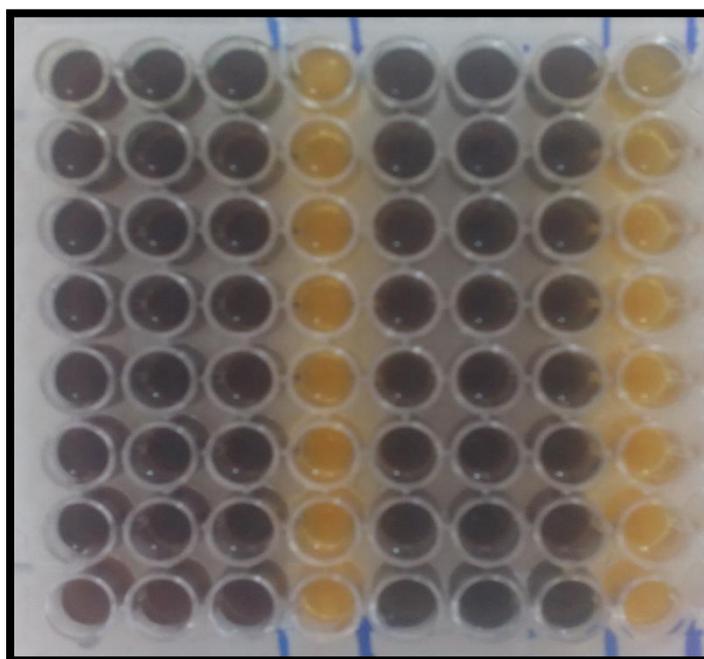


Figure 36 : Profil de la microplaque de l'activité inhibitrice l'alpha- Amylase.

D'après les résultats obtenus au **tableau 14** et la **figure 36** ; les valeurs d'IC₅₀ sont négatives pour les deux extraits méthanolique et d'acétate d'éthyle ce qui confirme que ces extraits ne possèdent aucune capacité d'inhibition de l'activité de l'alpha amylase.

Contrairement à nos résultats ; **Mopuri R et al., (2017)** ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ficus carica* a une légère activité inhibitrice contre l'alpha amylase avec une IC₅₀ égale à $2665,57 \pm 514,923$ µg /mL. De plus, la même étude a démontré que les extraits éthanolique et aqueux et d'hexane sont dotés également d'une légère activité

Résultats et discussion

inhibitrice contre l'alpha amylase avec une IC₅₀ de l'ordre de 550,963 ± 33,931 µg / mL, 687,496 ± 41,987 µg / mL et 11611,26 ± 318,9 µg / mL respectivement.

Aussi, les travaux menés par **Ergul M et al., (2019)** sur l'extrait méthanolique des feuilles de *ficus carica* ont présenté une considérable activité inhibitrice contre l'alpha amylase avec une IC₅₀ égale à 67,32±2,46 mg /ml. De même, **Ara I. et al., (2020)** ont prouvé que l'extrait méthanolique avait présenté une activité inhibitrice très puissante contre l'alpha amylase avec une IC₅₀ de l'ordre de 0,896 µg / ml.

Conclusion

Conclusion

Conclusion et perspectives

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Grace aux thérapeutiques qu'elles procurent, leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée.

Notre étude a pour objectif l'évaluation d'effet antioxydant, antidiabétique et anti Alzheimer de l'extrait méthanolique et d'acétate éthyle de la partie aérienne (feuilles) du *Ficus carica L* de la région de Bouzeguène – Tizi Ouzou.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux des extraits méthanolique et d'acétate éthyle (feuilles) *Ficus carica L* a été effectuée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une grande teneur en phénols totaux en comparaison à celle de l'extrait méthanolique et une richesse en flavonoïdes d'extrait méthanolique en comparaison à celle de l'extrait d'acétate d'éthyle.

Les résultats sur l'ensemble des tests biologiques « *in vitro* » d'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle montre que les extraits possèdent une activité antioxydante intéressante par leur richesse en flavonoïdes et en composés phénolique. Mais, ont montré que l'extrait méthanolique possède une bonne activité de capacité antiradicalaire (DPPH) et du radical galvinoxyle (GOR) en comparaison à l'extrait d'acétate d'éthyle. Par contre pour la méthode de CUPRAC, phenanthroline et Silver nanoparticle (SNP) assay l'étude a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle possède la plus grande activité antioxydante que l'extrait méthanolique.

Les différents tests enzymatiques réalisés dans notre étude ont prouvé que nos extraits ne possèdent aucun effet sur l'activité inhibitrice d'acétylcholinestérase et d'alpha amylase ce qui montre qu'ils ne peuvent avoir un effet sur la prévention de la maladie d'Alzheimer et le diabète.

Ce travail peut être considéré comme un point de départ ; en guise de perspectives, il serait intéressant de :

- Tester d'autres méthodes et solvants d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique de l'extrait.
- Réaliser une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs.

Conclusion

- Faire des études expérimentales « *in vivo* » sur des espèces animales.
- Etudier d'autres activités biologiques notamment l'activité anti-inflammatoire, anticancéreuse et l'activité antimicrobienne.

Références
bibliographiques



Ait Haddou L., Blenzar A., Messaoudi Z., Van Damme P., Zinedine F., Sakhaoui A. (2013).caractérisssation pomologique de 22cultivars locaux du figuier (*Ficus carica L*) au Maroc .european .Journal of scientific research : 112 (3) :416-4.

Ali-Rachedi F., Meraghni S., Touaibia N., et Mesbah S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémiquealgérienne.Scabiosa Atropurpureasub.MaritimaL Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. Vol 87, articles, 2018, p.13-21.

Amessis-Ouchemoukh N., Ouchemoukh S., Meziat N., Idiria Y., Dolores H.M., Stincod C. J., Rodríguez-Pulidod F.J., Herediad F., Madania K., José L.(2016).Bioactive metabolites involved in the antioxidant, anticancer andanticalpain activities of *Ficus carica L.*, *Cerantonia siliqua L* and *Quercusilex L* extracts ; Industrial Crops and Products 95: 6–17.

Andreia P.O., Patrícia V., José A., Pereira B.M., Silva F.T., Paula B.A. (2009). *Ficus carica L.*: Metabolic and biological screening. Food and Chemical Toxicology 47 (2009) : 2841–2846.

Angelo S. (2019). Polyphenols and Athletic Performance: A Review on Human Data
Polyphenols and Athletic Performance: A Review on Human Data.

Apak R., Guclu" K., Ozyurek M., et Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 7970–7981.

Ara I., Naqvi1 Syeda H., Ur Rehman N., Moiz Qureshi1 M. (2020). Comparative Antioxidative and Antidiabetic Activities of *Ficus Carica* Pulp, Peel and Leaf and their Correlation with Phytochemical Contents. Pharm Res,2020,4 (2):000197.

Arvanitia O. S., Samarasa Y., Gatidoub G., Thomaidisc N. S., Stasinakisb A. S. (2019). Review on fresh and dried figs: Chemical analysis and occurrence of phytochemical compounds, antioxidant capacity and health effects. Food Research International 119 (2019) : 244–267.

Atta E.M., Mohamed N.H., & Abdelgawad A.A. (2017). Antioxidants: an overview on the natural and synthetic types. *European Chemical Bulletin*, 6, 8: 365-375.



Baby J., Raj J. (2011). pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica Linn*- An overview. *International Journal of Pharmacy and Technology Research*. 3 (1): 08-12.

Bauwens P. (2008). Figues de tous pays. Edisud.

Beaudeau J. L., et Geneviève D. (2011). Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition Lavoisier Chantal Arpino, p 130, 131.

Belaïch R., et Boujraf S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des maladies Métaboliques*, 10(1) : 38-42.

Benachour S., Boughida R. (2017). effet préventif de pathologies hémolytiques liées au stress oxydatif des extraits de samares de *fraxinus angustifolia* .mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme master : Pharmacologie moléculaire .université A.Mira –Béjaia ,66 P.

Benaissa B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de doctorat de l'université de Toulouse. 197p.

Berger M.M. (2006). Manipulation nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 48-53.

Berker K.I., Güçlü K., Tor İ., et Apak R. (2007). Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72(3) : 1157-1165.

Bey M.B., Louaileche H., et Zemouri S. (2013). Optimization of Phenolic Compound Recovery and Antioxidant Activity of Light and Dark Dried Fig (*Ficus carica L.*) Varieties. *Food Sci. Biotechnol.* 22(6): 1613-1619 (2013).

Biljana K., et Djendji V. (2019). Flavonoids and Phenolic Acids as Potential Natural Antioxidants In Antioxidants. IntechOpen, Novi Sad.

Blanco G., et Blanco A. (2017). Medical biochemistry, defense mechanisms against reactive oxygen species. Academic Press.V 2012, 25 P.

Blois M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617(181):1119-1200.

Boly R., Lamkami T., Lompo M., Dubois J., Guissou I. (2016). DPPH Free Radical Scavenging Activity of Two Extracts from *Agelanthus dodoneifolius* (Loranthaceae) Leaves. International Journal of Toxicological and Pharmacological Research 2016; 8(1): 29-34.

Bonnefont-R. D., et Collin F. (2010). Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. Toxicology, 278: 55-67.

Bordet R. (2009). Le système cholinergique central : un acteur incontournable du traitement de la maladie d'Alzheimer. La Lettre du Pharmacologue - vol. 23 - n° 2 .

Bouakkaz S. (2013). Métabolites secondaires du figuier *Ficus Carica* L. Isolement structurale, dosage par HPLC couplée à la spectrométrie de masse et activités biologiques. Thèse de doctorat. Science chimique. Université 8 mai 1945 de Gelma, 132p.

Bougandoura N., et Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques n° 09/Juin 2013 : 14 à 19.

Boukhalfaa F., Kadria N., Franckb T., Mickaladb A., Serteynb D., et Madania K. (2019). Antioxidant capacity and anti-inflammatory 2 potential of two extracts of *Ficus carica* 3 leaves dried in the shade and in the oven. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism.

6

Çabuk H. (2017). Liquid chromatographic determination of synthetic antioxidant content of some vegetable oils produced in Turkey. GIDA/The Journal of FOOD, 42 (1): 37-42.

Chawla A., Kaur R., et Sharma A.K. (2012). *Ficus carica* Linn: A review on Its,pharmacognostic, phytochemical and pharmacological aspects. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research, 1 (4): 215-232.

Coliveira A. P., Silva L. R., Ferreres F., Pinho P. D.E., Valenta P. O., Branca M., Silva, José A., et Andrade P. B. (2010). Chemical Assessment and in Vitro Antioxidant Capacity of *Ficus carica Latex*. J. Agric. Food Chem. 58: 3393–3398.

Cory H., Passarelli S., Szeto J ., Tamez M., et Mattei J. (2018). The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. Frontiers in Nutrition vol 5 article 87.

Cuevas-Valenzuela J., Vergara-Salinas J.R., Pérez-Correa J.R. (2016). Advances in technologies for producing food-relevant polyphenols. CRC Press, Boca Raton, pp. 335.

Cutrim C. S., et Cortez M. A. (2018). A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products Vol 71 International Journal of Dairy Technology.



Déborah H., et Stéphanie O. (2008). Fraîche ou séchée, la figue est dévoilée. Haute école de santé Genève, Filière Nutrition et diététique. 1-3.

De la Rosa L.A., Moreno-Escamilla O.J., Rodrigo-García J., Alvarez-Parrilla E. (2019). Phenolic compounds in Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables, pp. 253-271.

Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefort-Rousselot D. (2007). Radicaux libres et stress oxydant. Aspect biologique et pathologie . Lavoiviser édition TEC &DOC édition médicales international paris, 335-376.

Diomande A., Yao K., Sylla Y., Tra Bi Fézan H., Bakayoko A., Kone Mamidou W. (2018). Pouvoir antioxydant et teneurs en composés phénoliques de deux espèces du genre *Albertisia*: *Albertisia cordifolia* (Mangenot & J. Miège) Forman et *Albertisia scandens* (Mangenot & J. Miège) Forman (Menispermaceae). European Scientific Journal October 2018 edition Vol.14, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.

Doukani K., tabak S. (2017). Profil phytochimique de quelques espèces de Citrus(C. aurantium, C. sinensis et C. limonum) ; Revue Écologie-Environnement ; 13 :1-4.

Duenas M., Perez-Alonso J.J. (2008). Santos-Buelga C. et Escribano-Bailon T. Anthocyanin composition in fig (*Ficus carica* L.). Journal of Food Composition and Analysis. 21:107-115.

Duong T.T.H., Chami B., McMahon A.C., Fong G.M., Dennis J.M., Freedman S.B., and Witting P.K. (2014). Pre-treatment with the synthetic antioxidant T-butyl bisphenol protects cerebral tissues from experimental ischemia reperfusion injury. Journal of neurochemistry, 130, 6: 733-747.

Durand D., Damon M and Gobert M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: Principes généraux. Cahiers de nutrition et de diététique, 48 : 218-224.

Du Toit R., Volsteedt Y., Apostolides Z. (2001). Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents Toxicology, 166: 63–69.

DSA. (2017). (Direction des Services Agricole). Béjaia.

Dsasi Dec. (2017) : direction des services agricole statistiques information depuis monographie décembre 2017.



El Bouzidi S. (2002). Le figuier : histoire, rituel et symbolisme en Afrique du Nord. Dialogues d'Histoire Ancienne. 28 (2) : 103-120.

Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., Featherston R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7:88–95.

Ergul M., Ergul 2 M., Eruygur N., Atas M., Ucar E. (2019). In Vitro Evaluation of the Chemical Composition and Various Biological Activities of *Ficus carica* Leaf Extracts. Turk J Pharm Sci 2019;16(4):401-9.

Evans J.R., and Lawrenson J.G. (2017). Antioxidant vitamin and mineral supplements for slowing the progression of age-related macular degeneration. Cochrane Database of Systematic Reviews, (7).

F

FAO. (2016). (Organisation des nations unis pour l'alimentation et l'Agriculture).

Favier A. (2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'act. chim, 2003: 108-115.

G

Ghazi F., Rahmat A., Zaitun Y., Ramli N. S., Buslima N. A. (2012). Determination of Total Polyphenols and Nutritional Composition of Two Different Types of Ficus carica Leaves Cultivated in Saudi Arabia. Pakistan Journal of Nutrition 11 (11): 1061-1065.

H

Haesslein D., Oreiller S. (2008). Fraîche ou séchée, la figue est dévoilée ! Heds (Haue école de santé) Genève, filière nutrition et diététique : 1-4.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C., et Chapelle J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège, 62: 628 – 638.

Halliwell B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutrition Reviews, 70, 5: 257-265.

Hamel T., sadou S., seridi R., boukhdir S., boulemtafes A. (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien) ; Ethnopharmacologia ; 59 : 75 -81.

Houghton P. J., Ren Y., Howes M. J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. Nat. Prod. Rep. 23, 181–199.

I

Ighodaro O.M., et Akinloye O.A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine, 54, 4: 287-293.

Ivanov I., Dencheva N., Petkova N., Denev P. (2015). Determination of total polyphenols and antioxidant activity of different extracts from *Ficus carica L* leaves. *Artte* Vol. 3, No. 1, 2015 ISSN: 1314-8788.



Jacob S. J. P., Prasad V. L. S., Sivasankar S., Muralidharan P. (2017). Biosynthesis of silver nanoparticles using dried fruit extract of *Ficus carica* - Screening for its anticancer activity and toxicity in animal models, *Food and Chemical Toxicology* (2017).

Jacquot J.P., Dietz K.J., Rouhier N., Meux E., Lallement P.A., Selles B., et Hecker A. (2013). Redox regulation in plants: glutathione and “redoxin” related families. In: *Oxidative stress and redox regulation*. Springer Science Business Media Dordrecht, pp; 213-291.

Jander E.A., Machado K.C. (2008). Evolutionary ecology of figs and their associates: Recent progress and outstanding puzzles. *Ann Rev. Evol. Syst*; 39:439-458.

Jeddi L. (2009). Valorisation des figes de Taounate, potentiel, Modes, et stratégies proposées. *Industries Agricoles et Alimentaires*, Direction provinciale d’agriculture de Taounate, Maroc, 4-29.



Kamiloglu E., et Capanoglu E. (2013). Polyphenol Content in Figs (*Ficus carica L.*): Effect of Sun-Drying. *International Journal of Food Properties*, 18:521–535, 2015.

Karagozeler A., Erdag C. S., Calmaz Emed Y. (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Arystoechas hastate*. *Food chemistry*, 111 : 400- 407.

Khantouche L., et Abderabba M. (2018). Dosage des poly phénols et étude de l’activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits des feuilles du *Globularia alypum L.* *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT):volume(2) : 2319-2399p.*

Kim Y., Jennifer B., Keogh et Clifton P.M. (2016). Polyphenols and Glycemic Control. *Nutrients* 2016, 8, 17.

Kislev G.M.E., Hartmann A., Bar-Y. O. (2006). Early domesticated fig in the Jordan Valley. Science. (312): 1372-1374.

Konyaltoğlu S., Sağlam H., et Kıvçak B. (2005). α -Tocopherol, Flavonoid, and Phenol Contents and Antioxidant Activity of *Ficus carica*. Leaves. ISSN: 1388-0209 (Print) 1744-5116 (Online) Journal homepage.

Kumar G. et Baojun X . (2017). A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans .Nutrients 2017, 9, 455.

Kurutas E.B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. Nutrition journal, 15, 1: 71.

L

Lahmadi A., Filali H., Samaki H., Zaid A., et Aboudkhil S. (2019). Phytochemical screening, antioxidant activity and inhibitory potential of *Ficus carica* and *Olea europaea* leave. Bioinformation 15(3): 226-232 (2019).

Lansky E., P., Paavilainen, H. M., Pawlus A. D., Newman R. A. (2008). *Ficus* spp. (fig): Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. J.Ethnopharmacol., 119 : 195–213.

Lee C.Y., Sharma A., Cheong J.E., and Nelson J.L. (2009). Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 19, 22: 6326-6330.

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

Lonn ME., Dennis J.M., Stocker R. (2012). Actions of „„antioxidants in the protection against atherosclerosis. Free Radical Biology and Medicine, 53; 863-884.

M

Mahmoudi S., Mustapha K., Abderahim B., Karima B., Imen B. (20115). Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian *Ficus carica* L. varieties. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicin.

Matés J. M., Perez-Gomez C., et Castro N. I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem, 32, 595 – 603.

Merhan O. (2017). The Biochemistry and Antioxidant Properties of Carotenoids. In Carotenoids. IntechOpen.

Michel A. (2002). La rousse agricole.

Migdal M., Serres M. (2011). espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. médecine/sciences, 27(4), 405–412.

Mopuri R., Ganjayi M., Meriga B., Koorbanally N., Shahidul I. (2017). The effects of Ficus carica on the activity of enzymes related to metabolic syndrome. Journal of food and drug analysis, 26, 201–210.

Müller L., Gnoyke S., Popken A. M. V., Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT - Food Science and Technology, 43: 992–999.

N

Nurul J., Dewi H., Sylviana R. H., Byan A. A., Rizka Y. R., et Wiwi W. (2017). Antioxidant activities of different solvent extracts of Piper retrofractum Vahl. using DPPH assay. AIP Conference Proceedings 1854, 020019 (2017).

O

Ouelbani R., Bensari S., Mouas T.N., Douadi K. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). Journal of Ethnopharmacology. 194; 196-218.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44 :307–315.

Özyürek. K. G., Tutem E., Kevser S. B., Erçağ E. S., Esin Ç., Baki S., Yıldız L., Karaman S., et Resat A. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. Anal. Methods, 2011(3) 2439.

Özyürek M., Güngör N., Baki S., Güçlü K., et Apak R. (2012). Development of Silver Nanoparticle-Based Method for the Antioxidant Capacity Measurement of Polyphenols, Analytical Chemistry.

P

Papa L., Manfredi G., Germain D. (2014). SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. Genes and Cancer, 5 (1-2); 15-21.

Patil V., Bhanghale S. C., et Patil V. R. (2010). Evaluation of anti-pyretique potential of Ficus carica leaves. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2 : 48-50.

Patil V. V., et Patil V. R. (2011). *Ficus carica Linn.* An Overview. Research Journal of Medicinal Plant. 5 (3) : 246-253.

Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. International Journal of Biomedical Medecine, 4 :89-96.

Pincemail J., Defraigne J.O. (2008). stress oxydant et antioxydant :Mythes et réalités .Rev Med Liège, 63,10-19.

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

R

Rahmani A. H., Aldebasi Y. H. (2017). *Ficus carica* and its constituent's role in management of diseases; Asian J Pharm Clin Res, 10(6): 49-53.

Ramgopal M., Muniswamy G., Balaji M., Neil A. K. M. D., ShahidulI (2018). The effects of Ficus carica on the activity of enzymes related to metabolic syndrome. Jornal of food and drug analysis 26(2018) :201-210.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice E. C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.

Resat A., Esra C., et Fereidoon S. (2017). Electron transfer-based antioxidant capacity assays and the cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay. Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

Romero A.C., Hernández E.G.O., Cerón T.F., et Chávez A.Á. (2013). The exogenous antioxidants. In *Oxidative stress and chronic degenerative diseases- A role for antioxidants.* IntechOpen, London.

Rong T. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2010(2) :1231-1246.



Saeed A., Bhatti F. R., Farhan H. K., Tehreem Y., Asadullah M., et Abida L. (2016). In vitro enzymatic investigation of *Ficus carica* (Fruit). *Pak. J. Pharm. Sci.* 2016 , 29:1541-1544.

Saeideh A. ,Abbas D., Moslem N. (2014). Evaluation of General Toxicity, Anti-Oxidant Activity and Effects of Ficus Carica Leaves Extract on Ischemia/Reperfusion Injuries in Isolated Heart of Rat. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2014, 4(Suppl 2): 577-582.

Sagar B., Kedare et R. P. Singh (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol* 48(4):412-422.

Shi H., Noguchi N., Niki E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymol* 2001, 335:157-66.

Shukranul M., Khairana H., et Ibrahim J. (2013). *Ficus carica* L. (Moraceae): Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2013. Article ID 974256, 8 pages.

Silva R.H., Abilio V.C., Takatsu A.L., Kameda S.R., Grassl C., Chehin A.B., Medrano W.A., Calzavara M.B., Registro S., Andersen M.L., Machado R.B., Carvalho R.C., Ribeiro A., Tufik S., Frussa-Filho R. (2004). Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice *Neuropharmacology*, 46: 895–903.

Sindhi V., Gupta V., Sharma K., Bhatnagar S., Kumari R., et Dhaka N. (2013). Potential applications of antioxidants—A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7, 9: 828-835.

Sowndhararajan K., Kang S. C. (2012).Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of *Bauhinia vahlii* Wight & Arn. *Saudi journal of biological sciences*(2013) 20 :319-325.

Starr F., Starr K., et Loope L. (2003). *Ficus carica* Edible fig Moraceae. United States Geological Survey--Biological Resources Division Haleakala Field Station: 1-6.

J

Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., et Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816–822.

J^o

Valko M., Rhodes C.J., Moncola J., Izakovic M., Mazura M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160: 1-40.

Vauzour D., Mateos R., Corona G., Oruna-Concha M., et Jeremy P. E. S. (2010). Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. *Nutrients* 2010 (2) : 1106-1131.

Vidaud J. (1997). Le figuier monographie de CTIFL (centre technique interprofessionnel des fruits et légumes). 267p.

Vilmorin J. (2003). Histoire d'arbre. Ed. Jean Paul Gisserot.74p.

X

Xu D.P., Li Y., Meng X., Zhou T., Zhou Y., Zheng J., Zhang, J.J., et Li H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1: 96.

Y

Yang X.W., Huang M. Z., Jin Y.S., Sun L. N., Song Y., Chen H. S. (2012). Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia* 83 (2012) 1169–1175.

Yoav S., Karin L.H., Marina K., Hagar S., Anna V., Michael D., et Joseph L. (2016). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review *Mol. Nutr. Food Res.* 2016 56:259-269.

Yu R., Mandlekar S., et Tony Kong A.N. (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Mol. Pharmacol.* 58: 431- 437.

Z

Zadernoski R., Naczek M., Nesterowicz J. (2005). Phenolic acid profiles in some small berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2118-2124.

Zaidi B. (2019). Utilisation de plusieurs méthodes colorimétriques in –vitro pour l'évaluation des activités biologiques de trois plantes médicinales. P 27.

Zeggwagh A., lahlou Y., bousliman Y. (2013). Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytotherapie utilisee par un herboriste à Fes, Maroc ; *Pan Afr Med Journal* ; 14 :125.1746.

Zengin G., Cengiz S., Abdurrahman A., Ramazan C., Olcay C. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products* 53 :244–251.

Site web consulté :

Systèmes Antioxydants d'Enzymes. [Consulté le 14 /03/2020]. Disponible à partir de : [http://www.news-medical.net/health/Antioxidant-EnzymeSystems\(French\).aspxconsulté](http://www.news-medical.net/health/Antioxidant-EnzymeSystems(French).aspxconsulté).

Résumé

Le figuier (*Ficus carica L*) est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen. Notre présente recherche a pour objectif l'évaluation « *in vitro* » de l'activité antioxydante et enzymatique de l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle de la partie aérienne (Feuilles) du *Ficus carica L* de la famille des Moraceae cultivés à la région de Tizi Ouzou.

Le dosage a montré que les extraits sont riches en flavonoïdes totaux avec une teneur de $195,4167 \pm 5,89 \mu\text{g QE/mg}$ pour l'extrait d'acétate d'éthyle et $140,90 \pm 6,33 \mu\text{g QE/mg}$ pour l'extrait méthanolique, et la quantité des polyphénols totaux est estimée à $46,15 \pm 1,67 \mu\text{g GAE/mg}$ pour l'extrait d'acétate d'éthyle et $31,45 \pm 3,97 \mu\text{g GAE/mg}$ pour l'extrait méthanolique.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est déterminée par sept méthodes. Les tests réalisés donnent des résultats intéressants et différentes pour les deux solvants : CUPRAC, phenanthroline et silver nanoparticle (SNP) assay ont montré une activité importante pour l'extrait d'acétate d'éthyle avec des valeurs : $A_{0,50} = 63,88 \pm 0,88 \mu\text{g/mL}$, $IC_{50} = 51,24 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$ et $86,74 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ respectivement. La capacité antiradicalaire (DPPH) et le radical galvinoxyle (GOR) ont prouvé que l'extrait méthanolique possède un pouvoir antioxydant élevé avec des valeurs de $235,45 \pm 3,66 \mu\text{g/mL}$ et $80,40 \pm 1,33 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

La présente étude a montré que les deux extraits présentent un effet similaire pour l'effet scavenger à l'ABTS avec des IC_{50} très proches ($IC_{50} = 79,64 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique et $83,04 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait d'acétate d'éthyle). Aussi les deux extraits ont donné une activité faible pour le pouvoir réducteur et des résultats négatifs pour l'activité d'inhibition d'acétylcholinestérase et d'alpha amylase.

En conclusion, notre étude confirme que les feuilles du figuier sont une bonne source de phénols et surtout les flavonoïdes qui possèdent une puissante activité antioxydante mais aucun effet sur la prévention contre l'apparition du diabète et la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : *Ficus carica L*, activité antioxydante, flavonoïdes, activité biologique, ABTS.

Abstract

The fig tree (*Ficus carica L*) is a widespread species in the Mediterranean basin. The purpose of our present research is the evaluation «*in vitro*» of antioxidant and enzymatic activity of the methanolic extract and ethyl acetate of the aerial part (leaves) of *Ficus carica L* from the family Moraceae in the region of Tizi Ouzou.

The highest contents of total polyphenols and flavonoids were found in the ethyl acetate extract than the methanolic extract. The dosage showed that the extracts are rich in total flavonoids with a content of $195.4167 \pm 5.89 \mu\text{g QE} / \text{mg}$ of EA and $140.90 \pm 6.33 \mu\text{g QE} / \text{mg}$ of ME, while the amount of polyphenols total is estimated at $46.15 \pm 1.67 \mu\text{g GAE} / \text{mg}$ EA and $31.45 \pm 3.97 \mu\text{g GAE} / \text{mg}$ ME.

The evaluation of the antioxidant activity of the extracts is determined by seven methods. The tests carried out give interesting and different results for the two solvents: CUPRAC, phenanthroline and silver nanoparticle (SNP) assay have shown significant activity for ethyl acetate extract with values: $A_{0,50}=63,88 \pm 0,88 \mu\text{g/mL}$, $IC_{50}=51,24 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$ et $86,74 \pm 0,87 \mu\text{g/ml}$ respectively. The anti-free radical capacity (DPPH) and the galvinoxyl radical (GOR) have shown that the methanolic extract has a high antioxidant power with values of $235.45 \pm 3.66 \mu\text{g} / \text{mL}$ and $80.40 \pm 1.33 \mu\text{g} / \text{ml}$ respectively.

The present study showed that the two extracts exhibit a similar effect for the scavenger effect to ABTS with very similar IC_{50} ($IC_{50} = 79.64 \mu\text{g} / \text{ml}$ for the methanolic extract and $83.04 \mu\text{g} / \text{ml}$ for the ethyl acetate extract). Also, both extracts gave low activity for reducing potency and negative results for acetylcholinesterase and alpha amylase inhibitory activity.

In conclusion, our study confirms that fig leaves are a good source of phenols and especially flavonoids which have a powerful antioxidant activity but no effect on prevention against the onset of diabetes and Alzheimer's disease.

Key words: *Ficus carica L*, antioxidant activity, flavonoids, biological activity, ABTS.

الملخص

تعتبر شجرة التين (*Ficus carica L*) من الأنواع المنتشرة في بحر الأبيض المتوسط.

الغرض من بحثنا الحالي هو التقييم في المختبر لمضادات الأكسدة و الانزيمات لمستخلص الميثانولي واسيتات الايثيل للجزء الجوي (الأوراق) من *Ficus carica L* من عائلة Moraceae في منطقة تيزي وزو.

تم العثور على اعلى مستويات من مجموع البوليفينول والفلافونويد في مستخلص اسيتات الايثيل مقارنة بمستخلص الميثانولي. اظهر الفحص ان المستخلصات غنية بمجموع مركبات الفلافونويد بمحتوى 5.89 ± 195.4167 ميكروغرام / QE ملغ من مستخلص اسيتات الايثيل و 6.33 ± 140.90 ميكروغرام / QE ملغ من مستخلص الميثانول في حين تقدر كمية البوليفينول ب 1.67 ± 46.15 ميكروغرام / GAE ملغ من مستخلص اسيتات الايثيل و 3.97 ± 31.45 ميكروغرام / GAE ملغ من مستخلص الميثانول.

يتم تحديد تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المستخلصات بسبع طرق. أعطت الاختبارات التي تم اجراؤها نتائج مثيرة للاهتمام ومختلفة للمذيبين: أظهرت اختبار CUPRAC والفينانثرولين وجسيمات الفضة النانوية (SNP) نشاطا كبيرا لمستخلص اسيتات الايثيل بقيم: 0.88 ± 63.88 ميكروغرام / مل، 0.84 ± 51.24 ميكروغرام / مل و 0.87 ± 86.74 ميكروغرام مل على التوالي. أظهرت السعة المضادة للجذور الحرة (DPPH) وجذر الجالفيينوكسيل (GOR) أن المستخلص الميثانولي له قوة عالية من مضادات الأكسدة بقيم 3.66 ± 235.45 ميكروغرام / مل و 1.33 ± 80.40 ميكروغرام / مل على التوالي.

أظهرت الدراسة الحالية أن المستخلصين يظهران تأثيرًا مشابهًا لتأثير الكاسح لـ ABTS مع IC_{50} متشابهة جدًا (79.64 ميكروغرام / مل للمستخلص الميثانولي و 83.04 ميكروغرام / مل للمستخلص أسيتات الإيثيل). كما أعطى كلا المستخلصين فعالية منخفضة لتقليل الفاعلية والنتائج السلبية للنشاط المثبط لأسيتيل كولينستريز وألفا أميليز.

في الختام، تؤكد دراستنا أن أوراق التين مصدر جيد للفينولات وخاصة مركبات الفلافونويد التي لها نشاط قوي مضاد للأكسدة ولكن ليس لها تأثير على الوقاية من ظهور مرض السكري ومرض الزهايمر.

الكلمات المفتاحية:

Ficus carica L، النشاط المضاد للأكسدة ، الفلافونويد ، النشاط البيولوجي. ABTS.

Présenté par

Date de soutenance : 03/09/2020

Abdenmour Fatima et Benelmadjat Imen

Année universitaire : 2019/2020

Evaluation de l'activité antioxydante et enzymatique des feuilles du Figueier

Ficus carica L

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

Le figuier (*Ficus carica L*) est une espèce très répandue dans le bassin méditerranéen. Notre présente recherche a pour objectif l'évaluation « in vitro » de l'activité antioxydante et enzymatique de l'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle de la partie aérienne (Feuilles) du *Ficus carica L* de la famille des Moraceae cultivés à la région de Tizi Ouzou.

Le dosage a montré que les extraits sont riches en flavonoïdes totaux avec une teneur de $195,4167 \pm 5,89 \mu\text{g QE/mg}$ pour l'extrait d'acétate d'éthyle et $140,90 \pm 6,33 \mu\text{g QE/mg}$ pour l'extrait méthanolique, et la quantité des polyphénols totaux est estimée à $46,15 \pm 1,67 \mu\text{g GAE/mg}$ pour l'extrait d'acétate d'éthyle et $31,45 \pm 3,97 \mu\text{g GAE/mg}$ pour l'extrait méthanolique.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est déterminée par sept méthodes. Les tests réalisés donnent des résultats intéressants et différentes pour les deux solvants : CUPRAC, phenanthroline et silver nanoparticle (SNP) assay ont montré une activité importante pour l'extrait d'acétate d'éthyle avec des valeurs : $A_{0,50} = 63,88 \pm 0,88 \mu\text{g/mL}$, $IC_{50} = 51,24 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$ et $86,74 \pm 0,87 \mu\text{g/mL}$ respectivement. La capacité antiradicalaire (DPPH) et le radical galvinoxyle (GOR) ont prouvé que l'extrait méthanolique possède un pouvoir antioxydant élevé avec des valeurs de $235,45 \pm 3,66 \mu\text{g/mL}$ et $80,40 \pm 1,33 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

La présente étude a montré que les deux extraits présentent un effet similaire pour l'effet scavenger à l'ABTS avec des IC_{50} très proches ($IC_{50} = 79,64 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique et $83,04 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait d'acétate d'éthyle). Aussi les deux extraits ont donné une activité faible pour le pouvoir réducteur et des résultats négatifs pour l'activité d'inhibition d'acétylcholinestérase et d'alpha amylase.

En conclusion, notre étude confirme que les feuilles du figuier sont une bonne source de phénols et surtout les flavonoïdes qui possèdent une puissante activité antioxydante mais aucun effet sur la prévention contre l'apparition du diabète et la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : *Ficus carica L*, activité antioxydante, flavonoïdes, activité biologique, ABTS.

Laboratoire de recherche : laboratoire de biochimie au sein du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) – Constantine. Laboratoire de biochimie RDC.

Jury d'évaluation :

Président du jury : M me Medoukali I. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Rapporteur : M me Moussaoui S. Maitre de conférences « b » - UFM constantine 1.

Examineur : M me Guendouze A. Maitre Assistante « b » - UFM constantine 1.