

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de : Biochimie et Biologie
cellulaire et Moléculaire

قسم البيوكيمياء و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Activité antioxydante et anti-inflammatoire et toxicité et
cytotoxicité d'une espèce du genre *Asphodelus***

Présenté par :

HAMMADI Nassim

Le 23/06/2022

DJEBAILI Abderrahmane

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).

Examineur 1 : Mr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).

Examineur 2 : Mr BENSOUICI Chawki (MRA- CRBT Constantine).

**Année universitaire
2021 - 2022**

REMERCIEMENT

Tout d'abord, et avant toute chose et tout mot, nous remercions Dieu, le Très-Haut, le tout Puissant, l'Omniscient pour nous avoir donné la force et la patience pour faire ce travail qui traduit toute les cinq ans dans l'université.

Nous remercions notre directeur et notre encadrant monsieur **KITOUNI Rachid** maitre de conférence classe B dans UFMC pour avoir encadré ce travail avec toute sincérité et professionnalisme et pour sa disponibilité, ses conseils, ses efforts et avant tout sa gentillesse.

Nous voulons remercier monsieur **BENSOUICI Chawki** (MRA- CRBT Constantine) et monsieur **BOUANIMBA Nour** (MCA- UFM Constantine) de nous avoir fait honneur de jury et évalués ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi à monsieur **BENSOUICI Chawki** chef de laboratoire de la biochimie au centre de recherche en biotechnologie CRBt pour nous accepter dans son laboratoire et nous diriger durant la période de notre pratique. Merci également à **HAMDI Mehdi** et **Amina** et toute l'équipe de recherche du laboratoire de biochimie au CRBt.

Merci à monsieur **KABOUCHE Kamel** qui confirme l'identification taxonomique du notre matériel végétal et au magasinier **Ibrahim El Khalil**.

Le remerciement est destiné aussi à madame **KABOUCHE Zahia** directrice de laboratoire d'obtention de substances thérapeutiques pour l'ouvert de son laboratoire réalisé le travail.

Un grand merci à monsieur **BOULDJADJ Redouane** MAA- UFM Constantine pour nous a donné du son temps et nous a aidé de réalisé les activités anti-inflamatoires dans son établissement à l'aide de monsieur **BAHRI Laid** responsable de l'animalerie de l'UMFC.

Et finalement un grand merci à nos collègues de stage pratique **Wail, Achraf, Nassim, Walid, Ferial, Sofia, Hesna, Nada, Hadjer, Madjeda** qui nous a aidé à réaliser ce travail.

DÉDICACE

Je dédie cet humble travail à mes prunelles des yeux *mes chers parents*

Qui m'ont donné toutes les avenues pour mon succès

A mes sœurs *Zineb* et *Rokia* qui m'ont apporté le soutien moral quand je

me sens stressé, merci d'être chez moi quand j'ai besoin de vous et une

grande dédicace à mon petit frère *Abdallah* que Dieu le bénisse et le

garde

A mes amis *Yahia, Younes, Haytem, L'JOE, Loulou, Aymen*

A mes chères grandes mères, mes cousins et toute ma famille *DJEBAILI*

A tous mes collègues d'étude surtout mes amis *Akram, Mohamed, Wail,*

Achraf, Nassim, Alaa, Aymen, Mouatasseem, Khirou, Ncombo...etc.

A mon encadrant et mon directeur de recherche *Mr KITOUNI Rachid*

Je dédie surtout à tous les gens qu'étaient avec nous et maintenant ils sont

partis

Merci d'être derrière moi

DJEBAILI Abderrahmane

DÉDICACE

Je dédie mon travail à *mes parents* qui sont toujours à mes côtés, mes frères *Nadhir* et *Sanad* et sœur *Nibras* mes sources de joie

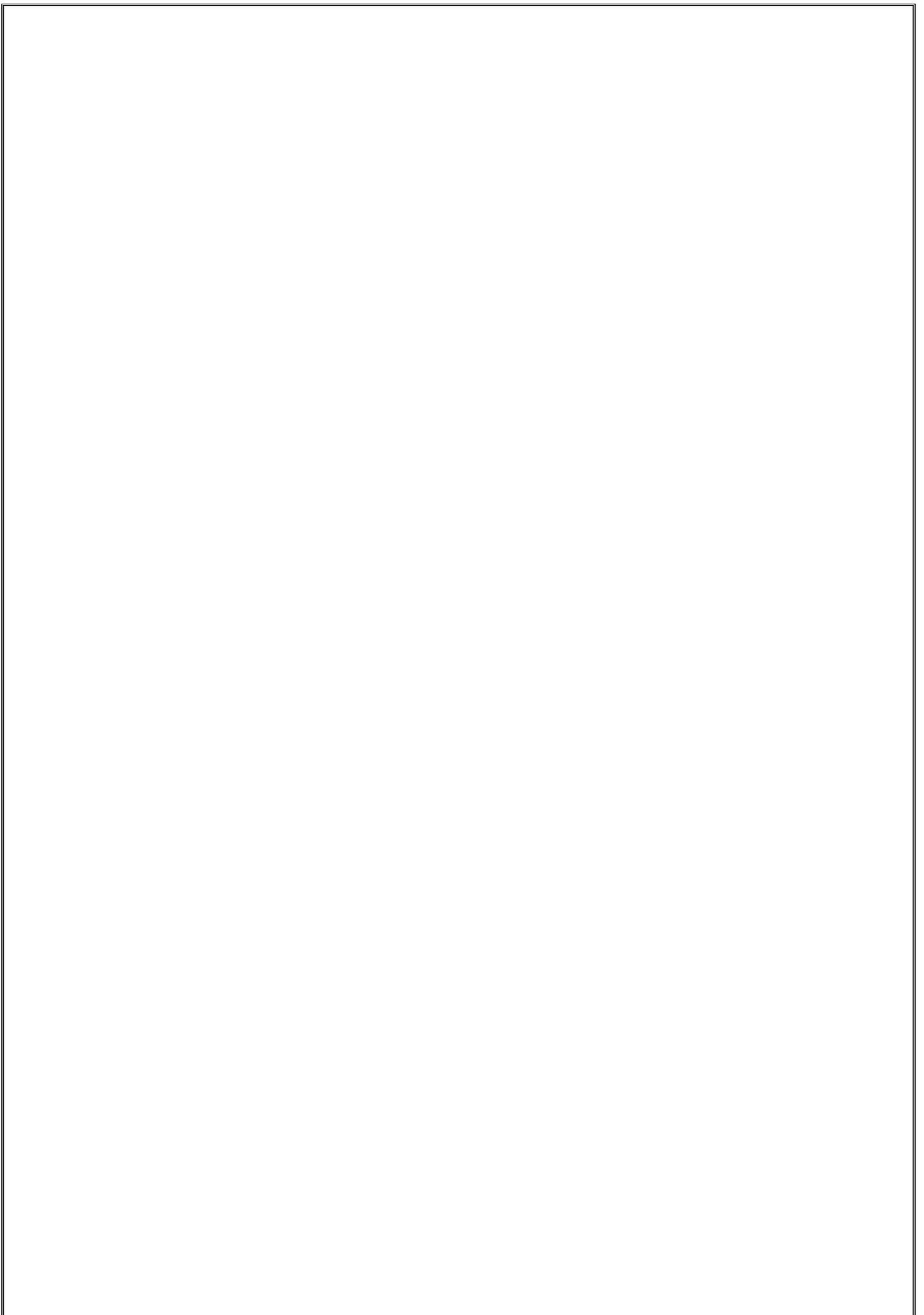
Je remercie *Dr. Kitouni Rachid*, mon directeur de recherche pour l'accompagnement, la disponibilité et les conseils

À mes chers amis qu'on a étudiés ensemble et ceux que j'ai rencontré Sétif, Constantine, Mila, Skikda et Batna

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible

Merci d'être toujours là pour moi

HAMMADI Nassim



Liste des tableaux

Tableau 1 : principaux espèces réactives à l'oxygène.	4
Tableau 2 : les antioxydants synthétisés les plus importants et ses applications[26].	14
Tableau 3 : tableau montre des noms, synonymes et appellations de quelques espèces et sous espèces et variétés [76], [77], [78]......	17
Tableau 4 : Description botanique du genre <i>Asphodelus</i> [78]......	19
Tableau 5 : Utilisation traditionnelle de différentes parties de l' <i>asphodelus</i> <i>microcarpus</i> dans la médecine populaire méditerranéenne[87].	25
Tableau 6 : Les propriétés et les utilisations traditionnelles de quelques espèces de genre <i>asphodelus</i>	26
Tableau 7 : les différents composés identifiés dans quelques espèces de genre <i>asphodelus</i> [76]......	30
Tableau 8 : les réactifs utilisés les différentes activités biologiques.....	39
Tableau 9 : les différentes concentrations des dilutions des extraits par rapport à la concentration initiale.....	44
Tableau 10 : inhibition de DPPH par les extraits de l' <i>asphodelus</i>	65
Tableau 11 : inhibition de l'ABTS• ⁺ par les extraits de l' <i>asphodelus</i>	67
Tableau 12 : les absorbance du pouvoir réducteur par les extraits de l' <i>asphodelus</i> . 69	
Tableau 13 : les absorbances du Fe ²⁺ -Phenanthroline par les extraits de l' <i>asphodelus</i>	71
Tableau 14 : les absorbances du test SNP par les extraits de l' <i>asphodelus</i>	73
Tableau 15 : inhibition de Butyrylcholinestérase par les extraits de l' <i>asphodelus</i>	77
Tableau 16 : pourcentage de mortalité des larves <i>Tenebrio Molitor</i> après l'injection des extraits de l' <i>asphodelus</i>	80
Tableau 17 : pourcentage de mortalité des larves <i>Artemia Salina</i> après l'ajout des extraits de l' <i>asphodelus</i>	84

Liste des figures

Figure 1 : Schéma montre les réactions conduisant à la formation de ERO [24].....	6
Figure 2 : Schéma montre les cibles des radicaux libres [25],[26],[27],[28],[29],[30].	7
Figure 3 : Schéma de la formule cyclique de l'acide urique et l'urate	9
Figure 4 : Schéma de la formule de glutathion	9
Figure 5 : Schéma de la formule de l'acide ascorbique	10
Figure 6 : Schéma de la formule de la vitamine E	10
Figure 7 : Schéma de la formule de β -Carotène et Xanthophylle	11
Figure 8 : Mécanismes d'action antioxydante des composés phénoliques [51].....	12
Figure 9 : Schéma des molécules intervenant dans les protections cellulaires (adapté de LJ Machlin et al, 1987).	13
Figure 10 : les différentes classes des antioxydants [52],[53],[54]	13
Figure 11 : images de l'espèce <i>Asphodelus acaulis</i> [79].	20
Figure 12 : images de l'espèce <i>Asphodelus cerasiferus</i> [80].....	21
Figure 13 : images de l'espèce <i>Asphodelus microcarpus</i> [79].....	21
Figure 14 : images de l'espèce <i>Asphodelus refractus</i> [79].....	22
Figure 15 : images de l'espèce <i>Asphodelus fistulosus</i> [81].....	23
Figure 16 : images de l'espèce <i>Asphodelus tenuifolius</i> [82].	24
Figure 17 : Opérations d'extractions d' <i>asphodelus</i>	43
Figure 18 : Réduction de DPPH par un antioxydant [166].	46
Figure 19 : Formation et piégeage du radical ABTS \bullet + par un antioxydant [171].	48
Figure 20 : Mécanisme réactionnel du test FRAP [171].....	50
Figure 21 : Formation du complexe Fe+2-phenanthroline [177].	52
Figure 22 : réaction de snp avec trisodium de citrate.	54
Figure 23 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman [188].....	56
Figure 24 : image montre les différentes étapes de cycle de développement de vers de farine <i>Tenebrio Molitor</i> [197].....	59
Figure 25 : cycle de vie d' <i>artemia salina</i> mâle et femelle [203].....	61
Figure 26 : histogrammes montre les valeurs de l'IC50 de test DPPH.	66
Figure 27 : résultats du test DPPH sur microplaques.	66
Figure 28 : histogrammes montre les valeurs de l'IC50 de test ABTS.....	68
Figure 29 : résultats du test ABTS sur microplaques.....	68

Figure 30 : histogrammes montre les valeurs de l'IC ₅₀ de test FRAP.....	70
Figure 31 : résultats du test ABTS sur microplaques.....	70
Figure 32 : histogrammes montre les valeurs des absorbances de test Phenanthroline.....	72
Figure 33 : résultats du test Phenanthroline sur microplaques.....	72
Figure 34 : histogrammes montre les valeurs des absorbances de test Phenanthroline.....	74
Figure 35 : résultats du test SNP sur microplaques.....	74
Figure 36 : observation à l' œil nue et sous UV de la plaque CCM de bioautographie.	76
Figure 37 : histogrammes montre les valeurs des IC ₅₀ de test butyrylcholinestérase.	78
Figure 38 : résultats du test butyrylcholinestérase sur microplaques.....	78
Figure 39 : résultats de larves injectées par différents extraits de l'asphodelus.	81
Figure 40 : résultats de larves injectées par différents extraits de l'asphodelus.	82
Figure 41 : résultats de larves injectées par les témoins standards méthanol et acide ascorbique.....	82
Figure 42 : histogrammes montre les pourcentages de mortalités, survivants et développements des extraits et standards de test de toxicité sur les vers de farine.....	82
Figure 43 : histogrammes montre les pourcentages de mortalités des extraits et standards de test de cytotoxicité sur les <i>Artemia Salina</i>	85
Figure 44 : histogramme montre les pourcentages d'hémolyse en fonction de la concentration.....	86
Figure 45 : histogramme montre les pourcentages de protection des hématies vis-à- u stress osmotique et thermique en fonction des concentrations.....	87

Liste des abréviations

-A-

ABTS	Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ACG	Acide chlorogénique
ADN	Acide Désoxyribonucléique
APG IV	Angiosperme Phylogénie Groupe IV
A_{0,5}	Absorbance de concentration 0.5M

-B-

BChE	Butyrylcholinesterase
BCi	S-Butyrylthiocholine iodide
BHA	Hydroxyanisole butylé
BHT	Hydroxytoluène butylé
BP	Bichromate de potassium
n-BuOH	n-butanol

-C-

CCM	Chromatographie sur couche mince
CI₅₀	La concentration inhibitrice 50 %
CHCl₃	Le chloroforme

-D-

DPPH	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
DTNB	5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic)

-E-

EOA	Espèces Oxygénées Activées
ERO	espèces réactives de l'oxygène

EXT D Extrait acétate d'éthyle

EXT E Extrait n-butanolique

EXT F Extrait de bulbes

EtOAc Acétate d'éthyle

-F-

FRAP Pouvoir antioxydant réducteur d'ions ferriques

-H-

H₂O₂ Peroxyde d'hydrogène

-M-

MeOH Méthanol

-N-

NA No activity (pas d'activite)

NDCA Nod dihydroguaiaretic acide

Nm Unité de mesure de longueur d'onde 'nanomètre'

NO• Monoxyde d'azote

-O-

O₂•⁻ Radical superoxyde

O₂ Dioxygène

¹O₂ Oxygène singulet Oxygène

OG Octyl gallate

OH• Radical hydroxyle

ONOO⁻ Peroxynitrite

-P-

PG Propyl gallate

-R-

RO• Radical alcoxyle

ROO• Radical peroxy

-S-

SNP Silver nanoparticles (Ag-NPs)

Solution G Acide ascorbique

Solution H Méthanol

Sat Saturé

-T-

TBHQ Tert-Butylhydroquinone

TCA Acide trichloracétique

TRIS Base $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$

Trolox L'acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

-U-

UV Ultra-violet

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des figures

Table des matières

Introduction..... 1

CHAPITRE 01 : Etude bibliographique

1. Stress oxydatif, radicaux libres et antioxydants	3
1.1 Stress oxydatif	3
1.1.1 Définition.....	3
1.1.2 Origine	3
1.2 Radicaux libres	3
1.2.1 Principales espèces réactives à l'oxygène(ERO)	4
1.3 Antioxydants	7
1.3.1 Introduction.....	7
1.3.2 Définition.....	7
1.3.3 Types des antioxydants	8
I Antioxydants naturels	8
a Endogènes.....	8
❖ Enzymatiques	8
1) Superoxyde dismutase.....	8
2) Catalase.....	8
3) Glutathion peroxydase (GPx).....	8
❖ Non-Enzymatiques	9
1) Acide urique	9
2) Le glutathion	9
b Exogène.....	10
❖ La vitamine C (acide ascorbique)	10
❖ Vitamine E (les tocophérols).....	10

❖ Caroténoïdes	11
❖ Zinc.....	11
❖ Les composés phénoliques (Ph)	11
II Antioxydants synthétiques	13
1.4 Stress oxydatif et vieillissement	14
1.4.1 Vieillessement.....	14
1.4.2 Le fer et vieillissement	15
2. Présentation botanique de la plante	16
2.1 Présentation de l'Asphodelus	16
2.2 Classification botanique du genre Asphodelus	18
2.3 Description de la plante	19
2.3.1 Description du genre Asphodelus	19
2.3.2 Description de quelques espèces du genre asphodelus.....	20
I Asphodelus acaulis Desf	20
II Asphodelus cerasiferus J.Gay	20
III Asphodelus microcarpus Salzm et Viv.....	21
IV Asphodelus refractus Boiss	21
V Asphodelus fistulosus Linnaeus.....	22
VI Asphodelus tenuifolius Cavanilles	23
3. Les propriétés thérapeutique de la plante	24
3.1 La famille Asphodelaceae	24
3.2 Le genre Asphodelus	24
4. La contenance chimique de la plante	29
5. Les études antérieurs sur la plante	37
5.1 Études d'activités antioxydantes	37
5.2 Activités antifongiques	38
5.3 Activités Anti-inflammatoires	38
5.4 Cytotoxicité	38

CHAPITRE 02 : Matériels et méthodes

1. Matériels	39
1.1 Matériels végétales.....	39
1.2 Matériels animales.....	39
1.3 Les réactifs.....	39
1.4 Appareils.....	40
2. Méthodes	41
2.1 Préparation des extraits.....	41
2.1.1 Préparation de la plante.....	41
2.1.2 Extraction.....	41
I Extraction solide-liquide (macération).....	41
II Extraction liquide-liquide.....	41
2.2 Les activités biologiques.....	44
2.2.1 Préparation des échantillons.....	44
On prépare les échantillons des différentes extraits (Acétate d'éthyle, n butanolique, bulbe) à différentes concentration, on a commencé avec la peser dans une balance analytique.....	44
2.2.2 Les activités antioxydantes.....	45
I L'activité de piégeage de radical libre DPPH.....	45
a Principe.....	45
b Protocole.....	46
II Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	47
a Principe.....	47
b Protocole.....	48
III Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP).....	49
a Principe.....	49
b Protocole.....	50
IV Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline	51

a	Principe	51
b	Protocole	52
V	Activité de SNP (Silver nanoparticles assay)	53
a	Principe	53
b	Protocole	53
VI	Activité antioxydante par la bioautographie	54
a	Principe	54
b	Protocole	55
2.2.3	Les activités enzymatiques	55
I	Activité anticholinestérase	55
a	Inhibition de la butyrylcholinestérase	56
❖	Principe.....	56
❖	Protocole	56
2.2.4	Les tests de toxicité et cytotoxicité.....	58
I	Test de toxicité sur les vers de farine Tenebrio Molitor.....	58
a	Principe	58
b	Protocole	59
II	Test de cytotoxicité sur les larves de crevette Artemia Salina	59
a	Principe	59
b	Protocole	60
2.2.5	Les activités anti-inflammatoires in vitro	61
I	La méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique)	
.....	61
a	Préparation de la suspension des globules rouges.....	61
b	Test de l'innocuité des extraits vis-à-vis des globules rouges	
62_Toc105705882		
❖	Protocole	62
c	La méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges :...	63
❖	Protocole	63
2.2.6	Analyses statistiques	64

CHAPITRE 03 : Résultats et discussions

1.	Les résultats et discussions des activités biologiques	65
1.1	Les activités antioxydantes	65

1.1.1	L'activité de piégeage de radical libre DPPH.....	65
1.1.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS• ⁺	67
1.1.3	Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)	69
1.1.4	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phenanthroline	71
1.1.5	Activité de SNP (Silver nanoparticles assay)	73
1.1.6	Activité antioxydante par la bioautographie	76
1.2	Les activités enzymatiques	77
1.2.1	L'activité anticholinestérase	77
1.3	Les tests de toxicité et cytotoxicité	79
1.3.1	Test de toxicité sur les vers de farine Tenebrio Molitor.....	79
1.3.2	Test de cytotoxicité sur les larves artemia salina.....	83
1.4	Les activités anti-inflammatoires in vitro	86
1.4.1	Test d'innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire.....	86
1.4.2	Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique :	87
	Conclusion	89

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes médicinales représentent une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations. Les produits naturels continuent d'être une source d'innovation dans la découverte de médicaments, l'utilité de ces produits naturels est de fournir une source originale de nouvelles structures visant à la découverte de médicaments, pas nécessairement comme entité médicamenteuse finale, mais comme sources de molécules nouvelles et particulières à utiliser pour des médicaments semi-synthétiques ou des modèles pour des médicaments totalement synthétiques [1].

Il est intéressant de noter que sur les 877 substances organiques introduits dans le monde comme médicaments entre 1981 et 2002, 61 % étaient des produits naturels, des dérivés ou des imitations de produits naturels [2], récemment, l'attention est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peut être utilisé pour prévenir les effets du stress oxydatif [3].

L'Algérie est riche en plantes médicinales, à cause de leur position géographique particulière et ces qualités climatiques très variées, la plupart des recherches actuelles portent sur l'étude de molécules antioxydantes telles que les vitamines et les polyphénols. Il semble donc intéressant d'inscrire ce travail dans ce contexte de recherche. La possibilité de découvrir de nouvelles molécules actives ou mieux que ce que nous avons déjà et l'innovation pour trouver de nouvelles façons de mieux les extraire et/ou les utiliser est la motivation qui nous fait avancer.

L'intérêt pour la découverte d'extraits de plantes ayant différentes activités biologiques a beaucoup augmenté ces dernières années [4].

Le but principal est de la recherche de nouvelles molécules naturelles qui peuvent remplacer les molécules synthétiques, pour cela notre étude unisse deux prétextes dont le premier est d'ordre phytochimique, des tests de toxicité et de cytotoxicité, le second aspect est consacré à une évaluation des activités antioxydantes de genre *asphodelus*.

Ce travail est divisé en trois chapitres dont:

- Le premier a été consacré à des études bibliographiques.

- Le second chapitre a été concerné de localisation du matériel végétal et les méthodes d'extractions et les différentes activités (antioxydantes, enzymatique, anti-inflammatoires et les tests des toxicités et cytotoxicité).
- Le dernier chapitre de ce travail comprend les résultats ces discussions de l'étude phytochimique de la plante de ce genre *asphodelus*.

CHAPITRE 01:

Etude Bibliographique

1. Stress oxydatif, radicaux libres et antioxydants

Le stress oxydant est devenu un terme familier tant dans le monde médical que dans le grand public.

Ce dernier est le facteur déclenchant de plusieurs maladies graves comme le cancer et celles liées au vieillissement, comme des pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer).

1.1 Stress oxydatif

1.1.1 Définition

L'oxygène est la molécule la plus importante dans l'organisme, parmi les différents rôles de cette molécule est la réaction radicalaire suivante :



mais si elle est dérèglé elle provoque le stress oxydatif.[5]

Stress oxydatif est le Déséquilibre entre la production d'ERO et le système antioxydant. C'est le Phénomènes physiologique et pathologique conduisant à un excès de radicaux réactifs de l'oxygène contrôlé par le système de défense de l'organisme.[6] , la formation des radicaux libres provoquent la saturation des voies de détoxification enzymatiques favorisant ainsi l'apparition du stress oxydatif.[7] .

1.1.2 Origine

Lors de la respiration mitochondriale, l'oxygène, comme tous les oxydants, a une toxicité, les mitochondries sont responsables de la production d'ERO. En effet, la fuite d'électrons au niveau de la chaîne mitochondriale conduit à la formation de radicaux super oxydes en liant ces électrons à des molécules d'oxygène.[8] Les mitochondries régulent le manque d'apport d'oxygène au niveau tissulaire par la libération d'ERO [9] .

1.2 Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui ont un seul électron non apparié, Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules dans leur

enveloppe environnante. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. La molécule d'oxygène (ou dioxygène, O₂) a la particularité d'avoir une structure diradicale libre due à deux électrons isolés dans deux orbitales de haute [10] .

Parmi tous les types de radicaux qui peuvent se former dans la cellule, il faut distinguer un groupe limité de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier dans la physiologie. C'est ce qu'on appelle un radical libre primaire. Celui-ci est dérivé directement de l'oxygène. D'autres radicaux libres appelés radicaux secondaires (radical peroxyde ROO•, radical alcoyle RO•) sont formés par la réaction de ces radicaux primaires avec les composés biochimiques de la cellule [11].

Le groupe des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS=ERO). Cette désignation n'est pas limitée. Cela inclut les radicaux libres d'oxygène eux-mêmes : radical superoxyde (O₂^{-•}) , radical hydroxyle (OH•), monoxyde d'azote (NO•), ainsi que certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires où la toxicité est importante : oxygène singulet Oxygène (¹O₂), peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), peroxydinitrite (ONOO⁻) [12].

1.2.1 Principales espèces réactives à l'oxygène(ERO)

Tableau 1 : principaux espèces réactives à l'oxygène.

Type des ERO		Définitions et réactions	Références
Radicalaires	Anion superoxyde O ₂ ^{-•}	Espèce le plus courant et important Apparaît lors de la réduction mono électrique de dioxygène [O₂ + e⁻ → O₂^{-•}]	[13]
	Radical hydroperoxyde HO ₂ [•]	Le radical hydroperoxyde, également appelé radical perhydroxyle, est l'acide conjugué de l'anion superoxyde obtenu après sa protonation	[14]

		(l'ajout de H ⁺) [H⁺ + O₂^{•-} = HO₂[•]]	
	Radical hydroxyle HO [•]	<p>Espèce le plus redouté et panique, il est la forme neutre de l'anion hydroxyle (OH⁻).</p> <ul style="list-style-type: none"> Il est produit à partir de peroxyde d'hydrogène s'il est réagir avec un cation métallique : [Fe²⁺ + H₂O₂ = Fe³⁺ + OH⁻ + HO[•]] Peut aussi produire à partir de réduction de H₂O₂ grâce à l'anion peroxyde : [H₂O₂ + O₂^{•-} = O₂ + OH⁻ + HO[•]] 	[15],[16],[17]
	Radicaux alkoxylo RO [•] et peroxylo ROO ^{•-}	<p>Ce sont des formes secondaires formés à partir de radicaux primaire (HO[•]...etc.), lié avec composants chimiques (sucres, lipides...etc.), en suivant quelques réactions de formation ces radicaux à partir des AG et lipides et fer :</p> <p>[L[•] + O₂ = LOO[•]]</p> <p>[LOO[•] + LH (AG) = LOOH + L[•]]</p> <p>[LOOH + Fe²⁺ = LO[•] + OH⁻ + Fe³⁺]</p> <p>[LOOH + Fe³⁺ = LOO[•] + H⁺ +</p>	[18],[19]

		Fe ²⁺	
Non-Radicalaire	Peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène=l'eau oxygéné formé par la réaction de l'anion superoxyde avec proton : [2O₂^{•-} + 2H⁺ = H₂O₂ + O₂]	[20]
	Acide hypochloreux HOCl	C'est un oxydant fort de courte durée formé a partir de réaction de l'eau oxygéné avec proton et clore : [H₂O₂ + H⁺ + Cl⁻ = H₂O + HOCl]	[21]
	Oxygène singulet ¹ O ₂	Est une forme d'oxygène très réactif et instable formé à partir de réactions suivantes : [H₂O₂ + ClO⁻ = H₂O + Cl⁻ + ¹O₂] [H₂O₂ + ONOO⁻ = ¹O₂ + NO₂⁻ + H₂O]	[22],[23]

- o Le récapitulatif dans la (figure 01)

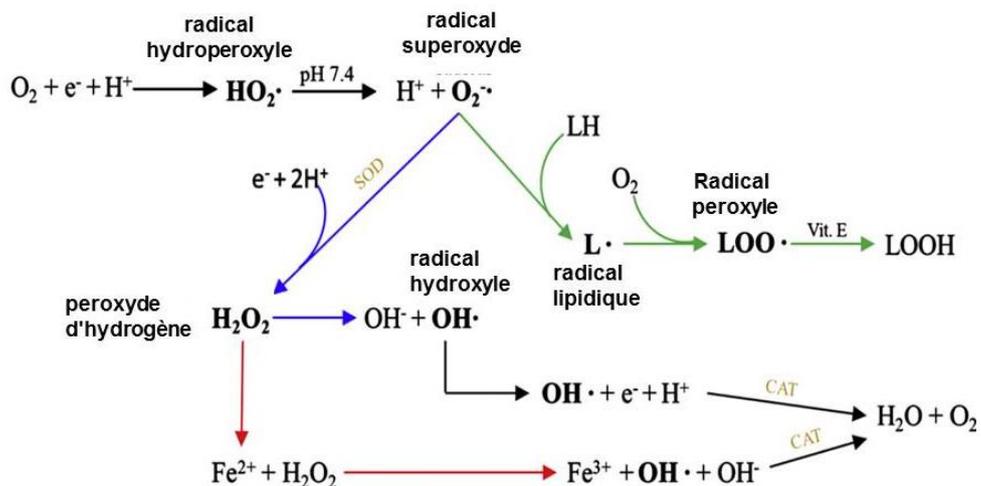


Figure 1 : Schéma montre les réactions conduisant à la formation de ERO [24].

Les radicaux libres sont toxiques pour l'organisme et attaques plusieurs cibles et parmi ces cibles : les protéines, les sucres, les lipides, les acides nucléiques (Figure 02).

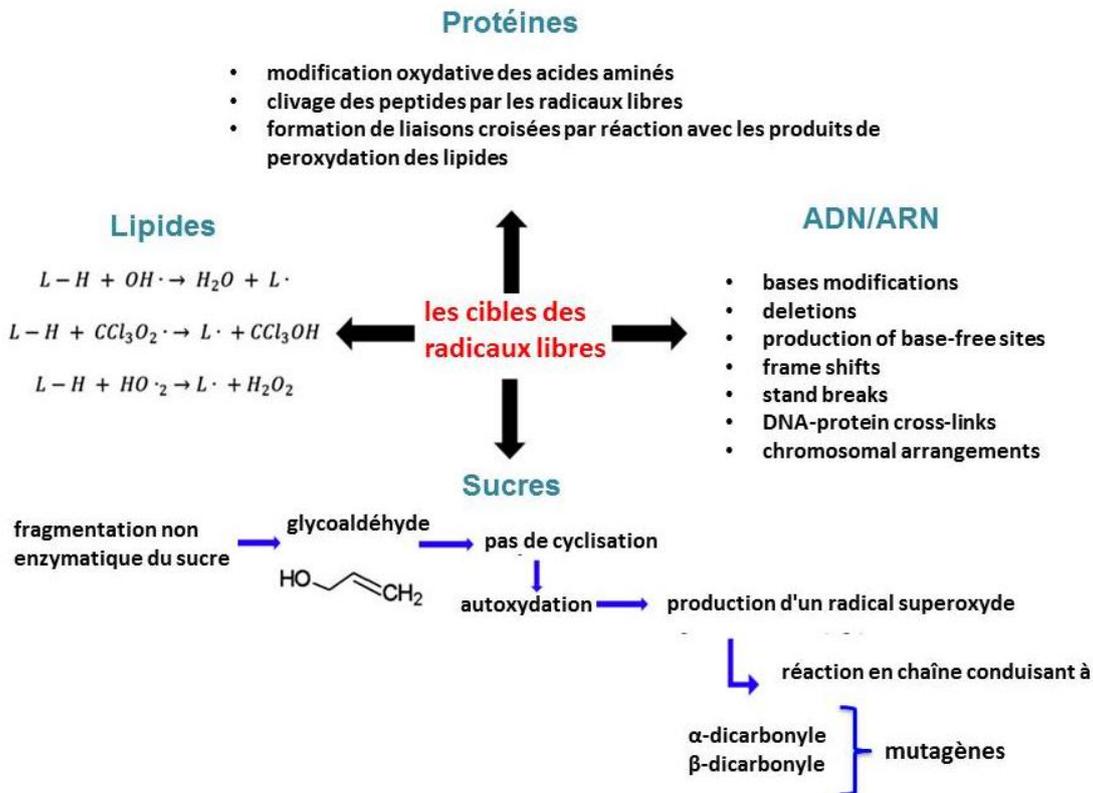


Figure 2 : Schéma montre les cibles des radicaux libres [25],[26],[27],[28],[29],[30].

1.3 Antioxydants

1.3.1 Introduction

L'oxygène, molécule essentielle à la vie, est fortement impliqué dans l'initiation du stress oxydatif, caractérisé par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui provoque des nombreuses maladies et la capacité de l'organisme à les neutraliser[31]. Prévention de ces pathologies peuvent être prévenues par l'utilisation d'antioxydants naturels et synthétiques, qui peuvent être prometteurs comme candidat thérapeutique [32].

1.3.2 Définition

Les antioxydants sont les substances qui éliminent directement les ERO ou agissent indirectement pour renforcer les défenses antioxydantes ou inhiber les ERO. Ou inhibe la production d'ERO.[33].

Une autre propriété qu'un composé doit être considéré comme un antioxydant est sa capacité à former de nouveaux radicaux stables via des liaisons hydrogène intramoléculaires lors de la réoxydation intramoléculaire après élimination des radicaux [34].

1.3.3 Types des antioxydants

I Antioxydants naturels

Ce sont les antioxydants fabriqués et synthétisé *in vivo* existe sous deux :

a Endogènes

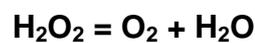
❖ Enzymatiques

1) Superoxyde dismutase

celle est une métalloprotéine joue le rôle d'un système de défense contre les radicaux libres ,elle catalyse et stimule la réaction de dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^- \bullet$) en O_2 et H_2O_2 [35].

2) Catalase

c'est une protéine se trouve dans le peroxysome[36] , elle stimule la réaction suivante : [37].



3) Glutathion peroxydase (GPx)

c'est une protéine contenant une sélénium dans chaque sous unité de ses quatre sous unités , Alor elle une sélénoprotéine , permet d'éliminer les radicaux libres qui peuvent oxyder la molécule d'ADN [38] et les peroxydes lipidiques [35] en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur [39],[40] .

D'autres enzymes jouent un rôle antioxydant non négligeable, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine réductase, glutathion transférase...etc.

❖ Non-Enzymatiques

1) Acide urique

Sous forme urate à pH physiologique, possède des propriétés antioxydantes *in vitro* contre les (OH•) et (ROO•), tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine [39] C'est un piègeur puissant d' (¹O₂), de (O₃) et de (HOCl) aussi [38] .

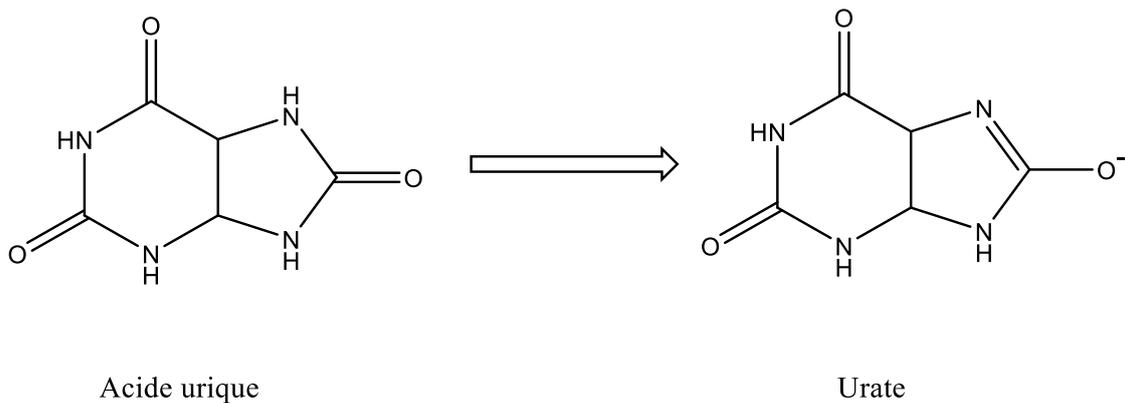


Figure 3 : Schéma de la formule cyclique de l'acide urique et l'urate

2) Le glutathion

Est le majoritaire Parmi les nombreux thiols est, généralement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir, *in vitro*, avec les radicaux (OH)• et (ROO)•, (¹O₂), (O₃), (HOCl), (ONOO⁻), des radicaux centrés sur le carbone , aussi capable de participer à l'activité enzymatique qui, détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes [41], [42],[40].

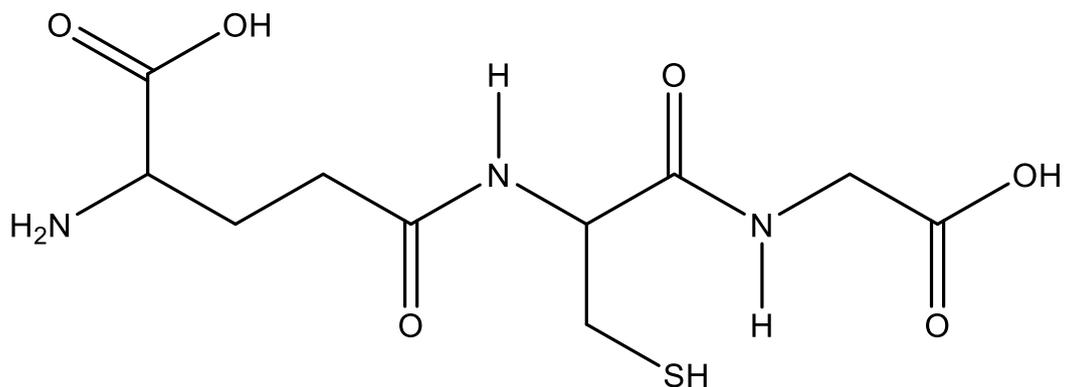


Figure 4 : Schéma de la formule de glutathion

Il existe aussi d'autres substances jouent le rôle d'antioxydants comme la Bilirubine et acide lipopoiue et Ubiquinone ...etc.[43],[44],[45] .

b Exogène

❖ **La vitamine C (acide ascorbique)**

Est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'homme). Reconnu pour son effet protecteur contre l'oxydation membranaire [46]. Cela fonctionne en capturant ERO directement, principalement O₂. Et OH. Permet au recyclage de l'α-tocophérol d'agir en synergie avec la vitamine E en empêchant la peroxydation des lipides [35].

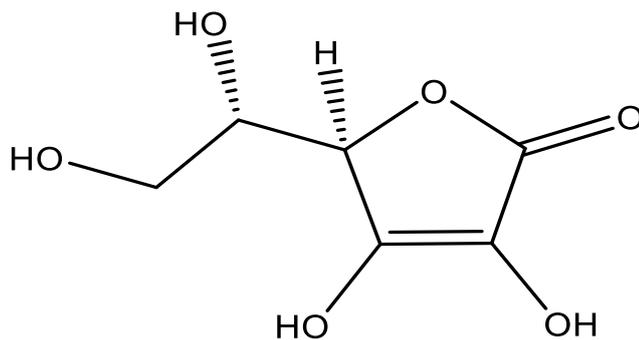


Figure 5 : Schéma de la formule de l'acide ascorbique

❖ **Vitamine E (les tocophérols)**

Bien qu'ils soient d'excellents antioxydants alimentaires, leur rôle physiologique chez l'homme, notamment comme agent protecteur des structures membranaires et des lipoprotéines, ou pour lutter contre le stress oxydatif, est très important. Empêche la formation d'hydroperoxydes en éliminant les radicaux (LOO •) (Equation) , [47] .

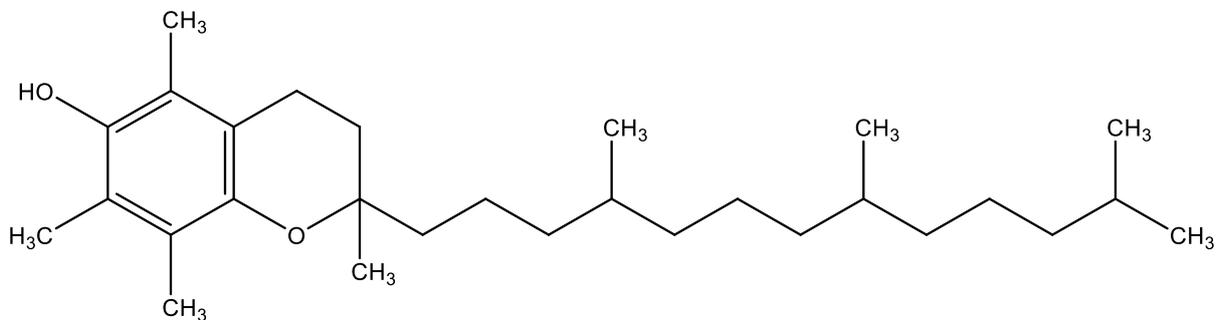
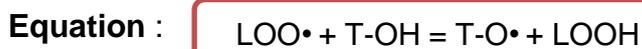


Figure 6 : Schéma de la formule de la vitamine E

❖ Caroténoïdes

Est un pigment dérivé de plantes et de micro-organismes et peut être divisé en deux grandes familles, le carotène et la xanthophylle (Figure 07). Leur activité antioxydante est associée à de longues chaînes polyéniques et peut réagir avec les radicaux ($\text{ROO} \cdot$), ($\text{HO} \cdot$), ($\text{O}_2 \cdot$), ($\text{R} \cdot$) par simple addition électrophile et transfert d'électrons. Aussi la neutralisation de l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$. [36],[40].

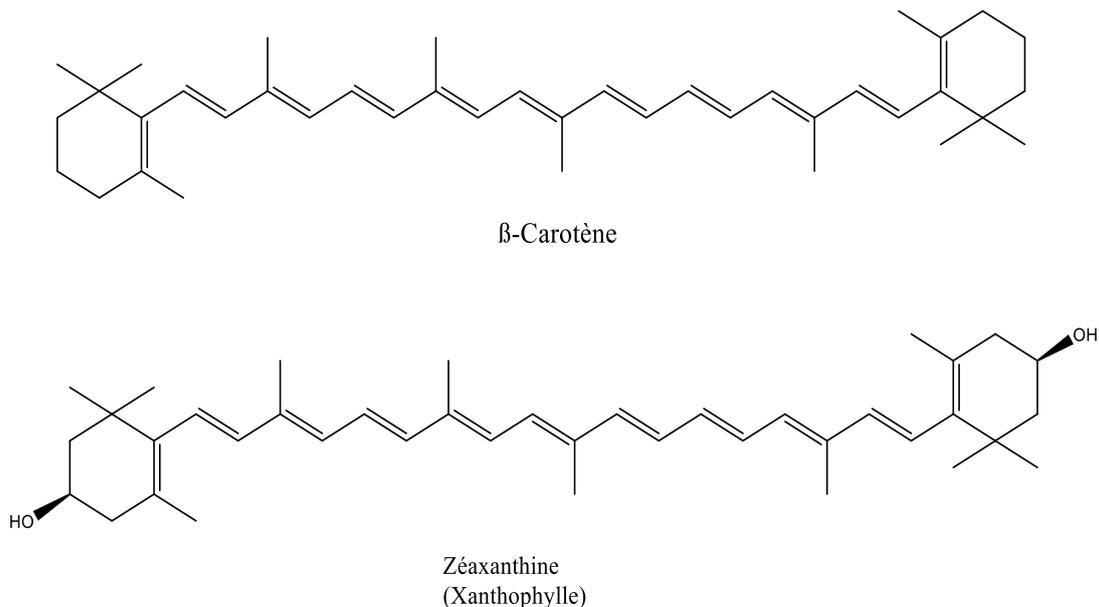


Figure 7 : Schéma de la formule de β-Carotène et Xanthophylle

❖ Zinc

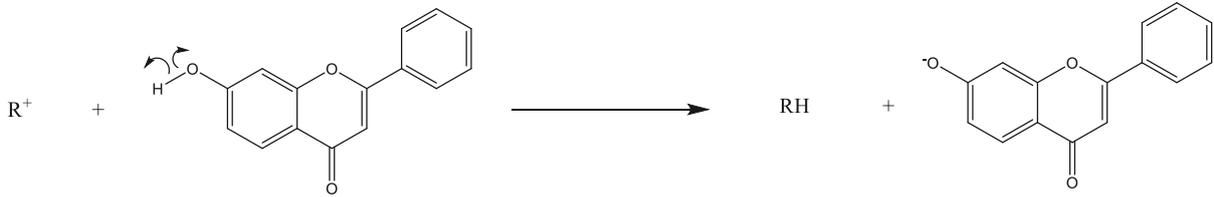
Le zinc est un oligo-élément qui entre dans la structure du superoxyde dismutase, il a donc des propriétés antioxydantes. Aide à protéger l'oxydation du groupe SH des protéines. Il intervient également dans la protection contre la peroxydation et les changements oxydatifs, en plus des propriétés antioxydantes de compétition avec le fer et le cuivre[48].

❖ Les composés phénoliques (Ph)

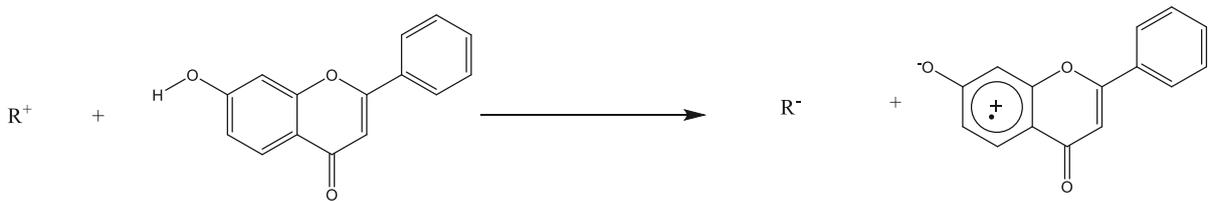
En particulier Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des Plante caractérisée par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane (Fig. 25)[49]. La capacité antioxydante des polyphénols est liée à leurs propriétés structurales Le nombre et l'emplacement des groupes hydroxyle, principalement à cette fin, Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants [50]. Polyphénol Préviens les dommages

oxydatifs grâce à divers mécanismes basés sur le transfert Chélation des électrons et/ou des protons et chélation des métaux de transition [51]

Transfert du proton (HAT)



Transfert d'électron (SET)



Chélation des ions métaux de transition

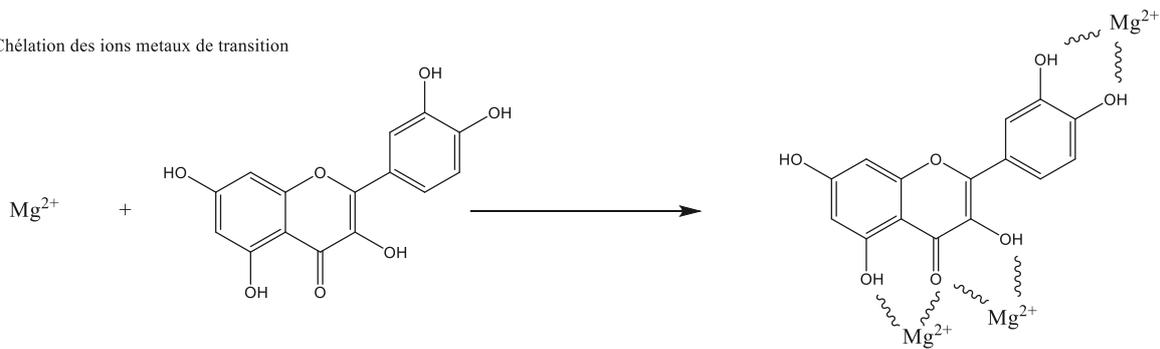


Figure 8 : Mécanismes d'action antioxydante des composés phénoliques [51]

Récapitulatif d'antioxydants : (Figure 09, Figure 10).

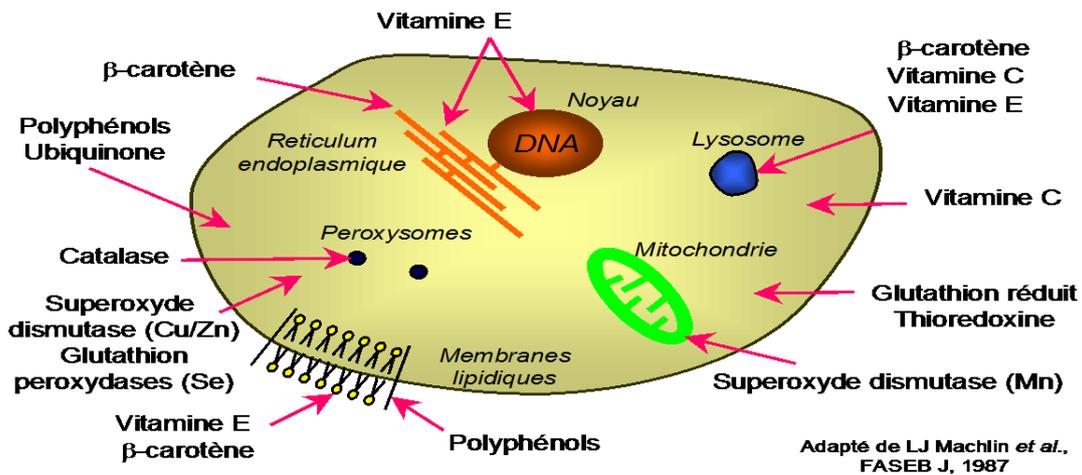


Figure 9 : Schéma des molécules intervenant dans les protections cellulaires (adapté de LJ Machlin et al, 1987).

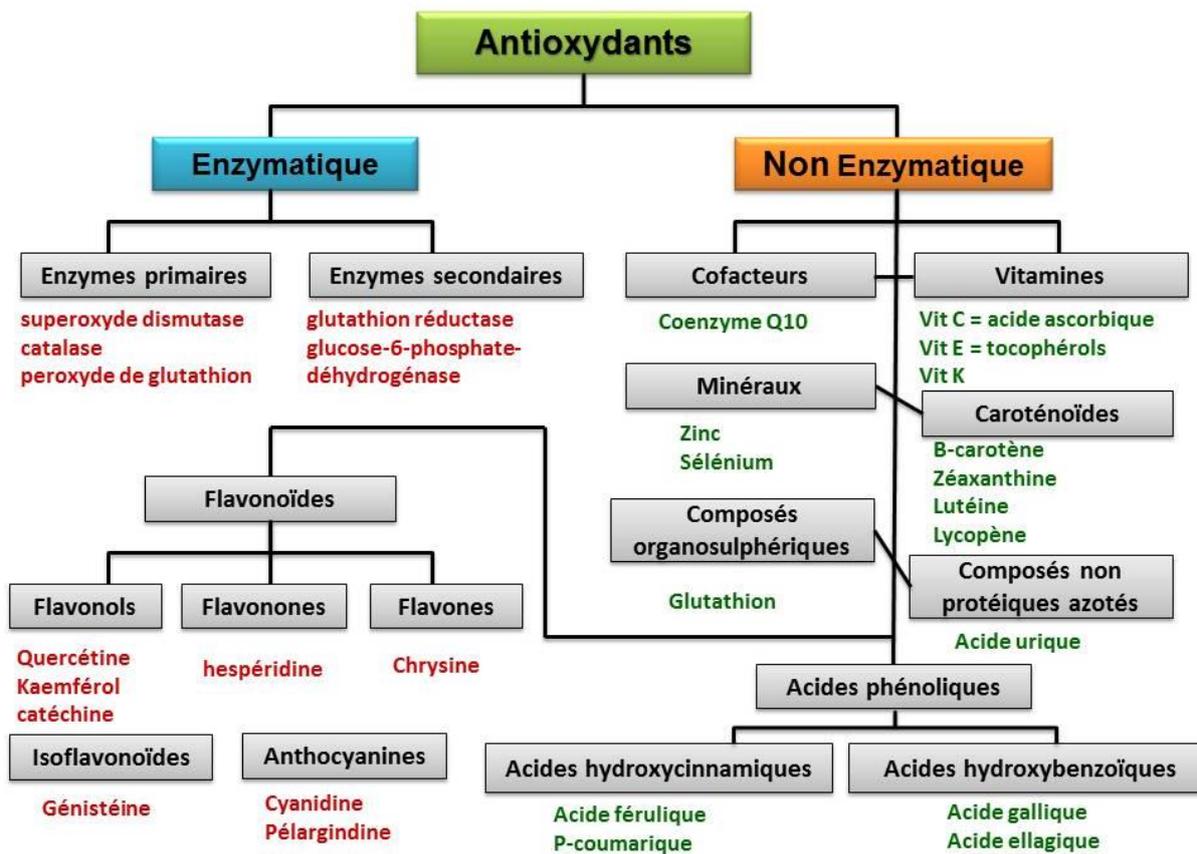


Figure 10 : les différentes classes des antioxydants [52],[53],[54] .

II Antioxydants synthétiques

Ce sont des antioxydants synthétisés *in vitro*.

Tableau 2 : les antioxydants synthétisés les plus importants et ses applications[26].

nom du composé	application	références
BHA (hydroxyanisole butylé)	antioxydant alimentaire	[55]
BHT (hydroxytoluène butylé)	antioxydant alimentaire	[56]
TBHQ (tert-Butylhydroquinone)	aliments préparés pour animaux antioxydants	[57]
PG (propyl gallate)	antioxydant alimentaire	[58]
OG (octyl gallate)	antioxydants alimentaires et cosmétiques	[59]
2,4,5 TBP (trihydroxy butyrophénone)	antioxydant alimentaire	[60]
NDCA (nod dihydroguaiaretic acide)	antioxydant alimentaire	[61]

1.4 Stress oxydatif et vieillissement

L'excès d'oxygène est le facteur le plus important favorisant le développement de nombreuses maladies [6]. Aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires [35], les maladies oculaires, les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, sclérose latérale, etc.) [6].

1.4.1 Vieillissement

Le vieillissement s'accompagne d'une modification globale d'un ensemble de fonctions physiologiques ainsi que d'une plus grande susceptibilité à différentes maladies. La théorie originale explique ces changements par l'accumulation de molécules oxydées et les conséquences de cette oxydation telles que l'apparition de mutations, la carbonylation des protéines, la dénaturation et leur agrégation, l'oxydation des lipides et la prolifération des âgés [62],[63].

Cependant, une augmentation progressive du stress oxydatif entraîne une surproduction de mitochondries d'espèces réactives de l'oxygène et une réduction de

la défense antioxydante, entraînant des dommages irréversibles et donc un vieillissement cellulaire et une éventuelle mort cellulaire.[64] .

Certaines maladies chroniques, fréquentes chez les personnes âgées, résulteront en effet de lésions radicalaires : la peroxydation lipidique affecte principalement les biofilms, les modifications des acides nucléiques et les modifications des protéines affectent à la fois les protéines de structure et les protéines à fonctions spécifiques (hormones, enzymes) , [65],[66] .

Des études récentes sur les modifications transcriptionnelles des gènes au cours du vieillissement, y compris chez le singe, ont montré l'induction de plusieurs gènes codant pour des enzymes antioxydantes et l'inhibition des gènes de la chaîne respiratoire, montrant une adaptation à long terme à l'état pro oxydant cellulaire. [67],[63] .

A la fin, efficacité des mécanismes de réparation cellulaire tels que les protéasomes, les protéines chaperonnes, certaines enzymes réductases et les systèmes de réparation de l'ADN qui diminuent avec l'âge, contribuant à la fixation et à l'accumulation d'anomalies [68],[69] .

1.4.2 Le fer et vieillissement

Le fer, qui est libre en tant que métal de transition, Catalyse la formation de radicaux libres dans Réaction de Fenton et cycle de Haber-Weiss [70].Dans Les personnes âgées, en particulier les femmes ménopausées [71].Ce risque peut survenir en cas de surcharge en fer. Plusieurs études épidémiologiques ont montré un risque accru de cancer [72],ou d'infarctus du myocarde [73],corrélé au taux de ferritine. Une étude britannique portant sur la population à domicile âgée de 68 à 90 ans a montré que seuls 3 % des hommes et 1 % des femmes étaient à risque de déficit [74]Cette étude confirme d'autres études antérieures sur la faible prévalence de la carence en fer chez les personnes âgées. Les suppléments en fer ne s'appuyant pas sur un bilan biologique de déficit peuvent être de fait dangereuses et sont donc à déconseiller chez le sujet âgé[66] ,[35] .

2. Présentation botanique de la plante**2.1 Présentation de l'*Asphodelus***

Il existe 32 noms acceptés pour les espèces et sous espèces de genre *Asphodelus* (regroupe plus de 18 espèces largement répandues dans la région méditerranéenne) [75], et plusieurs synonymes. Parmi elles :

Tableau 3 : tableau montre des noms, synonymes et appellations de quelques espèces et sous espèces et variétés [76], [77], [78].

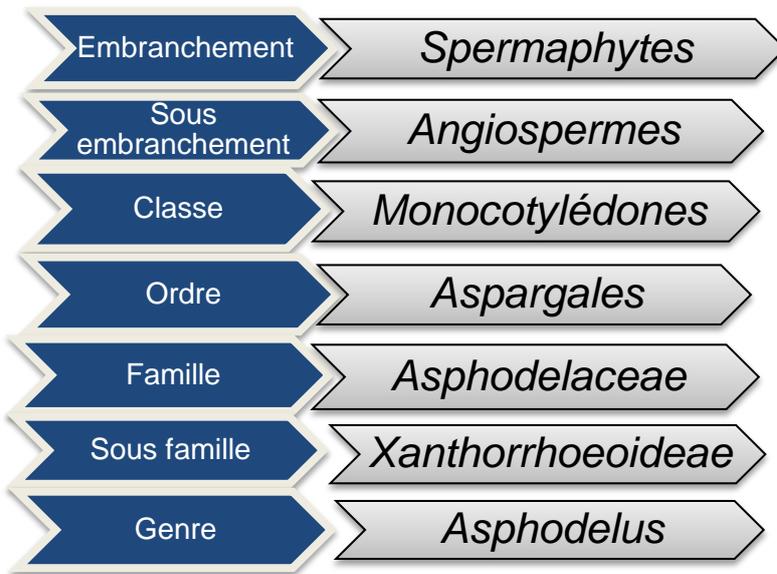
Espèces	Sous espèces et variétés	Synonymes	appellations
<i>Asphodelus acaulis</i> Desfontaines	-	<i>Clausonia acaulis</i> Pomel	Azzidda
<i>Asphodelus aestivus</i> Brotero	-	-	-
<i>Asphodelus albus</i> Miller	s-e : <i>Asphodelus albus</i> s-e : <i>Asphodelus carpetanus</i> (Z. Díaz & Valdés) s-e : <i>Asphodelus delphinensis</i> (Grenier & Godron) s-e : <i>Asphodelus occidentalis</i> (Jordan)	-	-
<i>Asphodelus bentorainhae</i> P. Silva	s-e : <i>Asphodelus bentorainhae</i> s-e : <i>Asphodelus salmanticus</i> (Z. Díaz & Valdés)	-	-
<i>Asphodelus cerasiferus</i> J. Gay	-	<i>Asphodelus repens</i> Pomel <i>Asphodelus corsicus</i> Jord et Fourr	Berouaga Ançal Belouaz
<i>Asphodelus fistulosus</i> Linnaeus	s-e : <i>Asphodelus fistulosus</i> s-e : <i>Asphodelus madeirensis</i> (Simon)	<i>Asphodelus tenuifolius</i> Cavanilles	Bouzlima Boussila Belouaz Berouiga

			Zittout
<i>Asphodelus lusitanicus</i> coutinho	var : <i>Asphodelus lusitanicus</i> var : <i>Asphodelus ovoideus</i> (Merino)	-	-
<i>Asphodelus macrocarpus</i> Parlatore	s-e : <i>Asphodelus macrocarpus</i> s-e : <i>Asphodelus rubescens</i> (Z. Díaz & Valdés) var : <i>Asphodelus arrondeaui</i> (J. Lloyd)	-	-
<i>Asphodelus Ramosus</i> Linnaeus	s-e : <i>Asphodelus ramosus</i> s-e : <i>Asphodelus distalis</i> (Z. Díaz & Valdés)	-	-
<i>Asphodelus refractus</i> Boissier	-	<i>Asphodelus pendulinus</i> Coss et Dur	Acheub el Ibel
<i>Asphodelus tenuifolius</i> Cavanilles	-	-	Acheub el Ibel
<i>Asphodelus microcarpus</i> Salzmann & Viviani	-	<i>Asphodelus nervosus</i> Pomel <i>Asphodelus morisianus</i> Parl	Berouaga Ançal Belouaz

s-e : sous espèces, **var** : variété

2.2 Classification botanique du genre *Asphodelus*

Selon APG IV (Angiosperme Phylogénie Groupe IV), 2016



2.3 Description de la plante

2.3.1 Description du genre *Asphodelus*

D'après Quézel et Santa [78] on a fait le tableau suivant :

Tableau 4 : Description botanique du genre *Asphodelus* [78].

Partie	Description
Feuilles	Toute radicales
Tiges	Florifères nues
Fleurs	En grappes ou panicules, solitaire avec une bractée scarieuse à la base et à pédoncule articulé
Périanthe	Tépales libres ou à peine connés à la base, uninervés
Etamines	Six étamines hypogynes et à filet dilaté à la base, dorsifixes
Ovaire	à trois loges biovulées
Style	à stigmate trilobé
Capsule	Loculicide, à valves ridées ou nerviées en travers
Graines	Triquètres et noirâtres

2.3.2 Description de quelques espèces du genre *asphodelus*

I *Asphodelus acaulis* Desf

Plante native à l'Algérie et Maroc et Tunisie, elle est acaule ou subacaule, à racines fasciculées et napiformes. Feuilles linéaires, ciliées sur les marges de 20-30 cm de longueurs. Fleurs blanches ou rosées de grande taille, avec périanthe de 3,5 cm de longueur. Tépalés avec nervure foncée. Etamines extérieures courtes. Capsule tenue par un pédoncule allongé et recourbé en crochet. Graines adroitement ponctuées. Se trouve dans les pâturages, clairières, fissures des rochers (à Ain Mlila, Sétif, près de Boghar) [78].



Figure 11 : images de l'espèce *Asphodelus acaulis* [79].

II *Asphodelus cerasiferus* J.Gay

Fleurs blanches ou carnées, de longueur entre 20-25 mm. Tépalés carénés, à carène carnée. Capsules de 16-22 mm de long, globuleuse, ombiliquée au sommet ; à valves peu ridées transversalement sur le sec, se trouve dans les forêts et les pâturages de montagne (à Tlemcen) [78].



Figure 12 : images de l'espèce *Asphodelus cerasiferus* [80].

III *Asphodelus microcarpus* Salzm et Viv

Fleurs blanches ou carnées, de longueurs maximales de 15 mm. Tépales carénés (carène verte ou pourpre). Capsules de 6-14 mm de long, oblongues, ovoïdes, ou subglobuleuse ; à valves clairement ridées transversalement sur le sec, se trouve dans les forêts et les pâturages [78].



Figure 13 : images de l'espèce *Asphodelus microcarpus* [79].

IV *Asphodelus refractus* Boiss

Caractérisée par ses feuilles subcylindriques, glabres et lisses avec peu de papilles, visqueuses (couvertes généralement de graines de sable). Racine annuelle, pivotante et rotatoire. Fleurs de longueur environ 5 mm. Les tépales sont blancs et

fusionnent avec les étamines à la base pour créer une forme comme un calice ou cupule. Ovaire subglobuleux. Pédoncules fructifères réfractés de longueur jusqu'à 1 cm ou plus, se trouve dans les pâturages sablonneux désertiques et subdésertiques [78].

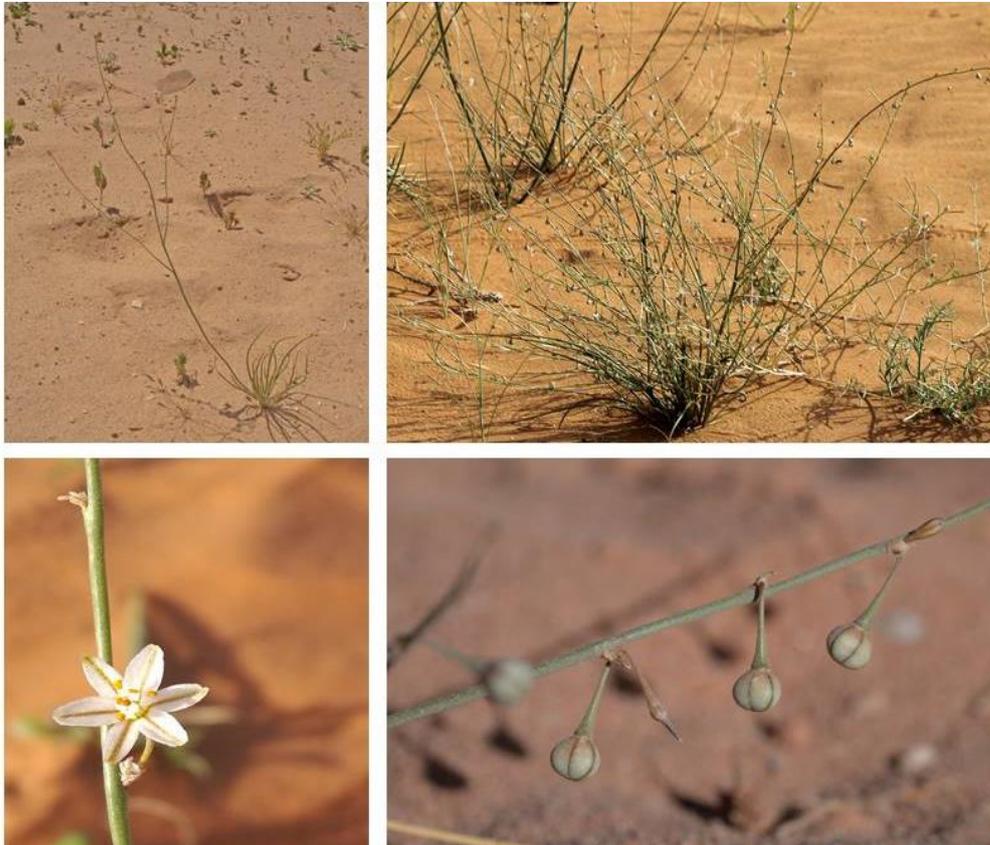


Figure 14 : images de l'espèce *Asphodelus refractus* [79].

V *Asphodelus fistulosus* Linnaeus

Plante vivace et bisannuelle, ses feuilles scabres et rugueux sur les marges de 30 cm de longueur et entre 3-4 mm de diamètre. Scapes entièrement lisses. Fleurs blanches ou rosées, de longueur de 10-12 mm. Tépales libres. Pédoncules fructifié dressés, son articulation située vers le milieu, se trouve dans les pâturages arides et steppes [78].



Figure 15 : images de l'espèce *Asphodelus fistulosus* [81].

VI *Asphodelus tenuifolius* Cavanilles

Plante annuelle, ses feuilles ne dépassent pas 20 cm de longueur, son diamètre est entre 0,5-2,5 mm, elles sont de forme scabres et durs sur les nervures ou marges, scapes scabres et rugueux au soubassement (base). Fleurs blanchâtres ou rosées de 5-12 mm de longueur. Tépale libres. Pédoncule fructifères dressés et orientés, souvent articulés sous le milieu mais parfois au-dessus, se trouve dans les pâturages arides et steppes [78].



Figure 16 : images de l'espèce *Asphodelus tenuifolius* [82].

3. Les propriétés thérapeutiques de la plante

3.1 La famille *Asphodelaceae*

La plupart des espèces et genres d'*Asphodeloideae* ont traditionnellement été utilisées comme laxatifs et purgatifs. Ils ont également été utilisés pour traiter l'arthrite, l'hypertension artérielle, le stress, l'eczéma, les irritations cutanées et les brûlures. Les feuilles d'aloès sont largement utilisées dans les cosmétiques et dans le traitement de nombreuses maladies[83],[84].

3.2 Le genre *Asphodelus*

La péninsule ibérique décrit les utilisations médicinales courantes suivantes : couper et frotter une tige pour traiter l'eczéma cutané, utilisé de la cendre de racine pour l'alopecie, avec des feuilles pour traiter la paralysie. Une décoction de tige a été utilisée et l'utilisation de capsules fraîches pour le traitement de l'otite. L'utilisation médicinale du genre *Asphodelus* est également courante en Afrique du Nord, dans les pays d'Asie de l'Ouest et du Sud. Dans la péninsule ibérique, en plus de l'usage médicinal, l'alcool obtenu par fermentation des tubercules est extrait et utilisé comme carburant.[76].

Plusieurs espèces du genre *Asphodelus* présentes dans la région méditerranéenne d'Afrique du Nord et d'Asie du Sud-Est ont été utilisées dans les remèdes populaires pour traiter les affections cutanées telles que le psoriasis, les parasites, les infections microbiennes et comme agent blanchissant pour les taches de rousseur[85].

Les parties anatomiques de la plante utilisées sont : Tubercules, racines, tiges, feuilles, graines, forme de décoction à appliquer sur la zone touchée et contaminée, sous forme d'extrait dans l'eau et solution alcoolique [86].

Exemple : utilisation d'une espèce (*Asphodelus microcarpus*) de genre *Asphodelus* dans ce tableau :

Tableau 5 : Utilisation traditionnelle de différentes parties de l'*asphodelus microcarpus* dans la médecine populaire méditerranéenne[87].

Parties utilisés	Références
Plante entière	[88]
Partie aérienne	[89]
Feuilles	[90],[76]
Fleurs	[76], [88], [89]
Graines	[91],[76]
Fruits	[92]
Tubercules, racines, bulbes	[76], [91], [93]–[99]

Le plus souvent, ces espèces étaient utilisées comme agents anti-inflammatoires et anti-infectieux. Différentes utilisations ethnomédicales ont été décrites pour ces espèces d'*Asphodelus*. Différentes parties de la plante, dont la feuille, le fruit, la graine, la fleur et la racine, sont utilisées comme médicaments traditionnels à base de plantes, seules ou en mélange, pour traiter diverses affections[76].

Tableau 6 : Les propriétés et les utilisations traditionnelles de quelques espèces de genre *asphodelus*.

Espèces	Partie utilisé	Pays	Utilisations traditionnelles (traitement)/applications	Références
<i>Asphodelus aestivus</i>	feuille , Racine	Turquie	Ulcères gastro-intestinaux	[100]
	Racine	Turquie	Hémorroïdes, brûlures, plaies et néphrite	[101]
	Non indiqué	Chypre, Espagne	Maladies de la peau	[102]
<i>Asphodelus fistulosus</i>	Non indiqué	Égypte, Libye	Infections fongiques	[103]
<i>Asphodelus luteus</i>	Plante entière	Palestine	Infections dermatomuqueuses	[94]
<i>Asphodelus microcarpus</i>	Fruit, feuille, Racine	Égypte	Mal d'oreille, flétrissement et paralysie	[104],[105]
	Racine	Palestine	Infections dermatomuqueuses	[94]
	Racine	Égypte	Parasites ectodermiques, jaunisse, microbienne les infections et le psoriasis	[93]– [95]
	Non indiqué	Algérie	Maux d'oreilles, eczéma, rhumes et rhumatismes	[88]
	/	populations latines et	colle utilisable en cordonnerie	[104]

		grecques		
	racine	/	traiter l'anémie et le diabète	[109]
		Algérie	Calmans dentaires, diurétique et dans le traitement du rhumatisme	[92]
	Tubercule souterrain	Algérie	soin des taches blanches au niveau de la peau et leurs extraits méthanoliques convient au traitement des ulcères	[98]
	tubercule	Algérie	utilisés dans l'alimentation du bétail sous forme crue ou dans l'alimentation humaine après ébullition dans l'eau salée pour éliminer leur âcreté naturelle, alimentation du poulet	[75], [110]
	plante entière	/	fabrication de la colle et de l'alcool éthylique (l'extrait des tubercules après fermentation = l'alcool 90 pourcent pur)	[110]

	Racine macéré dans huile d'Olive	Algérie	traitement des otites	[93],[99]
		Algérie	Traitement des douleurs de l'oreille, maladies de la peau (jaunisse et psoriasis, antiarthritiques, mycoses cutanées, d'abcès, eczéma, ectoderme... etc.)	[94],[93],[88],[97]
	Tige, racine	Algérie	traiter la mauvaise digestion	[96]
	partie aérienne	Algérie	soulager les douleurs dentaires	[92]
<i>Asphodelus ramosus</i>	Racine	Afrique du Nord	Troubles inflammatoires	[111]
	Non indiqué	Turquie	Anti-tumoral, diurétique et emménagogue	[112]
<i>Asphodelus tenuifolius</i>	Feuille	Inde	Diurétique, troubles inflammatoires et ulcères	[113]
	Feuille, Graine	Égypte	Diurétique, Antipyrétique, diurétique, rhumes et hémorroïdes	[114]
	Racine,Graine	Inde	troubles inflammatoires, douleurs rhumatismales, ulcères et les blessures	[115],[116]
	Graine	Pakistan	ulcères et troubles inflammatoires	[117]

	Plante entière	Inde	Diurétique, troubles inflammatoires, piqûres d'abeilles et de guêpes. guêpes, ulcères	[118],[119]
	Non indiqué	Pakistan	Diurétique	[120]
<i>Asphodelus aestivus</i>	Racine	/	Traitement des hémorroïdes, la néphrite, les brûlures, les plaies et certaines maladies de la peau	[121]
	Tubercule			
	/	région méditerranéenne orientale de la Libye	traitement de l'arthrite, des maladies rhumatismales, de l'ovulation et des maladies de la peau	[122]

4. La contenance chimique de la plante

Les plantes médicinales seraient la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments. Ces preuves contribuent à soutenir et à quantifier l'importance du criblage des produits naturels [89].

Il y a pas mal de composés et substances chimiques chez le genre *asphodelus* tell que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les terpenoïdes, les anthraquinones (sous forme libre ou sous forme de glycoside), et les alcaloïdes...etc.), découverts par des chercheurs qui sont fait des études phytochimiques sur plusieurs espèces d'*asphodelus* [76], [88], [104].

Plusieurs parties sont utilisées dans ces études, parmi elles : les racines qui contiennent principalement des dérivés anthraquinoniques tels que le chrysophanol, l'aloë-emodine, des triterpénoïdes et des dérivés naphtaléniques. Les parties aériennes ont surtout montré la présence de flavonoïdes tels que la lutéoline, l'isovitexine, des acides phénoliques et quelques anthraquinones. Des acides gras,

notamment myristique, palmitique, oléique, linoléique, et linoléinique, ont été trouvés dans les graines et les racines.[123], le tableau suivant montre plus de détails :

Tableau 7 : les différents composés identifiés dans quelques espèces de genre *asphodelus* [76].

Espèce	Partie utilisée	Classe de composé	Nom de composé	référence
<i>Asphodelus acaulis</i>	Feuille	Flavonoïdes	Lutéoline Apigénine	[124]
	Racine	Anthraquinones	CHRY SOPHANOL ASPHODELIN 10.70-BICHRY SOPHANOL	[125]
<i>Asphodelus aestivus</i>	Fleurs	n-alcènes	Acide hexadécanoïque (35,6 %) Pentacosane (17,4 %) Tricosane (13,4 %) Heptacosane (8,4 %) Hénéicosane (4,5 %) Phytol (4,5 %) Tétracosane (3 %) Hexacosane (2 %) Hexahydrofarnesyl acétone (1,7 %) Acide tétradécanoïque (1,4 %) Docosane (1,3 %) Nonadécane (1 %)	[126]
	Feuille	Acides aminés	Adénosine Tryptophane Phénylalanine	[127]
		Anthraquinones	Aloès-émودية Acétate d'aloès-émودية Chyrosphanol 1-O-gentiobioside	[127]
		Flavonoïdes	Isovitexine Isoorientine Isoorientine 40-O-glucopyranoside	[127]

			60 0-O-(malonyl)-isoorientine 60 0-O-[(S)-3-hydroxy-3-méthylglutaroyl]-isoorientine	
		Acide phénolique	Acide chlorogénique	[127]
	Graine	Acides gras	Acide butyrique Acide nervoïque	[128]
<i>Asphodelus albus</i>	Feuille	Anthraquinones	Aloès-émودية Chrysophanol	[124], [129]
		Flavonoïdes	Lutéoline	[124]
	Racine	Anthraquinones	Chrysophanol Asphodelin 10.70-bichrysophanol	[105]
		Acides gras	Acides myristique (5,3 %) Palmitique (18,5 %) Stéarique (2,1 %) Oléique (13,5 %) Linoléique (44,1 %) Linoléique (9,9 %) Arachidique (2,7 %) Béhénique (1,2 %) Lignocérique (2,1 %)	[130]
		Triterpénoïdes	β-sitostérol β-amyrine Campestérol Stigmastérol Fucostérol	[130]
	<i>Asphodelus cerasifer</i>	Feuille	Anthraquinones	Aloès-émودية
Flavonoïdes			Isoorientine Lutéoline Lutéoline 7-glucoside	[124], [131]
Racine		Anthraquinones	Asphodeline Microcorpine Aloe-emodine Chrysophanole	[130]
<i>Asphodelus fistulosus</i>	Partie aérienne	Anthraquinones	Asphodelin Asphodelin 100-anthrone Aloesaponarin II Aloe-emodin	[103]

			Chrysophanol Desoxyerythrolaccin	
		Flavonoïdes	Chrysoeriol Lutéoline	[103]
	Feuille	Anthraquinones	Dianhydrorugulosin Aloe-emodin Chrysophanol 1.8 hydroxydianthraquinone	[132]
	Racine	Anthraquinones	Chrysophanol Asphodelin 10.70-Bichrysophanol	[125]
	Graine	Anthraquinones	Dianhydrorugulosin Aloe-emodine Chrysophanol 1,8 hydroxydianthraquinone	[132]
		Glucides (carbohydrates)	Saccharose Raffinose Stachyose	[133]
		Acides gras	Myristique (0,5 %) Palmitique (5,7 %) Stéarique (3,6 %) Oléique (33,1 %) Linoléique (54,9 %).	[133],[134]
		Triterpénoïdes	β -sitosterol β -amyrin	[133]
<i>Asphodelus luteus L</i>	Feuille	Anthraquinones	Aloès-émودية	[124]
<i>Asphodelus mauritii Sennen</i>	Feuille	Flavonoïdes	Lutéoline	[124]
		Anthraquinones	Aloès-émودية Chrysophanol	[124]
<i>Asphodelus microcarpus</i>	Fleurs	Terpénoïdes	Germacrène D (78,3 %) Germacrène B (3,9 %) A-elemene (3,8 %) Caryophyllène (3,3 %)	[88]
		Flavonoïdes	Lutéoline Lutéoline-6-C-glucoside Lutéoline-O-hexoside	[85]

			Lutéoline-7-O-glucoside Lutéoline-O-acétylglucoside Lutéoline-O-désoxyhesosylhexoside Méthyl-lutéoline Naringénine Apigénine	
		Acides phénoliques	Acide 3-O-caféoylquinique Acide 5-O-caféoylquinique	[85]
	Feuille	Anthraquinone	Chrysophanol 10 (chrysophanol-7-yl)-10-Hydroxychrysophanol-9-antrone Asphodoside C Dianhydrorugulosin Aloès-émودية	[132], [135]
		Flavonoïdes	Luteolin-6-C-glucoside Luteolin-6-C-acétylglucoside luteolin-C-glucoside Luteolin Isoorientin	[131], [136]
		Acides phénoliques	Acide 5-O cafféoylquinique Acide cichorique Acide cumaril exosamallique	[136]
	Racine	Anthraquinone	Dianhydrorugulosine Aloé-émودية Chrysophanol Asphodeline Microcarpine 8-méthoxychrysophanolémودية 10-(chrysophanol-7-yl)-10-hydroxychrysophanol-9-anthrone Aloesaponol-III-8 étherméthylique Ramosine Aestivine Asphodosides A-E	[95], [119], [124] – [128]

			Chrysophanol dianthraquinone 5.50-bichrysophanol Chrysophanol-8-mono--D-glucoside Méthyl-1, 4,5 trihydroxy-7-méthyl-9 10-dioxo-9,10-dihydroanthracène 2-carboxylate 6 méthoxychrysophanol	
		Arylcoumarines	Asphodelin A 40-O--D-glucoside Asphodelin A	[106]
		Glucides (carbohydrates)	Raffinose Saccharose Glucose Fructose	[142]
		Acides gras	Acides palmitique Stéarique Oléique Linoléique Linoléinique Arachidique Béhénique Lignocérique Myristique.	[142],[143]
		Naphtalène dérivés	2-acétyl-1,8-diméthoxy-3-méthylnaphtalène Acide 1,6-diméthoxy-3-méthyl-2-naphtoïque	[108]
		Mucilage	Composé de glucose de galactose et d'arabinose.	[142]
		Triterpénoïdes	β -sitostérol- β -D-glucoside Fucostérol	[104], [142]
	Graine	Anthraquinone	Aloe-emodine chrysophanol Chrysophanol-8-mono- β -D-glucoside	[132]
		Glucides	Saccharose	[133]

		(carbohydrates)	Raffinose Stachyose Melibiose	
		Acides gras	Acides myristique Palmitique Stéarique Oléique Linoléique	[133]
		Triterpénoïdes	β -sitostérol β -amyrine	[133]
<i>Asphodelus ramosus</i>	Fleurs	Flavonoïdes	Lutéoline	[144]
		Acides phénoliques	Acide caféique Acide chlorogénique Acides p-hydroxy-benzoïques	[144]
	Feuille	Flavonoïdes	Lutéoline 7-O-glucosyl lutéoline 7-O-glucosyl apigénine Isoorientine Isoswertiajaponine (7-méthyl orientine) Isocytiside (40-méthyl orientine) Isocytiside (40-méthyl vitexine)	[112]
	Racine	Anthraquinone	Ramosine (-)-100-C-[β -D-xylopyranosyl]- (-)-100-C-[β -D-glucopyranosyl-(1-4)- β -D-glucopyranosyl]- 1,10,8,8,10,100-hexa hydroxy -3,30-diméthyl- 10,70 bianthracène-9,90 dione 100-déoxy-10-épi-ramosine 10-(chrysophanol-70-yl)- 10-hydroxychrysophanol- 9-anthrone 70 (Chrysophanol-4-yl)- chrysophanol- 100anthrone100-C- α	[145]- [147]

			rhamnopyranosyl -C- β -xylopyranosyl -C- β -antiaropyranosyl -C- α -arabinopyranosyl -C- β -quinovoopyranosyl	
	Plante entière	Flavonoïdes	Naringine Quercétine Kaempférol	[99]
		Acides phénoliques	Acide gallique Acide chlorogénique Acide vanilique Acide caféique	[99]
<i>Asphodelus tenuifolius</i>	Partie aérienne	Flavonoïdes	Lutéoline Lutéoline-7-O- β -D- glycopyranoside Apigénine Chrysoeriol	[114]
	Racine	Naphtalène dérivés	1,8-diméthylnaphtalène 2-acétyl-8-méthoxy-3- méthyl-1-naphtol 2-acétyl-1,8-diméthoxy-3- méthylnaphtalène.	[148]
		Triterpénoïdes	B-sitostérol Stigmastérol	[148]
	Graine	ester	1-O- 17méthylstearylmyoinositol	[129]
		Acides gras	Myristique (3,96%) Palmitique (13,84%) Oléique (15,60%) Linoléique (62,62%) Linolénique (2,60%)	[150],[151]
	Plante entière	Acides aminés	Cystéine Sérine Glycine Proline Alanine Glycine Sérine Alanine Valine sous forme de protéine	[152]
		Glucides	D-glucose Lactose	[152]

		(carbohydrates)	Acide D-glucuronique D-arabinose D-fructose D-ribose	
		Chromone	2-hentriacontyl-5,7-dihydroxy-8-méthyl-4H-1-benzopyran-4-one	[120]
		Triterpénoïdes	Asphorodine Asphorine A Asphorine B B-sitostérol B-amyrine	[117], [120], [153]

5. Les études antérieures sur la plante

D'après Malmir [76] :

5.1 Études d'activités antioxydantes

- blanchiment de bêta-carotène (sur des extraits aqueux, éthanoliques [154], méthanoliques, acétones [155] des feuilles de l'*asphodelus aestivus*).
- activité antioxydante totale (sur des extraits aqueux, éthanolique des feuilles de l'*asphodelus aestivus* [154]).
- piégeage de DPPH (sur des extraits : aqueux, éthanoliques [154], acétones, méthanoliques [155] des feuilles d'*asphodelus aestivus*. Extraits aqueux, acétates, méthanoliques, diethyl d'éther des racines de l'*asphodelus aestivus* [156]. Extraits méthanoliques des racines de l'*asphodelus luteus* [99] . Extraits aqueux, éthanoliques, méthanoliques des fleurs, feuilles et racines d'*asphodelus microcarpus* [157]).
- Oxydation Dommage de l'ADN (extrait méthanolique sur des racines de l'*asphodelus tenuifolius* [115]).
- Activité de piégeage de OH, NO, \cdot O₂ (extrait méthanoliques sur des racines de l'*asphodelus tenuifolius* [115]).
- piégeage d'ABTS (sur des extraits : aqueux, éthanoliques [154], acétones, méthanoliques [155] des feuilles d'*asphodelus aestivus*).

- piégeage de radical superoxyde (sur des extraits : aqueux, éthanoliques [154], acétones, méthanoliques [155] des feuilles d'*asphodelus aestivus*).
- activité de pouvoir réducteur FRAP (sur des extraits : acétones, méthanoliques [155] des feuilles d'*asphodelus aestivus*).
- inhibition de peroxydation d'acide linoléique (sur des extraits : acétones, méthanoliques [155] des feuilles d'*asphodelus aestivus*).

5.2 Activités antifongiques

- Méthode de diffusion des puits (sur des extraits aqueux, éthanoliques [154] des feuilles de l'*asphodelus aestivus*).
- méthode de diffusion des puits par disques (sur l'extrait n-butanolique et éthanolique des plante entière d'*asphodelus aestivus* [158]).
- méthode de micro dilution en bouillon (sur extrait d'Éther de pétrole des graines de l'*asphodelus aestivus* [128], éthanoliques des feuilles de *asphodelus microcarpus* [136]).
- Méthode de dilution à l'agar (extrait aqueux de la partie aérienne de l'*asphodelus luteus*, *asphodelus microcarpus* [94]).
- technique de dilution en série double (extrait méthanoliques de feuilles de *asphodelus microcarpus* [135]).

5.3 Activités Anti-inflammatoires

- Modèle d'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez le rat (extrait aqueux de racine d'*asphodelus aestivus* [100]).
- Test à l'acide arachidonique (œdème de l'oreille de la souris) (extrait chloroformique, éthanolique, méthanolique et aqueux des racines de l'*asphodelus ramosus* [111]).
- Test au carraghénane (œdème sous-plantaire) (extrait chloroformique, éthanolique, méthanolique et aqueux des racines de l'*asphodelus ramosus* [111]).

5.4 Cytotoxicité

- Essai MTT contre le cancer des cellules pulmonaires humaines (A549) et le cancer des cellules de la prostate (PC3) (extraits dichlorométhane et n-hexane des feuilles et racines de l'*asphodelus aestivus* [159]).

- Cellules cancéreuses du sein MCF-7 - test d'exclusion au bleu trépan, test des comètes, Hoechst 33,258, double coloration à l'iodure de propidium (Extraits aqueux, acétates, méthanoliques, diethyl d'éther des racines de l'*asphodelus aestivus* [156]).
- Viabilité cellulaire des cellules A549, contrôle positif (camptothécine) (sur l'extrait éthanoliques des feuilles de *asphodelus microcarpus* [136]).

CHAPITRE 02 :

Matériels et Méthodes

1. Matériels

1.1 Matériels végétales

La récolte a concerné les parties aériennes et sous terraines (*Asphodelus*) a été effectuée dans La wilaya de Tébessa, à 869 au-dessus du niveau de la mer.

L'identification taxonomique du matériel végétal a été confirmée par le Professeur. Kamel KABOUCHE, se basant sur la référence « Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales » (Quezel et Santa 1962) [78]). Un spécimen d'herbier a été archivé au laboratoire d'obtention des substances thérapeutiques de l'Université des frères Mentouri Constantine.

1.2 Matériels animales

- ✚ Des rats pour l'utilisation de ces sangs dans l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, ils étaient des souches *Wistar albinos* mâles, produites à l'animalerie au département de Biologie Animale à l'Université des frères Mentouri Constantine 1. Faculté des Sciences de la nature et de la Vie.
- ✚ Des larves de vers de farine *Tenebrio Molitor* vivantes achetées chez un marchand d'insectes, utilisées dans l'étude de toxicité.
- ✚ Des larves des crevettes *Artemia Salina* produites au laboratoire de biochimie dans le centre de recherche de biotechnologie Constantine (CRBt), utilisées dans l'étude de cytotoxicité.

1.3 Les réactifs

Tableau 8 : les réactifs utilisés les différentes activités biologiques.

L'activité	Les réactifs
Extraction	Eau distillée, méthanol, acétate d'éthyle, n-butanol, chloroforme
Les activités antioxydantes	DPPH, méthanol, ABTS, persulfate de potassium, tampon phosphate buffer, ferricyanure de potassium, TCA, chlorure ferrique FeCl ₃ , Phenanthroline, Silver nitrate, Trisodium citrate, acide chlorogénique.

Les activités anti-inflammatoires	l'acide gallique, eau distillé, eau physiologique, tris base ($\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH}_3)$), Chlorure de Sodium (NaCl), tampon phosphate salin (0,9 % et 0,36 %).
Les activités enzymatiques	Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , DTNB, BCl (S-Butyrylthiocholine iodide), BChE, Eau distillé, Ethanol, NaHCO_3 , NaOH .
Les activités de toxicité et cytotoxicité	Eau minérale, méthanol.
Les standards	α -tocophérol, BHA, BHT, Galantamine, trolox, acide ascorbique, diclofénac.

1.4 Appareils

- ✚ Evaporateur rotatif
- ✚ Balance de précision
- ✚ Agitateur magnétique avec plaque chauffante
- ✚ Ampoule à décanté
- ✚ Tubes à essais, éppendorfs et héparinés.
- ✚ Entonnoir
- ✚ Eprouvette
- ✚ Bécher
- ✚ Spatule
- ✚ Microplaques
- ✚ Spectrophotomètre UV visible
- ✚ Spectrophotomètres de microplaques
- ✚ Micropipettes
- ✚ pH mètre
- ✚ Centrifugeuse avec réfrigérateur
- ✚ Bain marie
- ✚ Etuve
- ✚ Vortex
- ✚ Barreau magnétique Méthodes
- ✚ Plaque CCM (chromatographie sur couche mince)

- + Cuve CCM
- + Visualisateur avec lampe ultra-violet

2. Méthodes

2.1 Préparation des extraits

2.1.1 Préparation de la plante

Les différents tests ont été menés sur les parties aériennes de la plante (tiges, feuilles, fleurs). Il a été soigneusement lavé à l'eau pour éliminer les impuretés, puis séché à température ambiante dans une localité sèche et bien ventilé à l'abri de la lumière du soleil. Les plantes séchées ont ensuite été broyées mécaniquement. Le matériel végétal a été obtenu.

2.1.2 Extraction

I Extraction solide-liquide (macération)

Après le séchage du matériel végétal, il a été posé dans un mélange de solvants (méthanol/eau, 70/30, v/v) à température ambiante pendant trois jours. L'objectif est d'extraire le plus possible de principes actifs.

Après macération, le liquide non homogène (macérât) a été filtré. Après une nuit de repos. Ensuite le filtrat a été récupéré et mis dans un ballon à fond rond et placé ensuite dans un évaporateur rotatif réglé à 45°C pour :

- + Eliminer le système solvant (eau/ méthanol) sous pression.
- + Concentrer la solution à sec pour l'obtention d'un extrait brut concentré.

Cette étape a été répétée trois fois avec la mise à jour de solvant (24 heures à chaque fois). L'extrait méthanolique (l'extrait brut) résultant a été pesé au repos 24 heures puis utilisé pour préparer divers extraits organiques.

II Extraction liquide-liquide

C'est une extraction basée sur le transfert de composés d'une phase liquide vers une autre phase liquide à condition que ces deux phases ne soient pas miscibles.

Cette partie a été commencée par la préparation de phase aqueuse suivie par les extractions en utilisant des solvants de différentes polarités : le chloroforme (CHCl_3), l'éthyle acétate (EtOAc) et le n-butanol (n-BuOH).

- ✚ **Phase aqueuse** : a été récupérée après passage par une filtration de mélange d'extrait brut avec 100 ml d'eau distillée avec une agitation vigoureuse.
- ✚ **Extrait chloroformique** : L'ajout de 100 ml de solvant chloroforme (CHCl_3) à la phase aqueuse et met le tout dans une ampoule bien fermée, celle-ci a subi une agitation énergique (sept à dix fois) et la dégazé régulièrement de temps en temps pour libérer la pression excédentaire. Le bouchon a été ensuite enlevé et le mélange laissé au repos pour leur décantation et leur séparation. Cette procédure a été répétée trois fois ou à chaque fois on ajoute 100 de solvant. Après la décantation, la phase chloroformique a été récupérée et assemblée et concentré par le rota vapo à 45°C , par contre la phase aqueuse entre dans une autre extraction avec un autre solvant plus polaire.
- ✚ **Extrait d'acétate d'éthyle** : L'ajout de 100 ml de solvant d'acétate d'éthyle (EtOAc) à la phase aqueuse résultante de décantation précédente dans une ampoule et l'agite bien puis laissée à décanter. Les deux phases ont été séparées et récupérées chaque une seule lorsqu'elles ont été bien définies, cette opération a été répétée trois fois ou à chaque fois on ajoute 100 de solvant. A la fin la phase organique met dans le rota vapo à 45°C pour le séchage et la phase aqueuse entre dans une autre extraction avec le solvant plus polaire n-butanolique.
- ✚ **Extrait n-butanolique** : selon la même méthode précédente un volume de 50 ml de solvant n-butanol (n-BuOH) a été ajouté à la phase aqueuse résultante d'extraction précédente avec agitation et répétition de processus trois fois (à chaque fois on ajoute 50 ml de solvant), à la fin deux phases ont été obtenues et séparées et récupérées chaque phase seule. Le liquide de phase n-butanolique a été concentré dans le rota vapo à une température de 63°C .

Une fois l'extraction terminée, avec quelques gouttes de MeOH on récupère les extraits résultants de différentes extractions et les met dans des vers de montre et laisse pour le séchage dans un endroit aéré suivie par ses conservations. A la fin les extraits ont été prêts pour les activités et les différents usages.

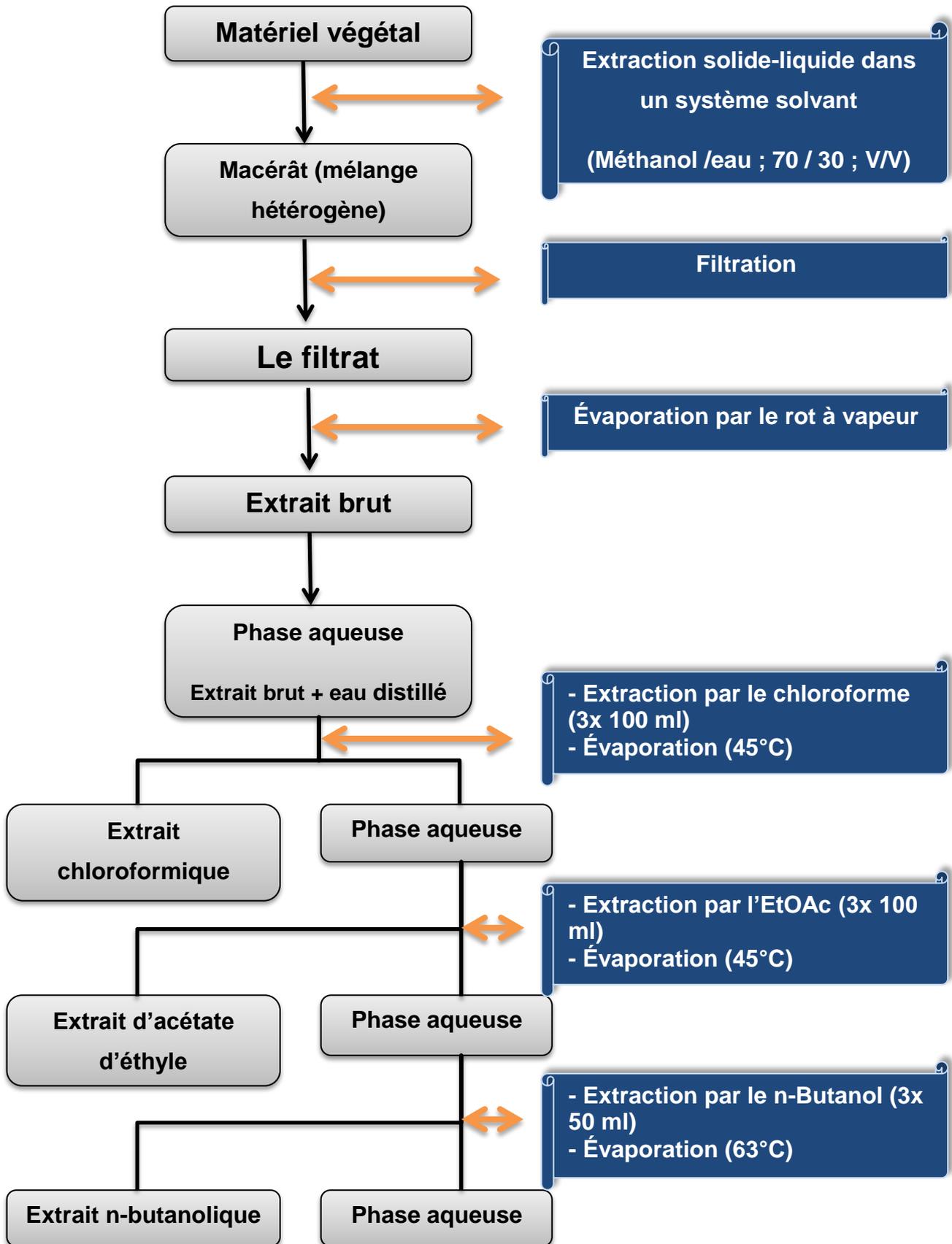


Figure 17 : Opérations d'extractions d'*asphodelus*.

2.2 Les activités biologiques

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire de Biochimie (Laboratoire 05) au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBt).

2.2.1 Préparation des échantillons

On prépare les échantillons des différentes extraits (Acétate d'éthyle, n butanolique, bulbe) à différentes concentration, on a commencé avec la peser dans une balance analytique.

Après la peser on faire fondre 4 mg de chaque extrait dans 1 ml de solvant (MeOH) dans des tubes éppendorfs (un tube pour chaque extrait) et met le tout dans l'agitation ultrasons jusqu'à l'homogénéation des solutions.

Pour chaque solution d'extrait on fait six dilutions selon **équation 01** par le versement de 0.5 ml de MeOH, dans six tubes éppendorfs à 1 ml.

Equation 01 : $(1/2^n)$, n: nombre de dilutions.

Remarque :

- Avant la dilution :
 - Dans le tube 01 on trouve un volume de 1 ml (V=1 ml) contient l'échantillon avec une concentration (C=1).
 - Dans les six autres tubes, V= 0.5 ml de MeOH.
- Après la dilution :
 - Dans les tubes 01-06, on trouve : V=0.5 ml des échantillons dilués avec différentes concentrations.
 - Dans le dernier tube : V=1 ml, $C=1/2^6=1/64$, (tableau 06).

Tableau 9 : les différentes concentrations des dilutions des extraits par rapport à la concentration initiale.

Les tubes	01	02	03	04	05	06	07
Les concentrations	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64

2.2.2 Les activités antioxydantes

Les aliments d'origine végétale sont largement utilisés pour éliminer ces radicaux libres, grâce aux molécules antioxydantes qu'ils contiennent à ces différentes parties tel que les graines ...etc., et par ces parties pourraient piéger les radicaux libres par un mécanisme antioxydant [160].

Par conséquent, l'évaluation de l'activité antioxydante est largement utilisée dans une variété de méthodes analytiques[161].

Cette partie pratique on a la dévoué à l'étude de l'activité antioxydante *in vitro* de la plante (Asphodelus « espèce ») par cinq méthodes antioxydantes : piégeage de radical libre DPPH, piégeage de ABTS, Méthode des nanoparticules d'argent (Silver nanoparticles=SNP), réduction par la formation du complexe (Fe^{+2} -Phenanthroline) et l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) (Reducing Power).

I L'activité de piégeage de radical libre DPPH

a Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, chromogène de couleur violette, stable à température ambiante [162], son dosage basé sur le transfert d'électrons, il est réduit en présence d'une molécule antioxydante qui peut donner un atome d'hydrogène (AH), donnant lieu à une solution de coloration jaune pale(DPPH-H) (**Figure 12**), L'absorption de dpph est fait dans une longueur d'onde 512 – 517 nm [163].

Cette méthode est basée sur la rapidité, la sensibilité, la facilité et la faible consommation de réactifs [164], et elle très populaire dans l'étude des antioxydants naturels [165].

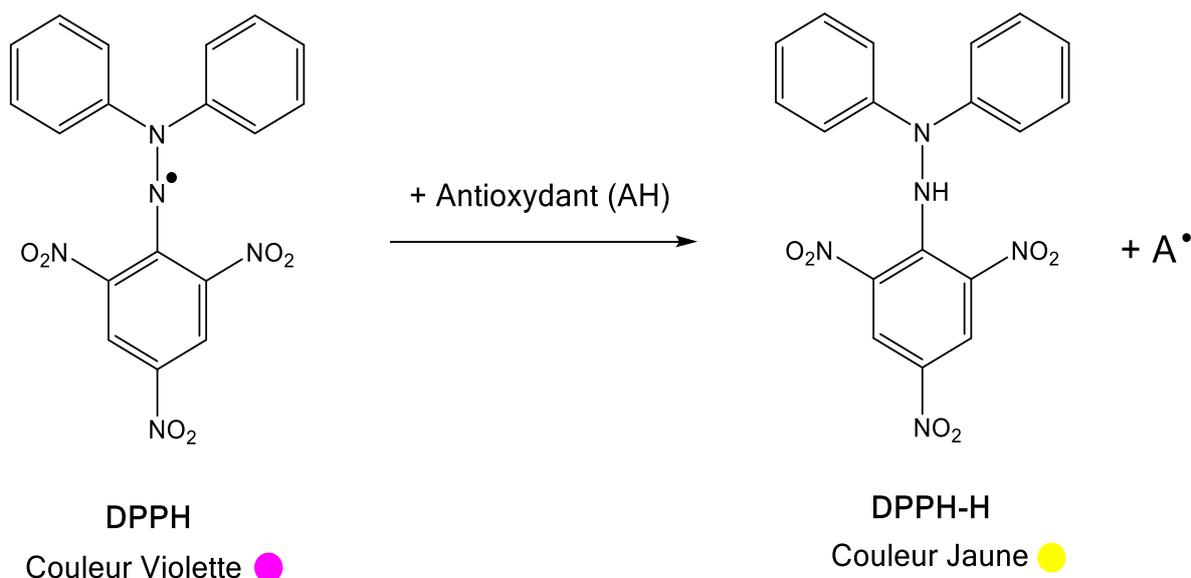


Figure 18 : Réduction de DPPH par un antioxydant [166].

b Protocole

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH [167].

Selon (Blois, 1958)[167] : On prépare la solution DPPH par la dissolution de 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de MeOH, gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance à 517 nm dans un spectrophotomètre de microplaques de 96 puits de 200 μl dans chaque une.

Dans les microplaques on verse : 160 μl de solution de DPPH récemment préparée, on l'ajoute 40 μl de l'extrait à différentes concentrations, dans les derniers puits on prépare le blanc par remplacement d'extrait par le MeOH.

Pendant 30 min en incubant le mélange réactionnel à température ambiante et à l'obscurité, après la lecture à 517 nm.

Les standards utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles sont : BHA, BHT et α -Tocopherol.

Pourcentage d'inhibition

L'activité de piégeage des radicaux de DPPH a été appréciée comme un pourcentage d'inhibition (%). Les résultats sont exprimés en IC_{50} .

IC₅₀ : la concentration inhibitrice de l'extrait à éliminer 50% des radicaux DPPH dans la solution réactionnelle (si IC₅₀ est plus faible, l'activité est plus élevée et meilleure).

$$\text{PI (\% DPPH)} = \frac{A(\text{contrôle}) - A(\text{extrait})}{A(\text{contrôle})} \times 100$$

A (contrôle) : est l'absorbance de la réaction sans extrait (du blanc).

A (extrait) : est l'absorbance de la réaction après avoir ajouté l'extrait.

II Activité du piégeage du cation radical ABTS•⁺

a Principe

L'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) : est un radical stable, incolore, en présence de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) il va s'oxydé en ABTS•⁺ (Le radical ABTS•⁺ est formé par extraction d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS). Le test ABTS montre la capacité de piégeage de l'activité antioxydante, il est basé sur l'aptitude des composés à piéger le radical-cation ABTS•⁺, ce dernier acquise une coloration bleu turquoise [168].

En existence d'un antioxydant (donneur de H•), se fait la formation de ABTSH⁺ à partir de l'ABTS•⁺ en piégeant un H• (**Figure 13**), ce qui enlève la coloration de la solution [169]. (L'intensité de la coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire) [170]. Son absorption est mesurée à 734 nm.

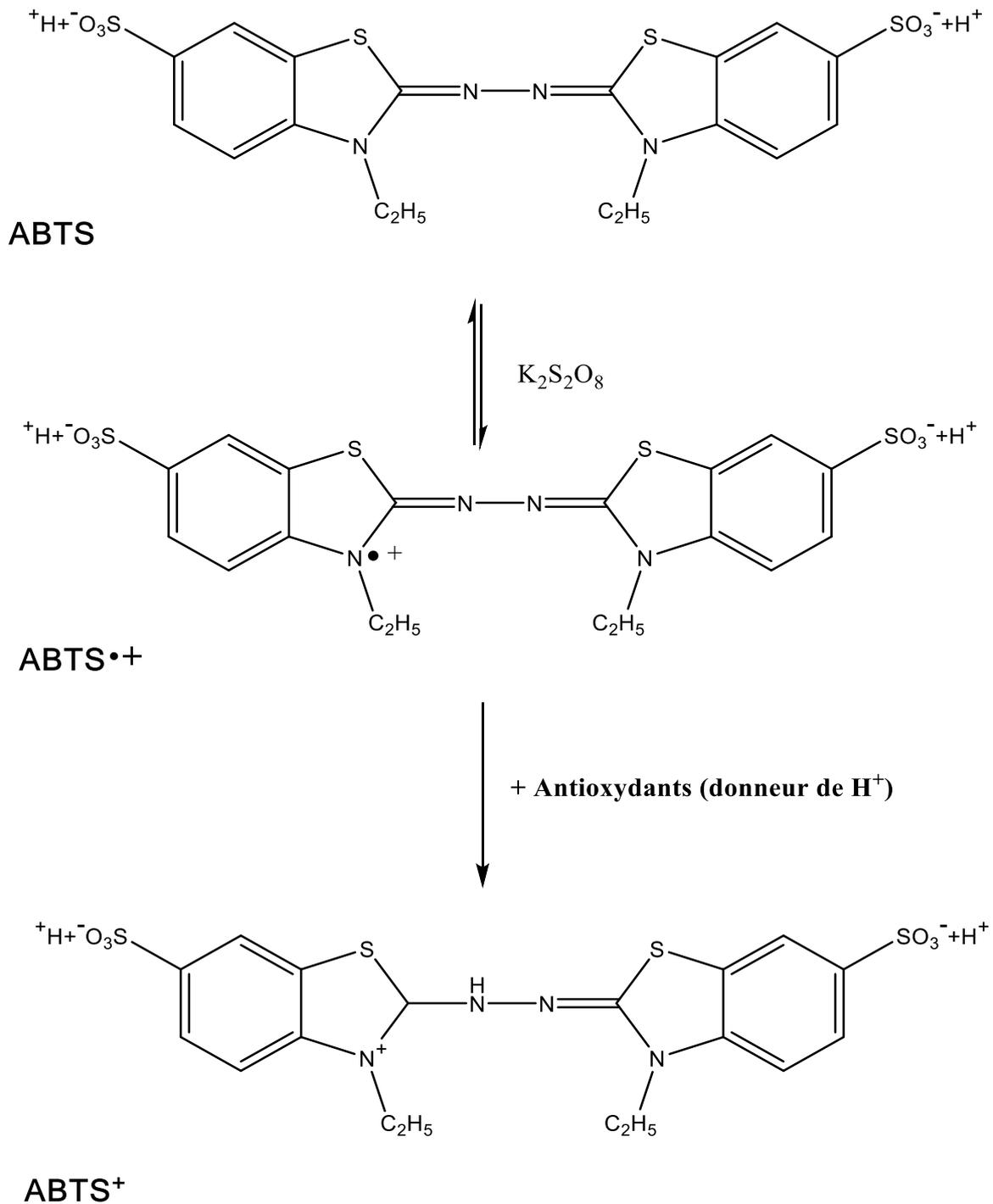


Figure 19 : Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant [171].

b Protocole

L'activité de l'ABTS est déterminée par (Re et al, 1999) [168] avec une légère modification.

On prépare la solution ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium $K_2S_2O_8$ (2.45 Mm) pour proliférer la formation de l'ABTS \bullet^+ , on laisse le mélange pendant 12 à 16h à l'abri de la lumière et dans une température ambiante. Ensuite, on dilue le mélange avec l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'une absorbance $0,7\pm 0.02$ à 734 nm.

Dans les microplaques on verse : 160 μ l de solution d'ABTS fraiche, on l'ajoute 40 μ l de l'extrait à déférentes concentrations. Dans les derniers puits on prépare le blanc par remplacement d'extrait par le MeOH.

La dernière étape est l'Incubation pendant 10 min dans l'obscurité et à température ambiante, suivie par la lecture dans le spectrophotomètre de microplaques à 734nm.

Les standards utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles sont : le BHA et BHT.

Pourcentage d'inhibition

L'activité de piégeage des radicaux de l'ABTS a été appréciée comme un pourcentage d'inhibition (%). Les résultats sont exprimés en IC_{50} .

IC_{50} : la concentration inhibitrice de l'extrait à éliminer 50% des radicaux ABTS dans la solution réactionnelle (si IC_{50} est plus faible, l'activité est plus élevée et meilleure).

$$PI (\%) DPPH = \frac{A (\text{contrôle}) - A (\text{extrait})}{A (\text{contrôle})} \times 100$$

A (contrôle) : est l'absorbance de la réaction sans extrait (du blanc).

A (extrait) : est l'absorbance de la réaction après avoir ajouté l'extrait.

III Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

a Principe

FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique) est un test repose sur l'évaluation de la compatibilité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}), considéré comme un test direct et rapide utilisé pour déterminer l'activité antioxydante de l'extrait à l'étude. On peut révéler le Fe^{2+} par le changement de

couleur du jaune vers le bleu vert (**Figure 14**), l'accentuation de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre des microplaques à 700 nm [172], [173].

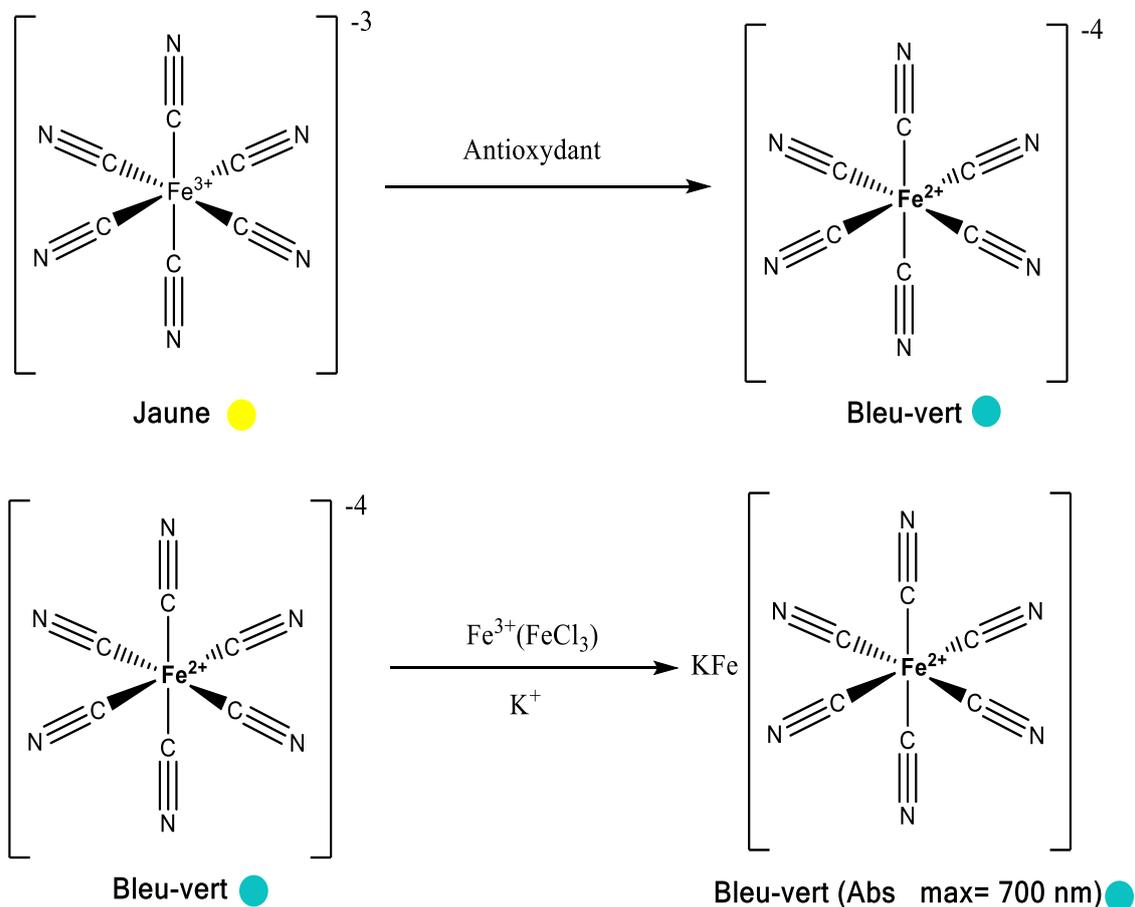


Figure 20 : Mécanisme réactionnel du test FRAP [171].

b Protocole

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé par la méthode décrite par (Oyaizu, 1986) [174] avec une légère modification.

On prépare les solutions de la réaction, on commence avec la préparation de tampon phosphate buffer à (pH=6.6), après la solution de ferricyanure de potassium (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 100 ml H_2O), suivie par tri-chloro-acide acétique (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml H_2O) et on finit par la solution ferrique chloride FeCl_3 (0.1%) (0,1 g de FeCl_3 dans 100 ml H_2O).

Dans les microplaques à 96 puits on verse dans chaque puit : 10 μl de l'extrait à différentes concentrations, on l'ajoute 40 μl de tampon phosphate buffer (pH=6.6) en mélangeant avec 50 μl de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%) et on met le tout à l'incubation dans une étuve à 50°C pendant 20 min. Après l'incubation on ajoute trois solutions, ces derniers sont : 50 μl (TCA) (10%), 10 μl FeCl_3 (0.1%) et 40 μl eau distillé, sans oublié le blanc dans le dernier puit qui suivre la même méthode sauf l'extrait qui l'on remplace par le MeOH. La lecture est à 700 nm [174].

Les résultats ont été calculés en A0.5 ($\mu\text{g/ml}$), ce qui ressemble à une concentration présentant une absorbance de 0,50.

Les standards utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles sont : l'acide ascorbique et l' α -tocophérol.

IV Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline

a Principe

C'est une activité simple basée sur la formation du complexe Fe^{+2} -phenanthroline à partir du fer aqueux sous sa forme ferreuse réduite (Fe^{+2}) (qui peut être déterminé par spectrophotométrie) et 1,10-phénanthroline (synonyme= orthophénanthroline), en solution acide (pH 3-4) (**Figure 15**).

On peut citer ce complexe sous le nom de ferroïne, il est de couleur rouge-orangée foncé, C'est l'indicateur d'oxydoréduction le plus couramment utilisé en chimie. Cet ion complexe octaédrique est soluble et stable en solution aqueuse la mesure de son absorbance et à 510 nm dans le spectrophotomètre des microplaques. [175], [176].

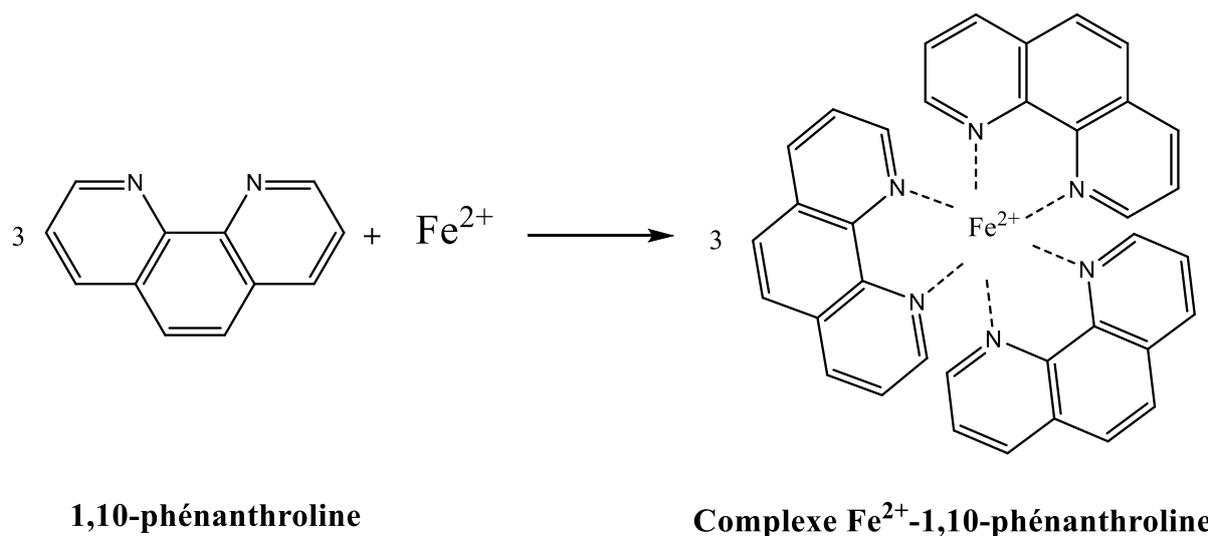


Figure 21 : Formation du complexe Fe²⁺-phenanthroline [177].

b Protocole

L'activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²-phenanthroline des extraits est déterminé par la méthode décrite par (Szydłowska-Czerniaka, 2008) [178].

On prépare les solutions réactionnelles, le début avec le phénanthroline (0.5 %) (0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH), suivie par Ferrique chloride FeCl₃ (0.2%) (0.02g de FeCl₃ dans 10ml de H₂O).

Dans les puits on verse : 10 µl des extraits à différentes concentrations, on les ajoute un volume de 50 µl FeCl₃ (0.2%), 30 µl phénanthroline (0.5%) a été rajouté à la solution et finit par 110µl MeOH, sans oublier le blanc (selon la même méthode sauf l'extrait on le remplace par le méthanol). Le mélange a été agité fortement et incubé pendant 20 min à l'étuve dans une température de 30°C, puis on mesure l'absorbance à une longueur d'onde de 510 nm.

Les résultats ont été calculés en A0.5 (µg/ml), ce qui ressemble à une concentration présentant une absorbance de 0,50.

Les standards utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles sont : BHT et BHA.

V Activité de SNP (Silver nanoparticles assay)**a Principe**

Les techniques nanotechnologiques sont généralement basées sur le dosage colorimétrique de la capacité antioxydante totale.

SNP est une activité basé sur la formation de nanoparticules à partir du sel d'Ag (I) avec le citrate qui est un agent réducteur (il est converti en dicarboxylate d'acétone [176] et le stabilisateur du SNPs, permet de déterminer les propriétés antioxydantes des échantillons étudiés [179]. L'absorption caractéristique par résonance plasmonique de surface (SPR) des (SNPs =Ag-NPs) est utilisée dans la mesure colorimétrique, car les antioxydants ajoutés au système provoquent un élargissement du noyau et de la coquille des Ag-NPs initialement formées [176].

En raison de la faible polarité et du faible pouvoir dissolvant des solvants organiques, le transfert d'électrons se produit rarement, de sorte que la réaction a lieu dans un milieu aqueux, la plupart des composés antioxydants importants en science alimentaire et en biochimie peuvent être oxydés par Ag (I) grâce à son potentiel inférieurs à 0,8 V quel est assez proche de celui des réactifs colorimétriques TAC largement utilisés (tels que ABTS, FRAP et DPPH) [180].

b Protocole

L'activité de SNP des extraits est déterminé par la méthode décrite par : (Mustafa Ozyürek, 2012) [181].

On prépare les solutions réactionnelle, commencer par (Silver nitrate = nitrate d'argents) AgNO_3 (1 mM) en mélangeant 0.170 g avec 100 ml H_2O), suivie par la préparation de Trisodium citrate (1%) (1 g + 100 ml (H_2O)).

Sur une plaque chauffante et agitateur magnétique on met sur un bécher un volume de 50 ml de AgNO_3 (1.0 mM) et le chauffé pendant 10 min puis on ajoute 5 ml de Trisodium citrate (1%) goutte à goutte avec agitation jusqu'à le changement de la couleur vers le jaune pâle, après la solution est laisser à température du laboratoire pour refroidir.

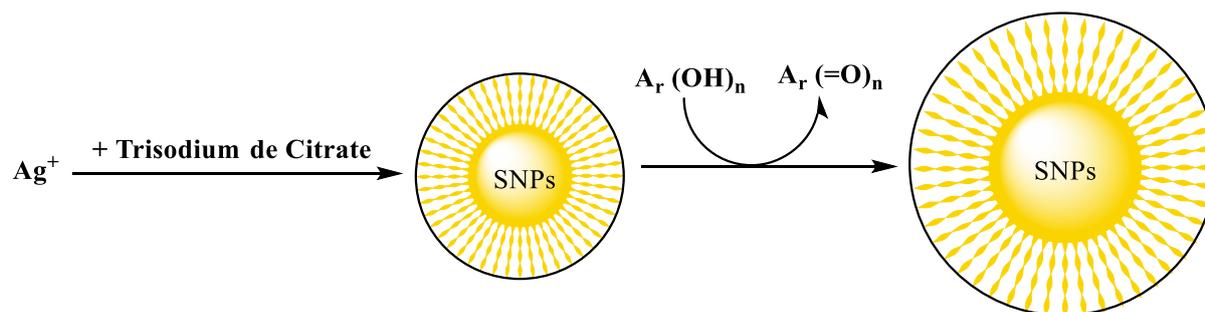


Figure 22 : réaction de snp avec trisodium de citrate.

Une fois la solution SNP est prête, dans les microplaques on verse dans les puits : 20 μL de l'extrait à différentes concentrations, on les ajoute un volume de 130 μL de solution SNP et finit par 50 μL de H_2O . Sans oublier le blanc (en remplaçant l'extrait par le MeOH). Le mélange a été incubé à 25 °C pendant 30 min, suivi par la lecture à 423 nm.

Les résultats ont été calculés en $\text{A}_{0.5}$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$), ce qui ressemble à une concentration présentant une absorbance de 0.50.

Les standards utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles sont : acide ascorbique et trolox.

VI Activité antioxydante par la bioautographie

a Principe

La bioautographie est une technique qui permet l'identification ou la comparaison de composés organiques séparés par chromatographie sur couche mince CCM en fonction de leurs effets sur les organismes vivants, en particulier les micro-organismes. Cette méthode est basée sur l'activité biologique analytique [182].

CCM est une technique est principalement basée sur le phénomène d'adsorption. La phase mobile est un solvant ou un système de solvants qui se déplace le long de la phase stationnaire qu'elle est une plaque semi-rigide. Une fois l'échantillon appliqué à la phase stationnaire, la substance se déplace à une vitesse qui dépend de ses propriétés et des propriétés du solvant.

b Protocole

L'activité de la bioautographie est déterminée par la méthode de Fabri et al, 2011 [183], avec une légère modification.

On prépare les plaques CCM et le système solvant utilisé dans cette expérimentation (chloroforme/méthanol, 9/1, v/v).

Les dépôts (quelques gouttes des Ext D, Ext E, Ext F, acide ascorbique et le BHA) ont été déposés sur plaques CCM plusieurs fois sur même point avec une espace de 2 cm par une pipette pasteur après le traçage de la ligne de dépôt à environ (1cm- 2 cm) du bord de la plaque suivie par l'étape de mettre dans la cuve de chromatographie qui a l'éluant (phase mobile) avec une position verticale et suivre le développement par capillarité. La plaque a été enlevée et laissée pour le séchage si le front de solvant est proche de ligne de l'extrémité.

A la fin, la plaque a été révélée en utilisant un vaporisateur contenant une solution de phénanthroline (phénanthroline (0.5 %) (0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH), Ferrique chloride FeCl_3 (0.2%) (0.02g de FeCl_3 dans 10ml de H_2O) suivie par l'observation a l'œil nu et sous UV.

2.2.3 Les activités enzymatiques**I Activité anticholinestérase**

L'acétylcholine est un neurotransmetteur principalement inhibé par l'acétylcholinestérase (AChE) puis par la butyrylcholinestérase (BChE) et on pense qu'il est impliqué dans la maladie d'Alzheimer (perte progressive de mémoire et les cellules nerveuses se détraquent progressivement, surtout celles fabriquant de l'acétylcholine) [184], Les deux enzymes sont présentes dans le cerveau et sont détectées entre les enchevêtrements neurofibrillaires et les plaques amyloïdes [185], [186].

L'activité anticholinestérase des extraits de la plante (*Asphodelus* < espèce>) est effectuée par l'inhibition de l'enzyme butyrylcholinestérase.

a Inhibition de la butyrylcholinestérase

❖ Principe

La butyrylcholinestérase est une enzyme a la capacité d'hydrolyser la butyrylcholine et même l'acétylcholine mais moins efficace et spécifique que l'acétylcholinestérase, Il joue un rôle important dans le métabolisme des composés contenant des esters et peut également remplacer l'acétylcholinestérase dans la dégradation de l'acétylcholine [187].

L'inhibition de cette enzyme accroisse la concentration de la butyrylcholine, on pense qu'il s'agit d'un traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer [186]. Cette inhibition peut évaluer L'activité butyrylcholinestérase, cette dernière a été déterminée par la méthode d'Ellman [188].

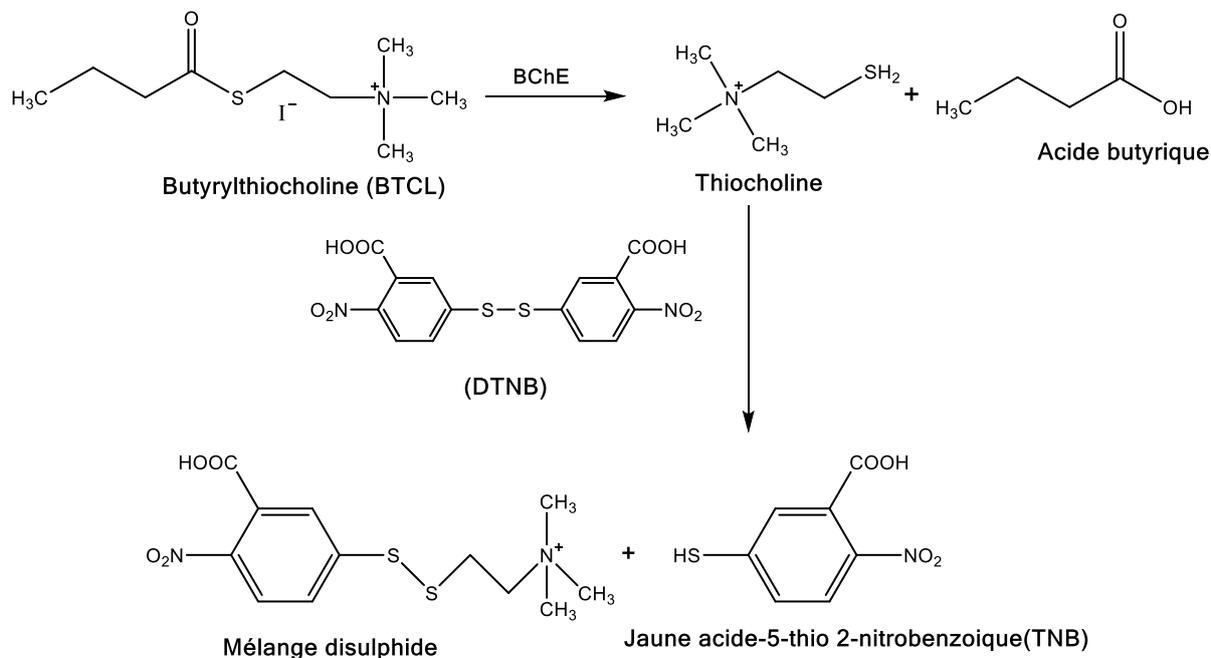


Figure 23 : Mécanisme chimiques de la méthode d'Ellman [188].

❖ Protocole

L'activité antibutyrylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman en 1961 [188], avec une légère modification.

Préparation des solutions réactionnelles suivantes :

- Solution tampon : est un mélange entre (8,890 g Na_2HPO_4 + 500 ml H_2O) et (1,56 g NaH_2PO_4 + 100 ml H_2O), après on prendre deux volumes ($V_1=15,9$ ml de NaH_2PO_4 + $V_2=283,5$ ml de Na_2HPO_4) pour obtenir une solution tampon sodium phosphate de buffer avec un pH=8.
- Solution de DTNB (Acide 5,5-dithiobis 2-nitrobenzoïque): on mélange 16 mg DTNB avec 1 ml (pH=7) + 7,5 mg NaHCO_3 avec 1 ml (pH=7) + 2 ml (pH=7) + 4 ml (pH=8), à la fin on obtenir un volume total de 8 ml.
- Solution de substrat BCI(S-Butyrylthiocholine iodide): 4 mg BCI avec 4 ml H_2O +4 ml Tampon (pH =8).
- Solution de l'enzyme BChE (butyrylcholinestérase) : 0,2 mg BChE + 1 ml (PH=8) pour donner la solution B, après on met 20 μl de la solution B dans 20 éppendorfs et on prend un seul éppendorf qui contient 20 μl de la solution B et on ajoute 2 ml de pH=8 et à la fin contrôlé l'absorbance à 412 nm.

Dans des microplaques à 96 puits on verse : 150 μl de sodium phosphate buffer (pH 8.0) (100 mM) et on l'ajoute 10 μL d'extrait à déférentes concentrations et fini par 20 μl de solution BChE ($6,85 \times 10^{-3}$ U). Met le tout dans l'étuve pour l'incubation pendant 15 min à une température de 25°C.

Après l'incubation 10 μL de DTNB (0.5 mM) a été ajoutés, la réaction d'hydrolyse est commencée lorsqu'on a ajouté 10 μl de solution de substrat BCI (Butyrylthiocholine chloride) (0.2 mM). En fin la formation d'une couleur jaune d'anion 5-thio-2-nitrobenzoate de méthyle, résultante de la réaction du DTNB avec la thiocholine libérée par l'hydrolyse enzymatique de BCI.

La lecture est à 412 nm dans un spectrophotomètre de microplaques dans deux temps ($t=0$) avant la réaction et ($t=15$ min) après la réaction.

Le standard utilisé dans les mêmes conditions réactionnelles est : la galanthamine.

Pourcentage d'inhibition

L'activité anticholinestérase a été appréciée comme un pourcentage d'inhibition (%). Les résultats sont exprimés en IC_{50} .

IC₅₀ : la concentration inhibitrice de l'extrait à éliminer 50% des radicaux ABTS dans la solution réactionnelle (si IC₅₀ est plus faible, l'activité est plus élevée et meilleure).

$$\text{PI (\% BChE)} = \frac{A (\text{contrôle}) - A (\text{extrait})}{A (\text{contrôle})} \times 100$$

A (contrôle) : est l'absorbance de la réaction sans extrait (du blanc).

A (extrait) : est l'absorbance de la réaction après avoir ajouté l'extrait.

2.2.4 Les tests de toxicité et cytotoxicité

I Test de toxicité sur les vers de farine *Tenebrio Molitor*

a Principe

Après une expérimentation préliminaire avec plusieurs modèles d'arthropodes, les larves de vers de farine ont été sélectionnées car elles sont facilement disponibles, résistantes et relativement petites. *Tenebrio Molitor* (aussi appelé le ver de farine) est le premier choix pour l'élevage d'insectes grâce à sa nature élevée en protéines, de son profil équilibré en acides aminés [189], avantages potentiels pour la santé [190]–[192] et capacité à vivre de sous-produits organiques et production de masse disponible. Les vers de farine peuvent être élevés uniquement sur du son de blé, mais des matières organiques supplémentaires telles que des pommes de terre, des carottes et du chou sont souvent ajoutées à l'alimentation pour fournir des nutriments importants [193].

Cependant, peu d'études se sont concentrées sur les suppléments riches en antioxydants. Les insectes ont un système respiratoire trachéal, qui fournit de l'oxygène directement aux tissus, ce qui entraîne des niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène. Par conséquent, les insectes sont exposés au stress oxydatif et peuvent nuire à la croissance, au développement, à la survie et à la fertilité [194], [195].

L'objectif de cette étude était d'examiner si les extraits de la plante *asphodelus* comme source d'antioxydants sont toxique ou peuvent améliorer la performance de croissance, la composition des nutriments et l'activité antioxydante des larves de vers de farine [196].

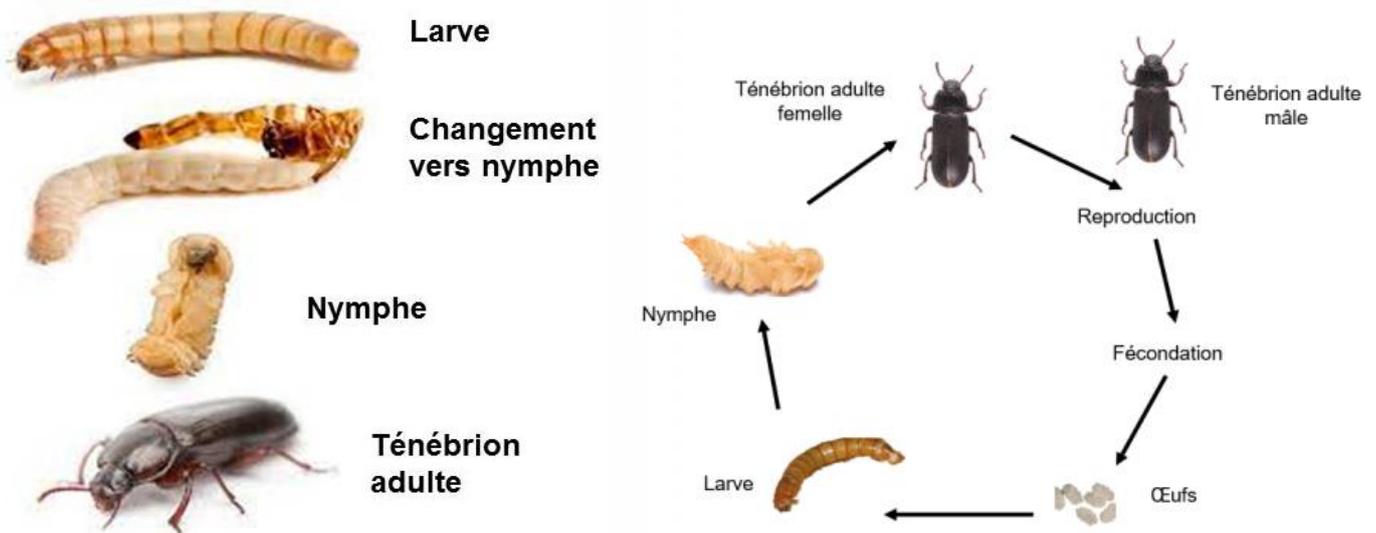


Figure 24 : image montre les différentes étapes de cycle de développement de vers de farine *Tenebrio Molitor* [197].

b Protocole

Cette méthode est prise de Van Der Valk et al, 2014 avec une légère modification [196].

On prépare les extraits et les larves de *Tenebrio Molitor* (même poids des larves pour chaque extrait).

Des solutions des extraits acétate (Ext D) et butanolique (Ext E) et bulbes (Ext F) de la plante *asphodelus* ont été injectées avec un volume de 3 µl à l'aide d'une seringue Hamilton de 10 µl. Les injections ont été faites caudalement dans la face ventrale des larves, latéralement à la ligne médiane, parceque cela permet d'éviter les organes les plus essentiels.

Ensuite, les larves ont été incubées à température ambiante pendant 15 jours. La mortalité a été jugée par la décoloration des larves. Cinq larves ont été utilisées pour chaque extrait.

II Test de cytotoxicité sur les larves de crevette *Artemia Salina*

a Principe

Artemia Salina (aussi appelé larve de crevette) est une espèce fait partie des arthropodes sous la classe de Crustacés [198], elle est caractérisé par sa forme

allongé qui contienne dix-neuf segments et onze paires d'appendices plates liées à son tronc. Les larves de crevettes se retrouvent dans les milieux hypersalées et à température varie entre 6°C et 37°C, ces conditions les stimulent sa prolifération et sa croissance [199].

L'essai de mortalité chez la crevette saumâtre (*Artemia salina*) est rapide et ne nécessite que des ressources minimales, sa qualité de test de remplacement ou de substitution aux tests de mortalité ou de nécrose, plus difficiles sur le plan technique et éthique, est limitée par le manque de données [200].

L'objectif de cette étude était d'examiner si les extraits de la plante *asphodelus* sont toxique ou bien non sur ses larves de crevettes (*Artemia Salina*), en basant sur nombreuses études adoptaient l'utilisation d'essais de cytotoxicité d'extraits de plantes contre les artémias comme tests d'activité cytotoxique [201].

b Protocole

L'activité Cytotoxique utilisant les larves d'Artémia est déterminée par la méthode de Meyer, B.N (1982) [202] avec une légère modification.

Les extraits ont été préparés par la dissolution de quantité de 4 mg des extraits dans la solution méthanol/eau de mer dont les volumes sont 50µl et 950µl respectivement pour avoir un pourcentage de MeOH de 0,05%.

Un volume de 100 µl d'une solution contenant vingt larves suivie par l'ajout de 80 µl de l'eau de mer et finit par 20 µl de l'extrait avant l'incubation pendant 24 heures dans un lieu bien éclairée. Le test a été réalisé avec quatre répétitions et un contrôle (en remplaçant l'extrait par le méthanol 0,05%) comme suite :

Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03
Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03
Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03
Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03	Rep 01	Rep 02	Rep 03
contrôle	contrôle	contrôle	contrôle	contrôle	contrôle	contrôle	contrôle	contrôle
e	e	e	e	e	e	e	e	e
Extrait acétate d'éthyle			Extrait n-butanolique			Extrait de bulbes		

Le bichromate de potassium est utilisé comme standard.

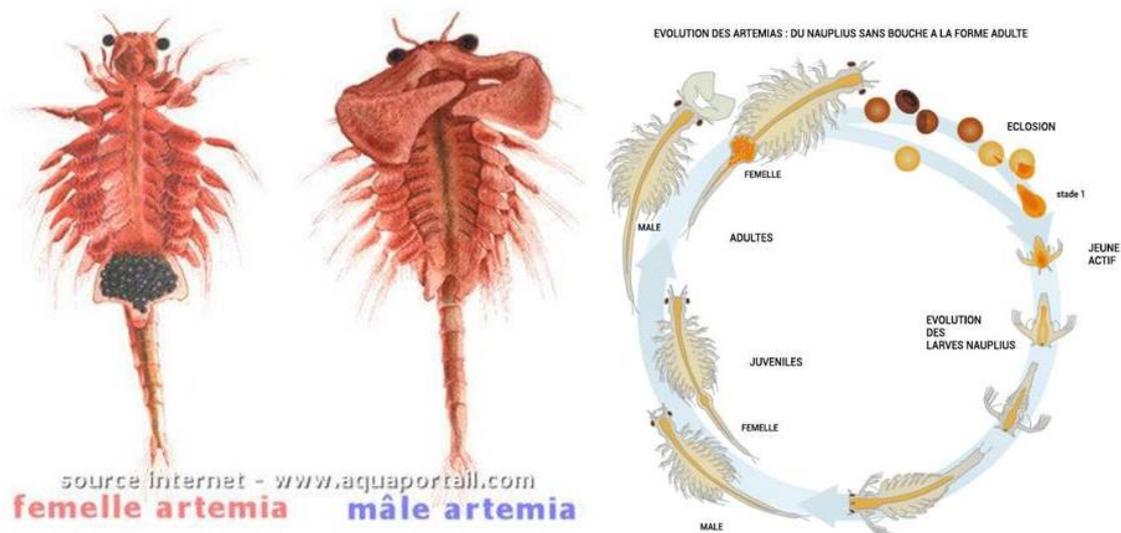


Figure 25 : cycle de vie d'*Artemia salina* mâle et femelle [203].

2.2.5 Les activités anti-inflammatoires *in vitro*

I La méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

Cette méthode a été basée sur l'utilisation de sang et particulièrement les globules rouges pour l'étude sur ses membranes. Parce qu'il ressemble à la membrane lysosomale, peut être envisagé pour stabiliser la membrane lysosomale. Sa stabilisation par un médicament ou par des échantillons peut être vue comme une mesure de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*.

L'activité empêchant de l'hémolyse des globules rouges des extraits de *Asphodelus* a été évaluée en utilisant des globules rouges des rats *Wistar*, elle est causée par deux stressés un osmotique et l'autre thermique. Lorsque les globules rouges sont exposés à des concentrations de sels hypotoniques et à la chaleur, le contenu cytoplasmique hémoglobine a été libéré à la suite d'une rupture de la membrane.

a Préparation de la suspension des globules rouges

Selon la méthode d'Abe et al avec une légère modification [204].

- un prélèvement sanguin au niveau de la veine porte des rats *Wistar albinos* suivie par le mis dans les tubes héparinés pour empêcher la coagulation.
- centrifugation des tubes obtenus à 1300 g pendant 10 min à 4°C pour la séparation des hématies du sang aux autres constituants sanguins.
- juste après la centrifugation, le surnageant a été retiré, suivie par le lavage de culot avec de l'eau physiologique (0,9 % NaCl) trois fois consécutifs où à chaque fois on centrifuge pendant 5 min à une vitesse de 1300 g à la centrifugeuse réfrigérée jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair.
- avec du tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl), la suspension de 10 % (v/v) des érythrocytes a été préparée en mesurant le volume des globules rouges.

b Test de l'innocuité des extraits vis-à-vis des globules rouges

Le test de l'innocuité sur les cellules érythrocytaires est nécessaire pour cibler les concentrations utilisées avant d'examiner les propriétés de stabilisation membranaire des extraits d'acétate d'éthyle, n-butanolique et les bulbes de l'*asphodelus*.

❖ Protocole

- des concentrations variantes de 0 à 8 mg/ml des extraits d'acétate d'éthyle, n-butanolique et les bulbes ont été préparées dans un tampon phosphate salin (pH 7,4 ; 0,9% NaCl). Tous les volumes ont été mis dans des tubes à essais.
- 400 µl de la suspension à 10 % de globules rouges préparés précédemment ont été ajoutée à un volume de 1,6 ml des extraits à différentes concentrations, suivie par l'incubation de ce mélange à 37°C pendant 30 min, puis centrifugé à 1300g pendant 10 min.
- selon la même méthode, le contrôle a été préparé par l'ajout de 0,4 ml de la suspension 10 % à un volume 1,6 ml de l'eau distillé ou l'eau physiologique à la place de l'extrait où l'hémolyse est à 100 % pour un but de comparer avec les extraits.
- selon la même méthode, le blanc a été préparé pour chaque concentration des extraits et standards de références pour le but d'éliminé l'absorbance de l'extrait et du PBS des résultats, cette méthode a été faite par l'ajout de 1600 µl de différentes

concentrations des échantillons à tester à un volume de 400 µl de tampon phosphate salin (PBS pH 7,5 ; 0,9 % NaCl).

- L'absorbance de surnageant après la centrifugation a été mesurée à une longueur d'onde de 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le diclofénac est utilisé comme molécule de référence dans cette expérience.

- Les résultats sont sous forme d'un pourcentage d'hémolyse, calculé comme suit :

Pourcentage d'hémolyse %

$$\text{(\% d'hémolyse)} = \frac{A (\text{échantillon}) - A (\text{blanc})}{A (\text{contrôle}) - A (\text{blanc})} \times 100$$

A (échantillon) : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).

A (contrôle) : Absorbance du contrôle (100 % d'hémolyse).

A (blanc) : Absorbance de l'extrait.

c La méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges :

Cette activité a été déterminée par la méthode de Ganesh et al, 2013 [205].

Cette étude est basée sur l'effet des différents extraits de la plante *asphodelus* sur la stabilisation des érythrocytes après l'induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à des températures élevées.

❖ Protocole

- Dans des tubes à essais, un volume de 0,5 ml d'extraits d'acétate d'éthyle, n-butanolique et de bulbes (préparés dans NaCl 0,9%) a été ajouté à un volume de 1.5 ml du tampon phosphate (0,15 M, pH 7,4) suivie par l'ajout de 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0,36 %). Le mélange a été incubé à une température de 37 °C pendant 20 min.

- Juste après l'incubation, un volume de 0,5 ml de la suspension des érythrocytes à 10 % a été additionné dans chaque tube, joint d'une incubation, à une température un peu élevée égale à 56 °C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau de robinet pendant 20 min pour refroidir les tubes.

- une fois la réaction arrête, les tubes ont été centrifugés, à 1300g pendant 5 min dans la centrifugeuse réfrigérée.
- le contrôle comprend en un mélange de 2 ml de la solution hyposaline, 2 ml du tampon PBS, 0,5 ml de la suspension de globules rouges et 0,5 ml d'eau physiologique.
- l'acide gallique est utilisé comme molécule standard de traitement in vitro des activités anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait.
- le blanc est préparé pour le but de l'élimination l'absorbance de l'extrait pour chaque concentration soit d'extrait ou de standard et du PBS des résultats.
- la lecture d'absorbance du surnageant est faite à une longueur d'onde à 560 nm dans un spectrophotomètre.
- Les résultats sont sous forme d'un pourcentage d'hémolyse, calculé comme suit :

Pourcentage d'hémolyse %

$$\text{(\% d'hémolyse)} = \frac{A(\text{échantillon}) - A(\text{blanc})}{A(\text{contrôle}) - A(\text{blanc})} \times 100$$

A (échantillon) : Absorbance de l'échantillon ou standard (test).

A (contrôle) : Absorbance du contrôle (100 % d'hémolyse).

A (blanc) : Absorbance de l'extrait.

2.2.6 Analyses statistiques

- ✚ Les histogrammes et les tableaux sont tracés par le Microsoft Excel 2010.
- ✚ Les résultats des tests anti-inflammatoires effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type.
- ✚ Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

- ✚ Les valeurs d' $A_{0.5}$ (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [Absorbance= f (concentrations)].

CHAPITRE 03 :

Résultats et discussions

1. Les résultats et discussions des activités biologiques

1.1 Les activités antioxydantes

Divers extraits botaniques sont des sources d'antioxydants et plusieurs tests ont été faits pour évaluer la capacité antioxydante de ces différents extraits. Dans notre expérience, on a utilisé cinq méthodes différentes pour évaluer l'activité antioxydante de trois extraits (acétate d'éthyle=Ext D, bulbes=Ext F et l'extrait butanolique=Ext E) de la plante *Asphodelus*. Les standards utilisés comme contrôle positifs sont : le BHA, BHT, acide ascorbique, alpha-tocophérol et trolox.

1.1.1 L'activité de piégeage de radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait sur le radical DPPH^{•+} a été estimée par spectrophotométrie à 517 nm après réduction de ce radical. Cela implique un changement de couleur du violet au jaune.

Les résultats (**tableau 10**, **figure 27**, **figure 26**) ont été comparés aux standards BHA et BHT.

Tableau 10 : inhibition de DPPH par les extrais de l'asphodelus.

Extraits	Pourcentage Inhibition (%) de DPPH							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC50 µg/ml
Ext E	11,44±	25,48±	46,27±	76,65±	83,26±	84,75±	Sat	59,13±
	1,42	1,61	0,82	1,72	0,65	0,51		1,23
Ext F	3,68±	9,55±	20,08±	38,10±	60,18±	71,11±	76,17±	157,11±
	0,51	0,82	1,35	1,97	0,77	1,02	0,31	4,23
BHA	76,55±	79,89±	81,73±	84,18±	87,13±	89,36±	90,14±	6.14±
	0,48	0,26	0,10	0,1	0,17	0,19	0,00	0.41
BHT	49,09±	72,63±	88.73±	94.00±	94.97±	95.38±	95.02±	12.99±
	0,76	2,06	0,89	0,31	0,08	0,41	0,23	0.41
α-Tocophérol	37,21±	81,53±	89,23±	89,38±	89,45±	89,99±	89,52±	13.02±
	1,82	1,51	0,12	0,19	0,22	0,23	0,33	5,17
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC50 µg/ml
Ext D	7,25±	15,38±	37,06±	60,50±	77,94±	84,19±	84,44±	10,47±
	1,15	0,66	1,15	1,03	1,10	2,06	1,50	0,53

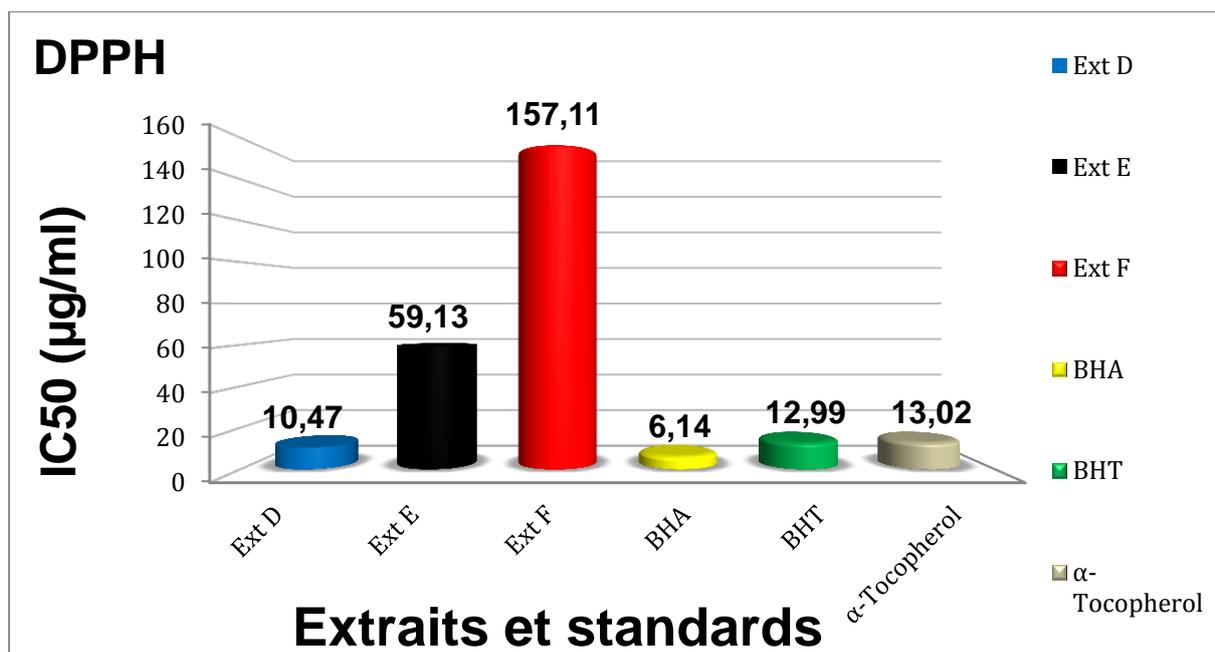


Figure 26 : histogrammes montre les valeurs de l'IC50 de test DPPH.

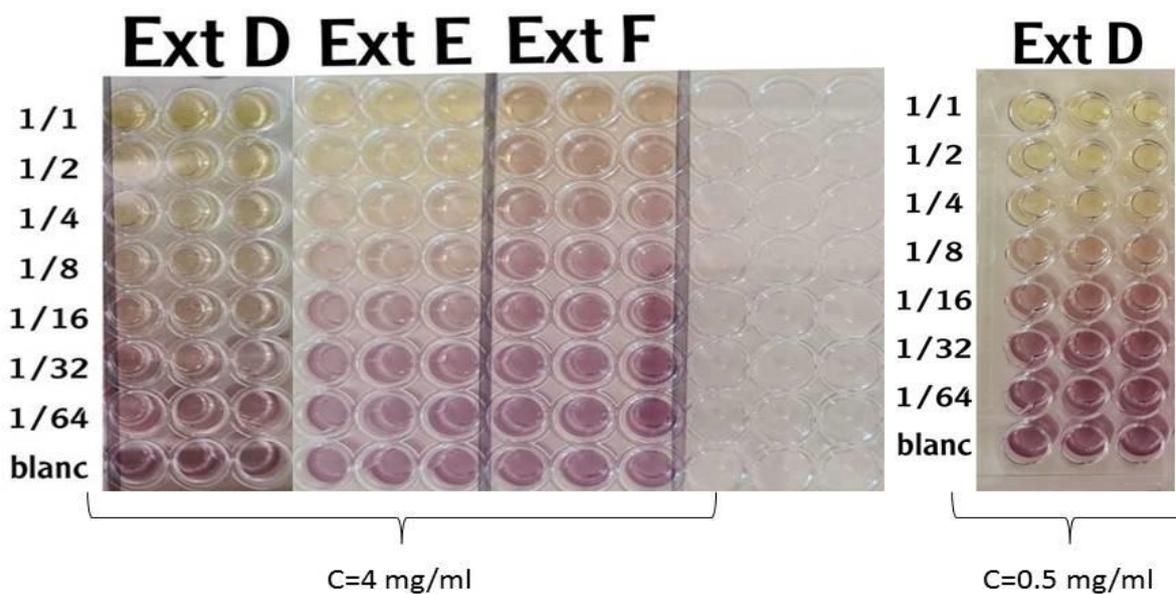


Figure 27 : résultats du test DPPH sur microplaques.

Les résultats de DPPH montrent que l'Ext D ($IC_{50} = 10,47 \pm 0,53 \mu\text{g/ml}$) a l'activité anti-radicalaire la plus élevée par rapport au Ext E ($IC_{50} = 59,13 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$) qui est plus fort que Ext F ($IC_{50} = 157,11 \pm 4,23 \mu\text{g/ml}$). Cet extrait acétate (Ext D) est plus fort que BHT ($IC_{50} = 12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$) et faible presque deux fois que BHA ($IC_{50} = 6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$). Alor l'Ext D'acétate=D a une très bonne activité antioxydante par rapport aux standards.

1.1.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

En existence d'un antioxydant, se fait la formation de ABTSH⁺ à partir de l'ABTS^{•+} en piégeant un H[•], ce qui enlève la coloration bleue turquoise de la solution. L'absorbance a une longueur d'onde de 734 nm.

Les résultats (tableau 11, figure 29, figure 28) ont été comparés aux standards BHA et BHT.

Tableau 11 : inhibition de l'ABTS^{•+} par les extrais de l'asphodelus.

Extraits	Pourcentage Inhibition % de l'ABTS							
	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC50 µg/ml
Ext E	13,22± 0,85	26,25± 1,42	51,00± 0,61	81,89± 0,83	90,82± 0,31	92,12± 0,35	92,66± 0,26	48,92± 0,84
Ext F	12,87± 0,26	21,16± 1,10	35,58± 2,43	57,14± 1,51	81,54± 0,48	90,27± 0,98	Sat	89,34± 5,65
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC50 µg/mL
Ext D	9,05± 3,09	16,72± 3,70	38,14± 1,24	64,66± 3,09	82,65± 0,75	87,69± 0,20	90,09± 0,26	9,29± 0,87
BHT	49.22± 0.75	59.22± 0.59	78.55± 3.43	90.36± 0.00	92.18± 1.27	93.37± 0.86	94.87± 0.87	1.59± 0.03
BHA	83.42± 4.09	93.52± 0.09	93.58± 0.09	93.63± 0.16	93.63± 0.95	94.20± 0.90	95.39± 2.62	1.03± 0.00
	0,39062 5 µg	0,78125 µg	1,5625 µg	3,125 µg	6,25 µg	12,5 µg	25 µg	IC50 µg/ml
ACG	14,00± 1,18	18,37± 0,61	25,80± 2,23	42,83± 1,37	62,06± 1,18	88,46± 0,47	91,49± 0,27	4,26± 0,19

Sat: saturé

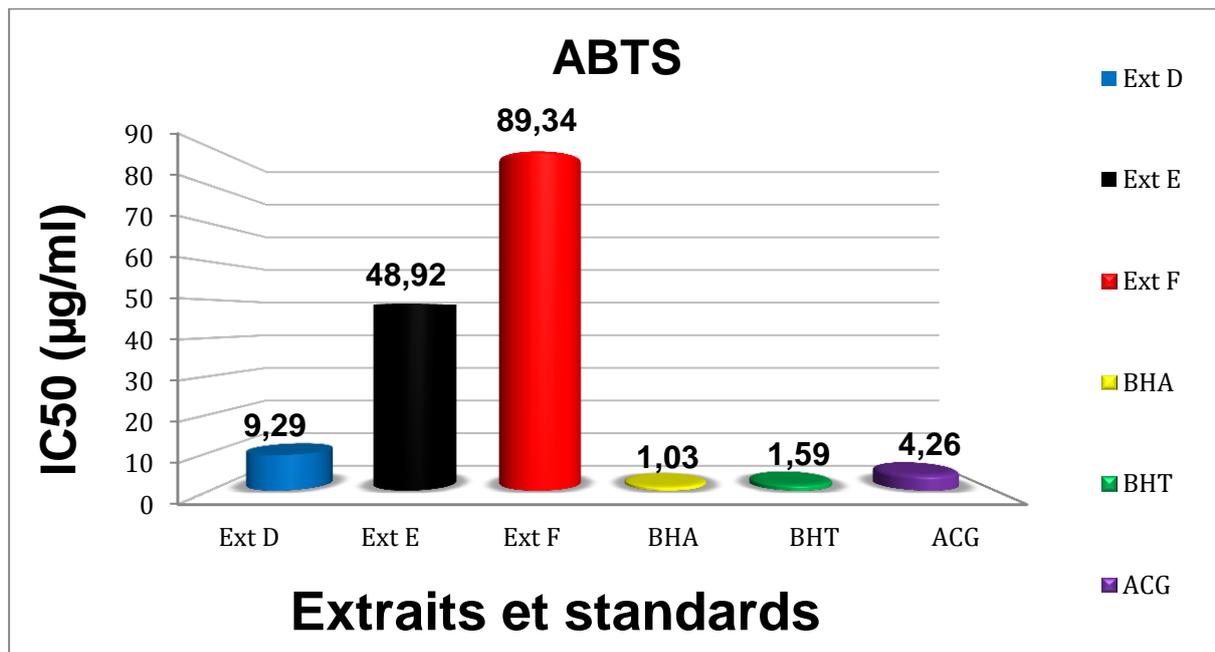


Figure 28 : histogrammes montre les valeurs de l'IC50 de test ABTS.

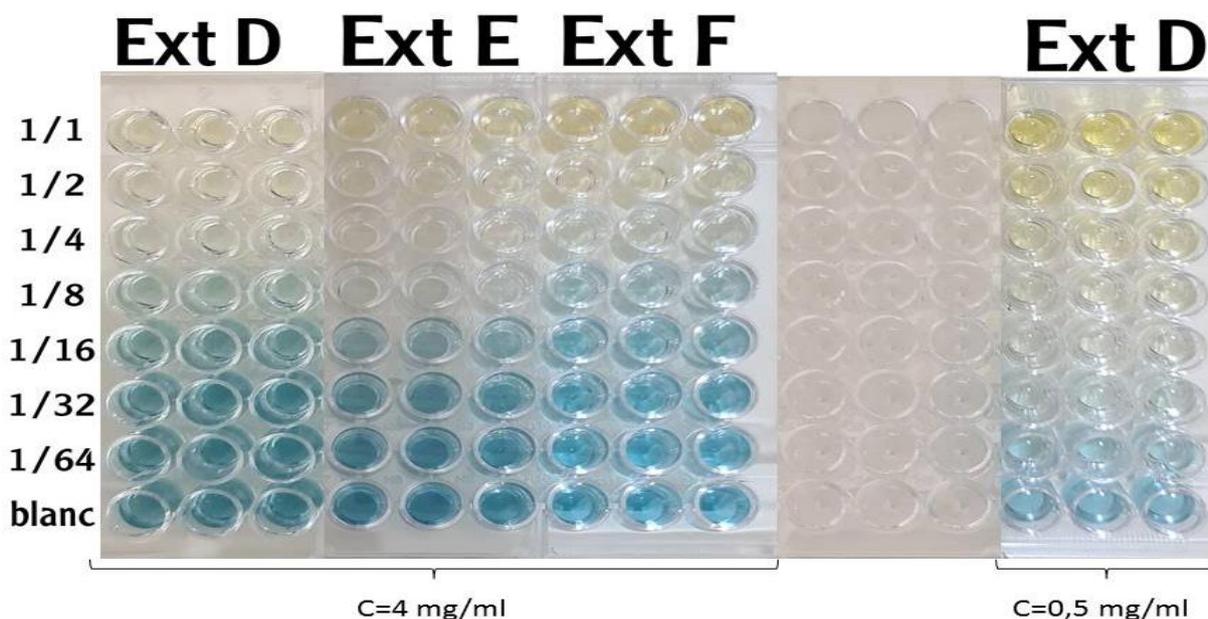


Figure 29 : résultats du test ABTS sur microplaques.

Les différents résultats de ce test illustrent que l'Ext D a une forte capacité de piéger le radical ABTS ($IC_{50}=9,29\pm 0,87 \mu\text{g/ml}$), suivie par l'Ext E ($IC_{50}=48,92\pm 0,84 \mu\text{g/ml}$) et ensuite l'Ext F ($IC_{50}=89,34\pm 5,65 \mu\text{g/ml}$) qui ont une faible activité en comparant avec les valeurs des références, cet extrait acétate Ext D est faible six fois que BHT ($IC_{50}=1.59\pm 0.03 \mu\text{g/ml}$) et neufs fois que BHA ($IC_{50}=1.03\pm 0.00 \mu\text{g/ml}$) et

deux fois que ACG=acide chlorogénique ($IC_{50}=4,26\pm 0,19 \mu\text{g/ml}$) . Alor l'extrait D a une bonne activité antioxydante.

1.1.3 Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP)

FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique) est un test repose sur l'évaluation de la compatibilité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{2+}) de coloration bleue verte. Les absorbances sont à 700 nm.

Les résultats (**tableau 12**, **figure 31**, **figure 30**) ont été comparés avec les standards α -Tocopherol et l'acide ascorbique.

Tableau 12 : les absorbance du pouvoir réducteur par les extraits de l'asphodelus.

Extraits	Absorbances de FRAP							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	$A_{0.5}$ $\mu\text{g/ml}$
Ext D	0,06± 0,01	0,08± 0,02	0,10± 0,02	0,19± 0,04	0,40± 0,09	0,60± 0,00	0,62± 0,07	73,91± 1,66
Ext E	0,05± 0,00	0,07± 0,00	0,11± 0,04	0,17± 0,08	0,41± 0,01	0,51± 0,05	0,65± 0,03	89,67± 1,81
Ext F	NA	NA	0,04± 0,00	0,05± 0,02	0,08± 0,01	0,22± 0,03	0,38± 0,08	>200
Acide ascorbique	0,35± 0,05	0,46± 0,03	0,84± 0,12	0,93± 0,30	1,18± 0,34	1,37± 0,20	1,44± 0,21	6,77± 1,15
α -Tocopherol	0,11± 0,00	0,16± 0,00	0,21± 0,03	0,35± 0,03	0,73± 0,03	1,37± 0,08	1,81± 0,09	34,93± 2,38
	0,78125 μg	1,5625 μg	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	25 μg	50 μg	$A_{0.5}$ $\mu\text{g/ml}$
ACG	0,06± 0,01	0,07± 0,01	0,07± 0,01	0,09± 0,04	0,09± 0,01	0,13± 0,08	0,27± 0,07	18,83± 1,21

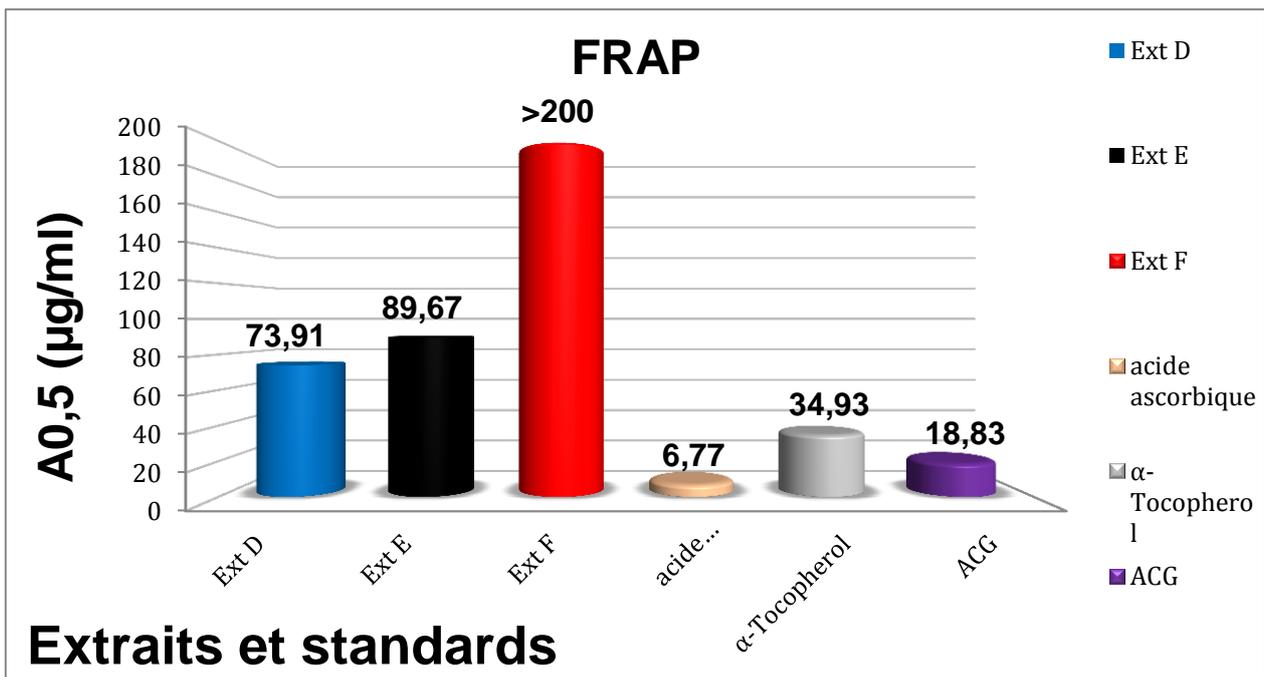


Figure 30 : histogrammes montre les valeurs de l'IC50 de test FRAP.



Figure 31 : résultats du test ABTS sur microplaques.

Les résultats de test pouvoir réducteur montrent que l'extrait D a le meilleur résultat d'absorbance ($A_{0,5}=73,91\pm 1,66 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux extraits Ext E et Ext F, qui ont les absorbances suivantes respectivement ($A_{0,5}= 89,67\pm 1,81 \mu\text{g/ml}$), ($A_{0,5} >200 \mu\text{g/ml}$).cet extrait est presque incomparable avec le standard acide ascorbique

($A_{0,5} = 6.77 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$) qui plus fort approximativement dix fois, mais elle est faible deux fois seulement par rapport au standard α -Tocopherol ($A_{0,5} = 34.93 \pm 2.38 \mu\text{g/ml}$) et faible quatre fois par rapport au acide chlorogénique ($A_{0,5} = 18,83 \pm 1,21 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats sont peut-être à cause de la présence de substances donneuses d'électron.

1.1.4 Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phenanthroline

C'est une activité simple basée sur la formation d'un complexe sous le nom de ferroïne = Fe²⁺-phenanthroline à partir du fer aqueux sous sa forme ferreuse réduite (Fe²⁺), il est de couleur rouge-orangée foncé. Son absorbance à 510 nm.

Les résultats (tableau 13, figure 33, figure 32) ont été comparés avec les standards BHA et BHT.

Tableau 13 : les absorbances du Fe²⁺-Phenanthroline par les extraits de l'asphodelus.

Extraits	Absorbances de Phenanthroline							
	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	IC50 $\mu\text{g/ml}$
Ext D	0,56± 0,01	0,64± 0,03	0,81± 0,04	1,15± 0,05	1,74± 0,12	2,79± 0,11	3,85± 0,13	<3,125
Ext E	0,48± 0,01	0,48± 0,02	0,58± 0,03	0,67± 0,02	0,88± 0,03	1,35± 0,03	2,39± 0,13	6,26± 0,10
Ext F	0,26± 0,01	0,27± 0,02	0,45± 0,09	0,56± 0,01	1,07± 0,05	0,90± 0,00	1,31± 0,06	19,39± 1,46
	0.78125 μg	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	$A_{0,5}$ $\mu\text{g/mL}$
BHA	0,49± 0,01	0,59± 0,01	0,73± 0,02	0,93± 0,01	1,25± 0,04	2,10± 0,05	4,89± 0,06	0,93± 0,07
BHT	0,47± 0,01	0,47± 0,01	0,53± 0,03	1,23± 0,02	1,84± 0,01	3,48± 0,03	4,84± 0,01	2,24± 0,17
	0,09765 625	0,19531 25	0,39062 5	0,78125	1,5625	3,125	6,25	$A_{0,5}$ $\mu\text{g/mL}$
ACG	0,28± 0,00	0,29± 0,00	0,30± 0,00	0,33± 0,01	0,38± 0,00	0,43± 0,01	0,60± 0,06	4,49± 0,43

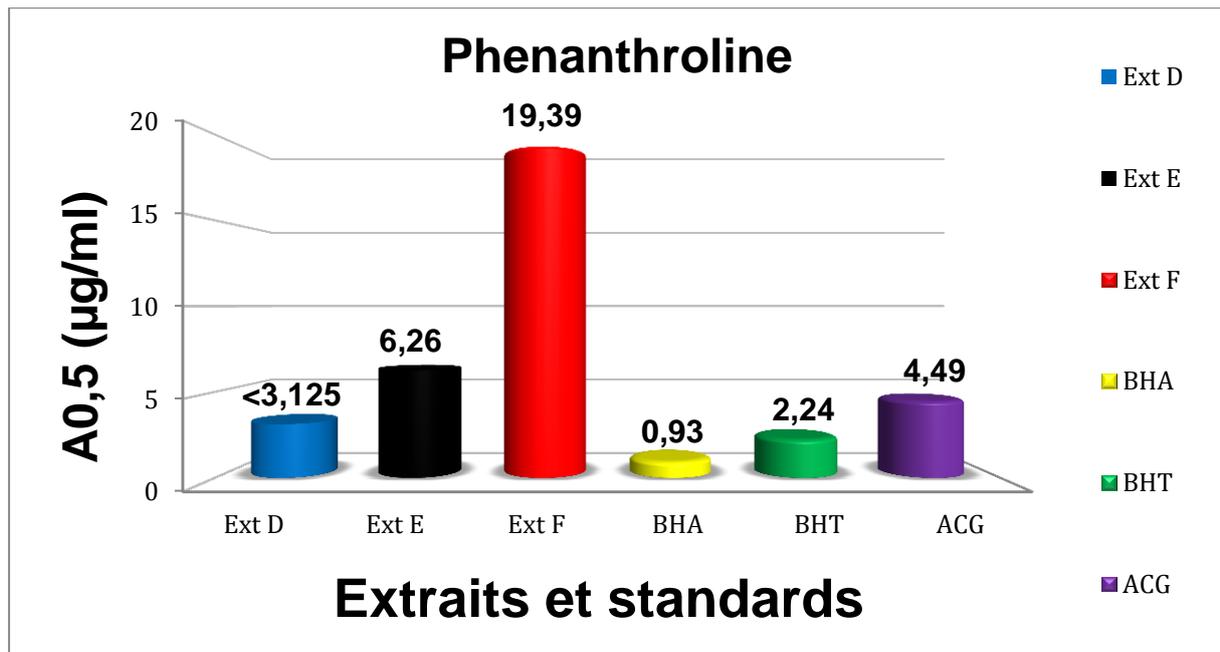


Figure 32 : histogrammes montre les valeurs des absorbances de test Phenanthroline.



Figure 33 : résultats du test Phenanthroline sur microplaques.

Les résultats de test Phenanthroline montrent que le meilleur résultat d'absorbance est de l'extrait D ($A_{0,5} < 3,125 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux extraits Ext E ($A_{0,5} = 6,26 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) et Ext F ($A_{0,5} = 19,39 \pm 1,46 \mu\text{g/ml}$). Cet extrait est faible trois fois et demi que le standard BHA ($A_{0,5} = 0,93 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$), et faible 1,5 fois seulement par

rapport au standard BHT ($A_{0,5}=2,24\pm 0,17 \mu\text{g/ml}$) et il est plus fort que l'acide chlorogénique=ACG ($A_{0,5}=4,49\pm 0,43 \mu\text{g/ml}$). Les résultats de ce test confirment les résultats précédents dans les trois tests.

1.1.5 Activité de SNP (Silver nanoparticles assay)

SNP est une activité basé sur la formation de nanoparticules à partir du sel d'Ag (I) avec le citrate qui est un agent réducteur (il est converti en dicarboxylate d'acétone. Son absorbance est à 423 nm. Les résultats (tableau 14, figure 35, figure 34) ont été comparés avec les standards BHA et BHT.

Tableau 14 : les absorbances du test SNP par les extraits de l'asphodelus.

Extraits	Absorbances de SNP							
	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	400 μg	IC50 $\mu\text{g/ml}$
Ext D	1,91± 0,45	1,38±1, 01	1,89± 0,19	0,37± 0,37	0,58± 0,11	1,21± 0,55	0,82± 0,09	74,03± 8,38
Ext E	0,11± 0,02	0,10± 0,01	0,10± 0,00	0,12± 0,00	0,20± 0,08	0,24± 0,04	0,49± 0,07	>400
Ext F	0,15± 0,08	0,13± 0,04	0,18± 0,09	0,13± 0,02	0,18± 0,03	0,30± 0,05	0,52± 0,02	399,57± 3,26
	1.5625 μg	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	$A_{0,5}$ $\mu\text{g/ml}$
Acide ascorbique	0.24± 0.00	0.32± 0.01	0.45± 0.01	0.75± 0.01	1.22± 0.02	1.90± 0.03	2.35± 0.01	7.14± 0.05
trolox	0.17± 0.00	0.20± 0.01	0.23± 0.00	0.30± 0.01	0.43± 0.01	0.64± 0.03	1.04± 0.01	34.17± 1.23
	0,19531 25 μg	0,39062 5 μg	0,78125 μg	1,5625 μg	3,125 μg	6,25 μg	12,5 μg	$A_{0,5}$ $\mu\text{g/ml}$
ACG	0,29± 0,05	0,26± 0,00	0,28± 0,00	0,33± 0,06	0,32± 0,03	0,39± 0,02	0,54± 0,03	10,79± 1,12

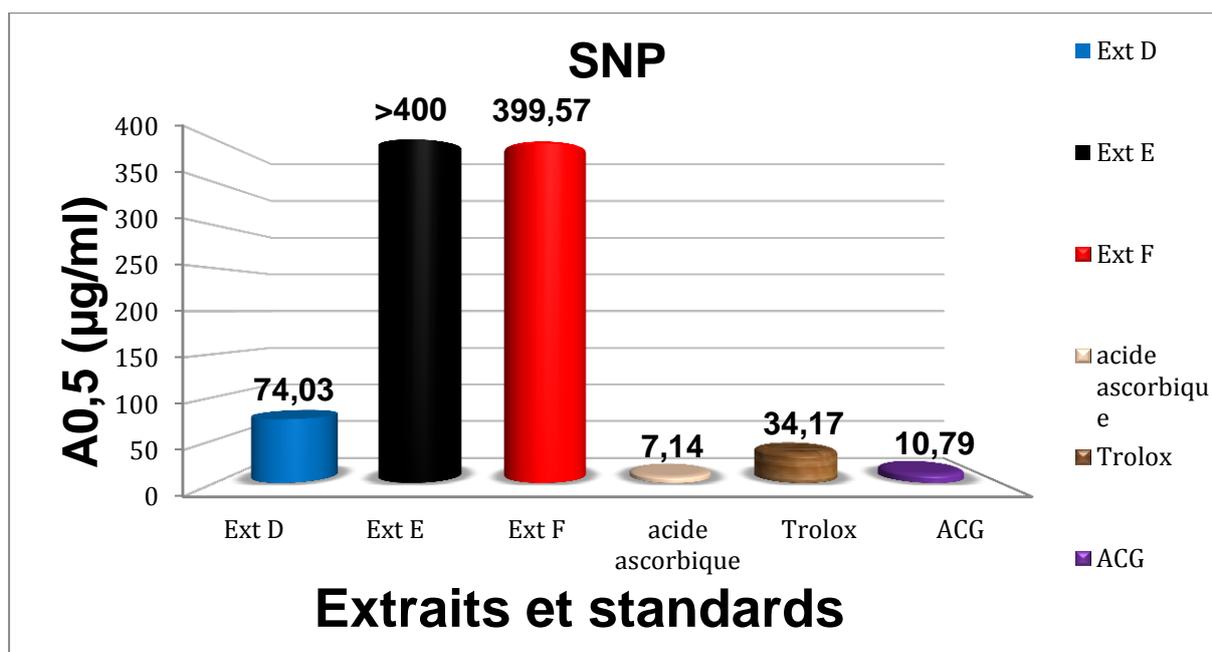


Figure 34 : histogrammes montre les valeurs des absorbances de test Phenanthroline.



Figure 35 : résultats du test SNP sur microplaques.

Les résultats obtenus montrent que tous les extraits ont la capacité de réduire l'Ag⁺ en Ag⁰. D'après ces résultats on peut soustraire que l'extrait Ext D présente le pouvoir réducteur le plus élevé (A_{0,5}=74,03±8,38 µg/ml) par rapport au Ext E (A_{0,5}>400 µg/ml) et Ext F (A_{0,5}=399,57±3,26 µg/ml) qui ont une faible activité, cet Ext D est faible deux fois que standard trolox (A_{0,5}=34.17±1.23 µg/ml) et dix fois que l'acide

ascorbique ($A_{0,5}=34.17\pm 1.23$ $\mu\text{g/ml}$) et faible sept fois par rapport au acide chlorogénique=ACG ($A_{0,5}=10,79\pm 1,12$ $\mu\text{g/ml}$). Ce test confirme les quatre tests précédents et confirment que l'Ext D a une bonne activité antioxydante.

✓ En conclusion à l'aide de ces résultats on peut confirmer que :

- l'extrait acétate (Ext D) de l'*asphodelus* montre une bonne activité anti-radicalaire pour les cinq méthodes antioxydant utilisées dans l'expérimentation (DPPH, ABTS, FRAP, Phenanthroline, SNP), suivie par l'extrait butanolique (Ext E) qui est moins puissant, et suivie par l'extrait du bulbes (Ext F) qui est le dernier extrait concernant l'activité antioxydante.

- Notamment, les extraits étudiés ont le même ordre d'efficacité dans les cinq méthodes, confirmant la connexion entre les méthodes étudiées et les bonnes pratiques expérimentales.

✓ Les IC_{50} et les $A_{0,5}$ des trois extraits pour les cinq méthodes :

➤ DPPH :

-Ext D ($IC_{50} =10,47\pm 0,53$ $\mu\text{g/ml}$).

- Ext E ($IC_{50} =59,13\pm 1,23$ $\mu\text{g/ml}$).

- Ext F ($IC_{50} =157,11\pm 4,23$ $\mu\text{g/ml}$).

➤ ABTS :

- Ext D ($IC_{50}=9,29\pm 0,87$ $\mu\text{g/ml}$).

- Ext E ($IC_{50}=48,92\pm 0,84$ $\mu\text{g/ml}$).

- Ext F ($IC_{50}=89,34\pm 5,65$ $\mu\text{g/ml}$).

➤ FRAP :

- Ext D ($A_{0,5}=73,91\pm 1,66$ $\mu\text{g/ml}$).

- Ext E ($A_{0,5}= 89,67\pm 1,81$ $\mu\text{g/ml}$).

- Ext F ($A_{0,5} >200$ $\mu\text{g/ml}$).

➤ Phenanthroline :

- Ext D ($A_{0,5} < 3,125 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($A_{0,5} = 6,26 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($A_{0,5} = 19,39 \pm 1,46 \mu\text{g/ml}$).

➤ SNP :

- Ext D ($A_{0,5} = 74,03 \pm 8,38 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($A_{0,5} > 400 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($A_{0,5} = 399,57 \pm 3,26 \mu\text{g/ml}$).

1.1.6 Activité antioxydante par la bioautographie

La bioautographie est une technique permet de séparer des constituant et les identifier et déterminé leurs propriétés en basant sur la chromatographie sur couche mince CCM, le phénanthroline a été utilisé comme révélateur de l'activité antioxydante.

Les résultats (**figure 36**) ont été comparés avec le standard acide ascorbique et le BHA.

Plaque CCM par la technique de bioautographie

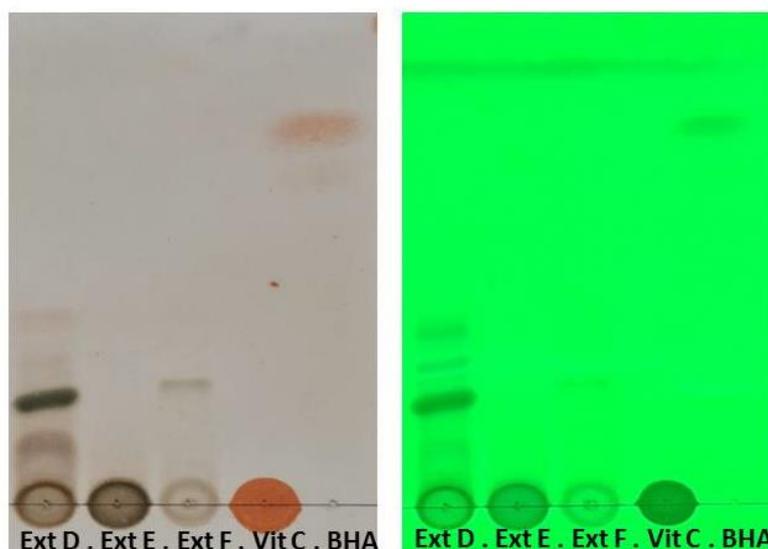


Figure 36 : observation à l'œil nu et sous UV de la plaque CCM de bioautographie.

Les résultats obtenus après révélation de plaque avec une solution de phénanthroline permet d'obtenir des informations supplémentaires sur l'activité antioxydante des différents constituants des extraits Ext D, Ext E, Ext F, acide ascorbique=Vit C et le BHA. L'apparition de tache verte très nettement et marron dans les extraits acétates d'éthyle Ext D et bulbes et un peu dans l'extrait n-butanolique s'interprète la présence de composés actifs compétents de forme le complexe Fe²⁺-phénanthroline ce qui montrent la présence des composés antioxydantes.

Le traitement au phénanthroline des plaques à CCM éluées dans le système solvant (chloroforme/méthanol), révèle quelques fragments ressemblants aux constituants à activité anti-radicalaire, mais ne contient pas de acide ascorbique et BHA en comparant avec les standards à cause de l'absence des taches parallèles. Mais elle existe la possibilité de ces existances.

1.2 Les activités enzymatiques

1.2.1 L'activité anticholinestérase

D'après le test d'Elman qui est basé sur la production de thiocholine par la division de butyrylthiocholine par la butyrylcholinestérase. Ce dernier réagit avec le 5,5'- DTNB pour former un ion jaune, l'évaluation de cette activité reposé sur le changement de cette couleur du jaune vers l'incolore si il y a des inhibiteurs enzymatiques.

Les résultats (**tableau 15**, **figure 37**, **figure 38**) ont été comparés avec le standard Galantamine.

Tableau 15 : inhibition de Butyrylcholinestérase par les extrais de l'asphodelus.

Extraits	Pourcentage de l'inhibition de Butyrylcholinestérase							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
Ext D	NA	NA	NA	NA	NA	17,65±3,03	36,18±2,20	>200
Ext E	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ext F	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
ACG	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Galantamine	3,26± 0,62	6,93± 0,62	24,03± 2,94	45,13± 2,60	63,87± 2,85	73,57± 0,77	78,95± 0,58	34.75±1.99

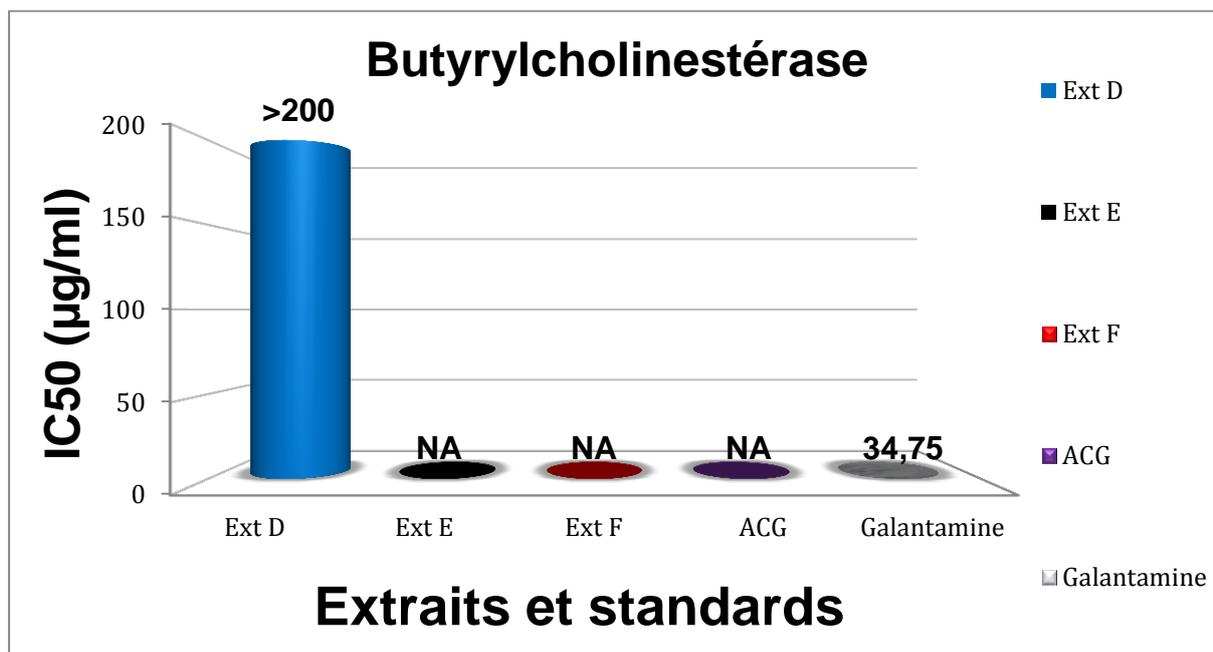


Figure 37 : histogrammes montre les valeurs des IC₅₀ de test butyrylcholinestérase.



Figure 38 : résultats du test butyrylcholinestérase sur microplaques.

A partir des résultats de test de la butyrylcholinestérase par les extraits de l'*asphodelus*, on a vu que l'extrait acétate Ext D a montré une très faible activité contre la BChE (IC₅₀>200 µg/ml), en comparant avec le standard la galantamine (IC₅₀=34,75±1,99 µg/ml) et il est presque incomparable. Par contre les autres extraits

n'ont pas d'activité anticholinestérase, l' IC_{50} des extraits butanolique et bulbes est le même ($IC_{50}=NA$). Alors ils sont inactifs.

1.3 Les tests de toxicité et cytotoxicité

1.3.1 Test de toxicité sur les vers de farine *Tenebrio Molitor*

Cette activité est faite pour examiner la toxicité des extraits de l'*asphodelus* sur des larves de *Tenebrio Molitor*. Cinq larves de même taille ont été utilisées pour chaque extrait, un volume de 3 μ l des extraits a été injecté aux larves dans ces ventres en utilisant une seringue Hamilton.

Les résultats (**tableau 16**, **figure 39**, **figure 41**) ont été comparés avec les standards acide ascorbique et le méthanol (**figure 40**)

Tableau 16 : pourcentage de mortalité des larves *Tenebrio Molitor* après l'injection des extraits de l'asphodelus.

Extraits	Les jours de surveillance sur les larves <i>Tenebrio Molitor</i>															% mortalité	% développement
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Ext D	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	00	20
Ext E	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	20	00
Ext F	5- 0+	5- 0+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	4- 1+	3- 2+	40	00								
Solution H	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	00	00
Solution G	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	5- 0+	00	00

(-) : vivant, (+) : mort : Une larve développée

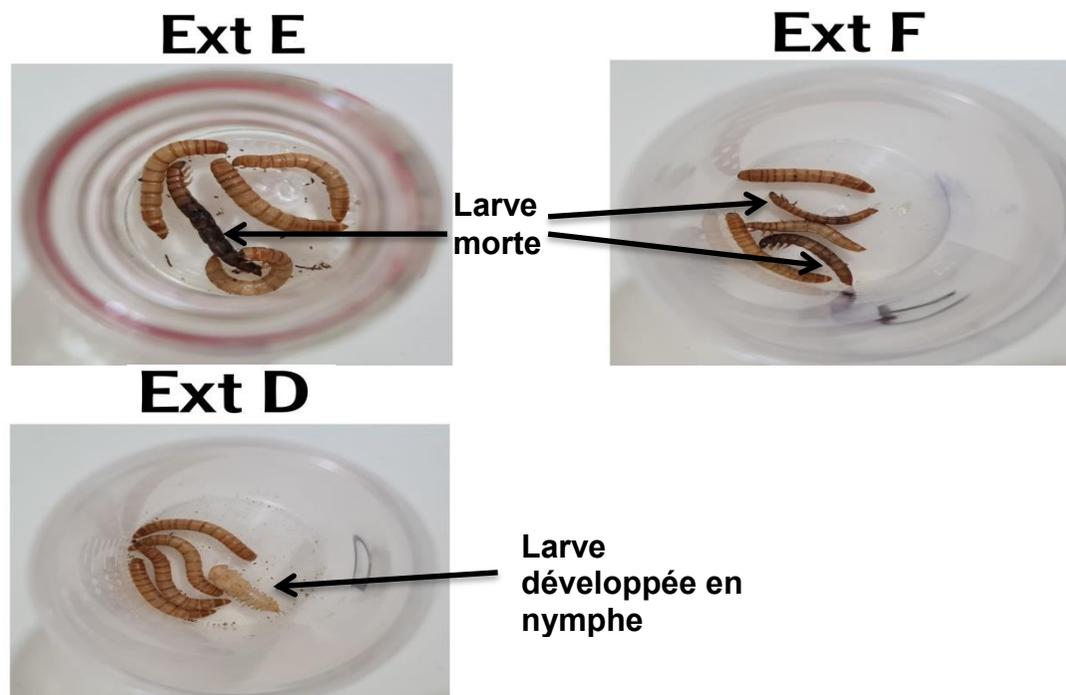


Figure 39 : résultats de larves injectées par déférents extraits de l'asphodelus.

Figure 40 : résultats de larves injectées par déférents extraits de l'asphodelus.

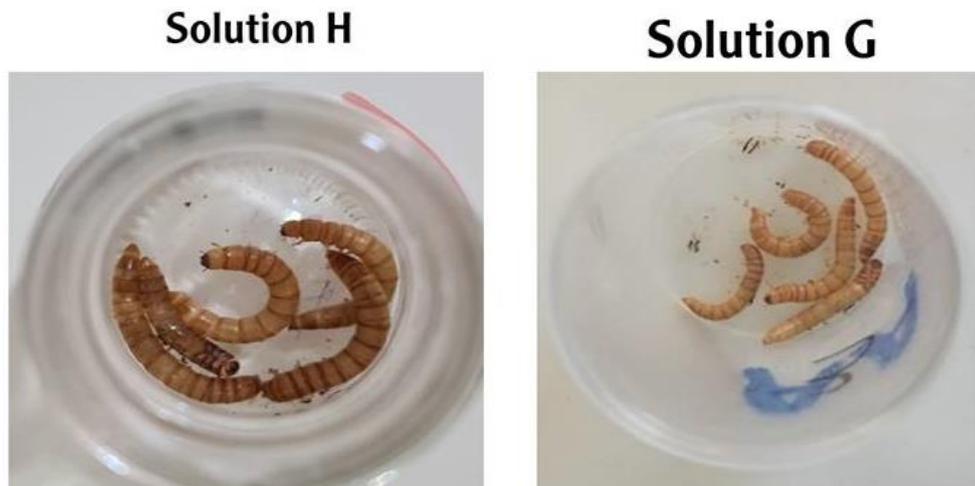


Figure 41 : résultats de larves injectées par les témoins standards méthanol et acide ascorbique.

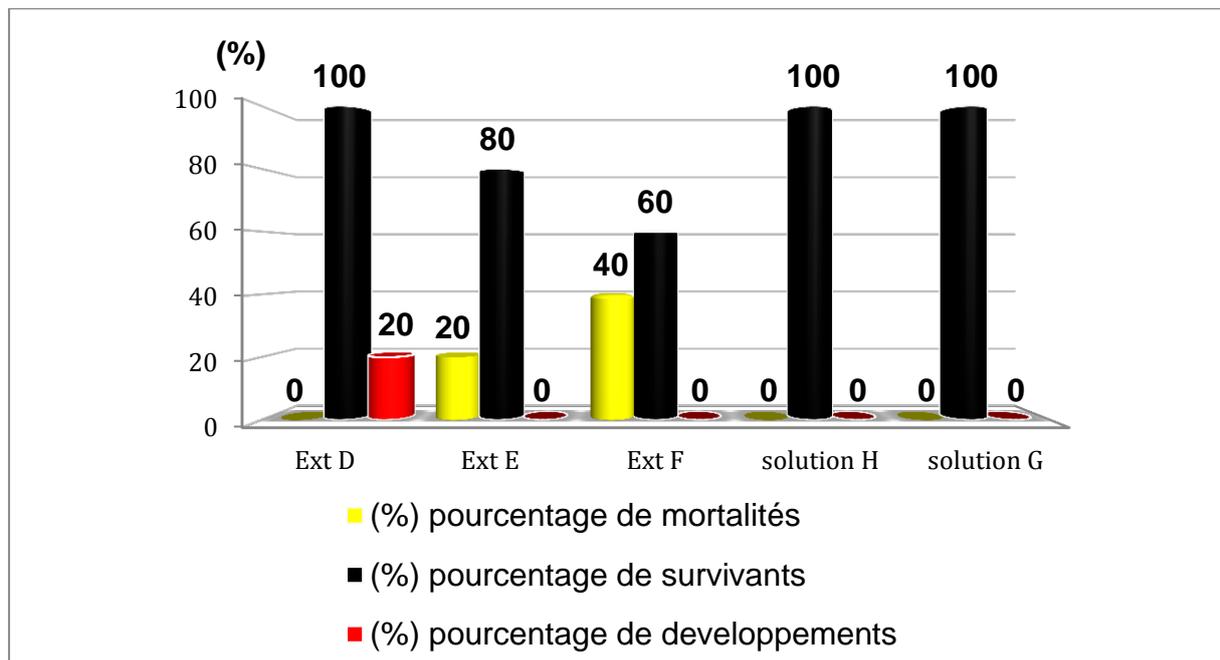


Figure 42 : histogrammes montre les pourcentages de mortalités, survivants et développements des extraits et standards de test de toxicité sur les vers de farine.

Les résultats obtenus dans le tableau et les figures en comparant avec les témoins solution G (acide ascorbique) et solution H (le méthanol) avec un pourcentage de mortalité égale à zéro montrent que les larves injectées par l'extrait

acétate (Ext D) ont une survie de toute les larves avec un cas de développement d'une larve à la nymphe (la pupe=le stade qui suit le stade d'être une larve dans le cycle de *Tenebrio Molitor*) ce qui exposent que cet extrait acétate est un bon nourrissant ou il a des composants nutritifs. Par contre on remarque la mort d'une larve chez l'extrait butanolique (Ext E) depuis premier jour d'injection et la mort de deux larves chez l'extrait de bulbes (Ext F) à la fin avec pourcentage de développement nul chez les deux extraits ce qui montre la possibilité de l'existence des composés toxiques dans les bulbes, mais dans Ext F il existe deux possibilités l'une est l'existence de quelques composés poisons et l'autre est une fausse manipulation par incorrect pique.

1.3.2 Test de cytotoxicité sur les larves *artemia salina*

Cette activité est faite pour examiner la cytotoxicité des extraits de l'*asphodelus* sur des larves d'*Artemia Salina*. Vingt larves ont été utilisées pour chaque puit.

Les résultats (**tableau 17**, **figure 42**) ont été comparés avec le standard bichromate de potassium.

Tableau 17 : pourcentage de mortalité des larves *Artemia Salina* après l'ajout des extrais de l'asphodelus.

Extraits	Surveillance sur 20 larves <i>artemia salina</i> après 24h												Pourcentage de mortalité %	
	Le nombre de larves mortes dans les 12 puits de chaque extrait													
	Répétition 01			Répétition 02			Répétition 03			Moyenne				
C	400 µg/ml													
Ext D	02	01	01	03	01	03	03	03	04	03	03	02	2,42	12,1
Ext E	09	09	06	06	10	11	08	09	12	09	09	07	8,75	43,75
Ext F	10	08	08	09	11	13	13	14	10	11	14	07	10,66	53,3
MeOH	04	04	03	05	03	05	02	01	00	03	02	03	2,91	14,55
C	80 µg/ml													
BP	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	100

BP : Bichromate de potassium, **C** : concentration

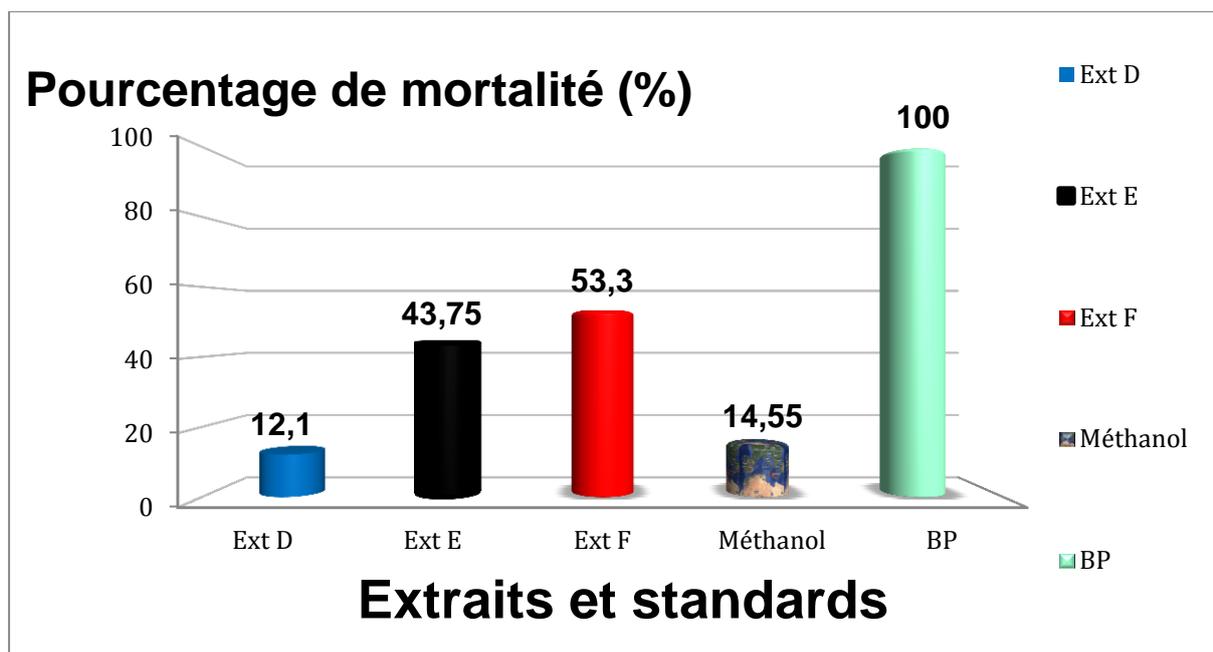


Figure 43 : histogrammes montre les pourcentages de mortalités des extraits et standards de test de cytotoxicité sur les *Artemia Salina*.

Les résultats obtenus dans le tableau et la figure des extraits et contrôle ont été fait dans une concentration de 400 µg/ml, en comparant avec le standard bichromate de potassium qu'a un pourcentage de mortalité égale à cent dont la concentration a été 80 µg/ml.

Un faible pourcentage par l'extrait acétate d'éthyle Ext D (12,1 %) et il est pas loin à celle de méthanol (14,55 %), par contre les extraits n-butanolique Ext E et de bulbes Ext F ont des pourcentage de mortalités un peu élevés (43,75 % et 53,3 % respectivement) par rapport au Ext D.

ces résultats montrent qu'il existe une grande possibilité de mort des larves par forte concentration dans le contrôle MeOH et Ext D en comparant avec la concentration de standard (80 µg/ml) d'un côté et possibilité de toxicité de l'extrait d'un autre côté, si en comparant ces derniers avec Ext E et Ext F, on remarque que l'opportunité de toxicité est plus grande que la potentialité de forte concentration.

A la fin, on peut conclure que ces conséquences confirment les derniers résultats de vers de farine, qui montrent que l'Ext D n'est pas toxique mais l'Ext E et Ext F ont été toxique ou contiennent quelques composés toxiques.

1.4 Les activités anti-inflammatoires *in vitro*

1.4.1 Test d'innocuité des extraits vis-à-vis de la cellule érythrocytaire

Les taux d'hémolyse obtenus après incubation des érythrocytes ont été calculés en présence des extraits Ext D, Ext E, Ext F et le témoin positif (globules rouges avec l'eau distillée) et un témoin négatif (L'extrait avec le tampon phosphate salin) ont été calculés (figure 43).

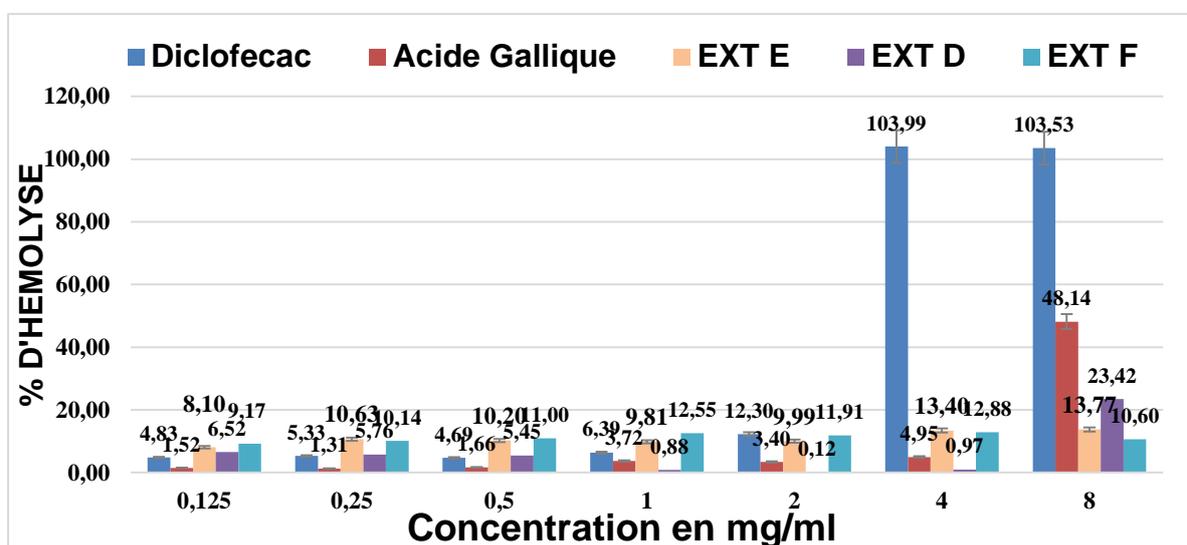


Figure 44: histogramme montre les pourcentages d'hémolyse en fonction de la concentration.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que l'extrait de bulbes Ext F présente une activité hémolytique modérée allant de $9,17\% \pm 0,46$ à $10,6\% \pm 0,42$ à des concentrations variant de 0,025 à 10mg/ml.

L'extrait d'acétate d'éthyle Ext D allant de $6,52\% \pm 0,21$ à $23,42\% \pm 5,09$ et n-butanolique Ext E allant de $8,1\% \pm 0,19$ à $13,77\% \pm 0,76$ en comparant avec le standard diclofenac qui a un faible pourcentage d'hémolyse $4,83\% \pm 0,71$ à la concentration 0,125 mg/ml, mais à la concentration 8 mg/ml le taux est très élevé $103,53\% \pm 0,00$. Le standard acide gallique comme les autres commencer par un faible taux d'hémolyse, mais termine avec un taux égale à la moitié de diclofenac ($1,52\% \pm 0,58$ et $48,14\% \pm 0,75$ respectivement).

1.4.2 Effet protecteur des extraits vis-à-vis d'un stress osmotique associé à un stress thermique :

Les membranes lysosomales sont similaires aux membranes érythrocytaires, donc les tests de stabilisation de la membrane érythrocytaire en exposant les érythrocytes à des fluides hypotoniques et à des températures élevées est bon test pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire [206].

Les résultats de l'effet protecteur des extraits d'acétate d'éthyle, n-butanolique et de bulbes de l'*asphodelus* contre l'hémolyse des globules rouge déduite par une solution hypotonique assemblée à une chaleur (figure 44).

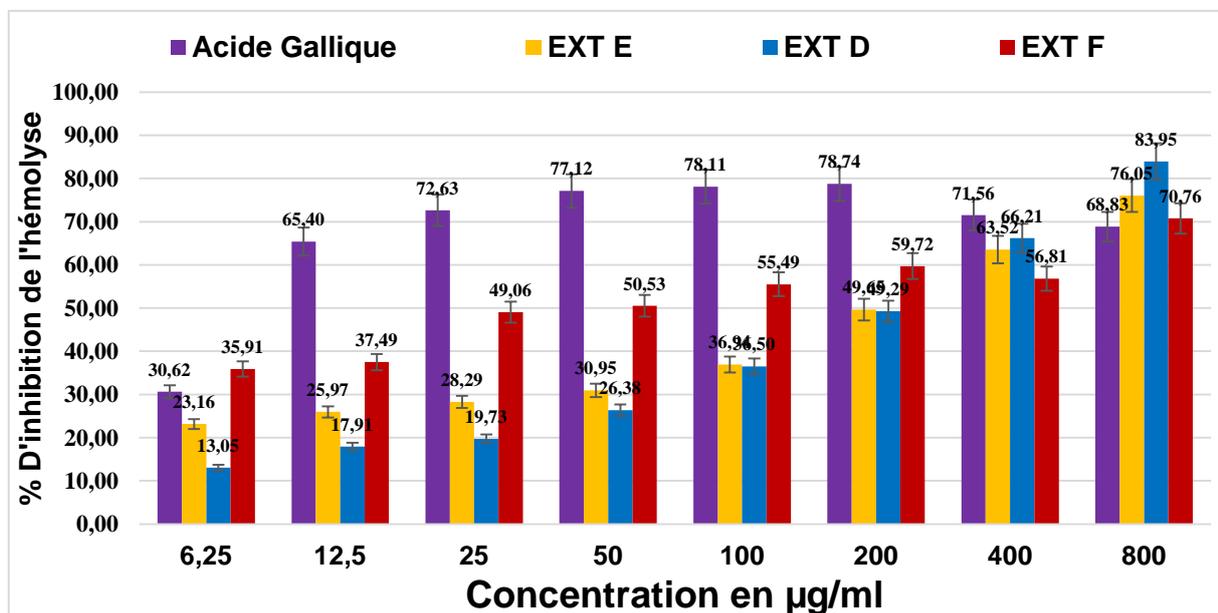


Figure 45 : histogramme montre les pourcentages de protection des hématies vis-à-u stress osmotique et thermique en fonction des concentrations.

Selon Vidhya et Udayakumar (2016), l'exposition des globules rouges à la chaleur et au liquide hypotonique provoque une lyse membranaire avec hémolyse et oxydation de l'hémoglobine.

D'après les résultats obtenus on a trouvé un effet protecteur maximal de 75,50% ± 1,69 de l'acide gallique à une concentration de 200 µg/ml et diminue à partir de 400 µg/ml, dans la concentration 800 µg/ml il va prendre le taux d'inhibition de 68,83% ± 0,59.

On a vu encore que les trois extraits présentent des effets inhibiteurs d'hémolyse des globules rouges proches aux concentrations de 6,25 µg/ml à 800 µg/ml. Dans la concentration de 800 µg/ml, l'efficacité de l'extrait acétate d'éthyle Ext D ($83,95\% \pm 0,54$) par la stabilisation de la membrane des érythrocytes est supérieure à celle de l'extrait n-butanolique Ext E et l'extrait de bulbes Ext F ($76,05\% \pm 0,71$ et $70,76\% \pm 3,51$ respectivement). Par ailleurs, le traitement des érythrocytes par l'acide gallique présente une inhibition d'hémolyse évidemment supérieure à celle obtenue avec les trois extraits de la concentration 6,25 à 400 µg/ml, mais à la concentration 800 µg/ml les trois extraits présentent une efficacité plus grande à celle de l'acide gallique ($68,83\% \pm 0,59$). Ce qui montre que les trois extraits sont des bons protecteurs des membranes avec une légère priorité de l'extrait d'acétate d'éthyle.

CONCLUSION

Conclusion

Les algériens depuis l'antiquité utilisaient les herbes médicinales au quotidien dans la gastronomie et dans la pharmacologie traditionnelle et les utilise comme remède pour soigner de divers maladies et infections. Cependant des tests *in vitro* sont nécessaires pour confirmer l'utilisation de ces espèces dans la pratique médicinale.

A partir de nos études et en basant sur nos résultats qui montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*Asphodelus* présentent une activité antioxydante significative et une l'activité anti-inflammatoire puissante qui est dose-dépendante.

Ces études seront poursuivies aussi bien sur le plan chimique et pharmacologique afin d'isoler et de caractériser les principaux composés chimiques impliqués dans l'activité antioxydante et anti inflammatoire qui permettront une prévention de certaines maladies chroniques.

L'activité antioxydante des différents extraits d'*Asphodelus* a été testée selon les cinq méthodes suivantes : piégeage du radical libre DPPH, pouvoir réducteur (FRAP), réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénanthroline, piégeage de l'ABTS, Méthode des nanoparticules d'argent (Silver-nano-particules).

La meilleur capacité antioxydante a été observée sur l'extrait d'acétate d'éthyle dans la plupart des tests, Par contre l'extrait des bulbes est le plus faible par rapport aux autres.

Alors que dans les activités anti-inflamatoires *in vitro* qui montrent que la meilleur capacité anti-inflammatoire a été observée chez l'extrait d'acétate d'éthyle avec un taux d'inhibition d'hémolyse de $83,95\% \pm 0,54$.

Une très faible activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase dans le test anti-Alzheimer observait de l'extrait acétate d'éthyle.

L'*Asphodelus* devant le test de toxicité et cytotoxicité, l'extrait acétate d'éthyle ne possède pas d'aspect toxique, par contre les extraits des bulbes et n-butanolique et bulbes ont une possibilité de la présence de toxicités.

-Ext D ($IC_{50} = 10,47 \pm 0,53 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($IC_{50} = 59,13 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($IC_{50} = 157,11 \pm 4,23 \mu\text{g/ml}$).

Test de DPPH

- Ext D ($IC_{50} = 9,29 \pm 0,87 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($IC_{50} = 48,92 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($IC_{50} = 89,34 \pm 5,65 \mu\text{g/ml}$).

Test de l'ABTS

- Ext D ($A_{0,5} = 73,91 \pm 1,66 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($A_{0,5} = 89,67 \pm 1,81 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($A_{0,5} > 200 \mu\text{g/ml}$).

Test de FRAP

- Ext D ($A_{0,5} < 3,125 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($A_{0,5} = 6,26 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($A_{0,5} = 19,39 \pm 1,46 \mu\text{g/ml}$).

Test de phénanthroline

- Ext D ($A_{0,5} = 74,03 \pm 8,38 \mu\text{g/ml}$).
- Ext E ($A_{0,5} > 400 \mu\text{g/ml}$).
- Ext F ($A_{0,5} = 399,57 \pm 3,26 \mu\text{g/ml}$).

Test de SNP

- Ext D = > 200
- Ext E = NA
- Ext F = NA

Test de Butyrylcholinestérase

Test de toxicité :

- Ext D a une petite possibilité d'être toxique.
- Ext E } les deux extraits présents un
- Ext F } pourcentage plus important
que Ext D

Test de toxicité et cytotoxicité

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] G. C. Brandão, E. G. Kroon, J. R. dos Santos, J. R. Stehmann, J. A. Lombardi, et A. B. de Oliveira, « Antiviral activities of plants occurring in the state of Minas Gerais, Brazil: Part 2. Screening Bignoniaceae species », *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 20, p. 742-750, nov. 2010.
- [2] S. M. Colegate et R. J. Molyneux, *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination, Second Edition*. CRC Press, 2007.
- [3] A. T. Mata, C. Proença, A. R. Ferreira, M. L. M. Serralheiro, J. M. F. Nogueira, et M. E. M. Araújo, « Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices », *Food Chem.*, vol. 103, n° 3, p. 778-786, janv. 2007.
- [4] R. L. Fabri, M. S. Nogueira, L. B. Dutra, M. L. M. Bouzada, et E. Scio, « Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae », *Rev. Bras. Plantas Med.*, vol. 13, p. 183-189, 2011.
- [5] C. Ramonatxo, « Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires », *Nutr. Clin. Metab. - NUTR CLIN METAB*, vol. 20, p. 165-177, déc. 2006.
- [6] R. Zbadi, H. Mohti, et F. Moussaoui, « Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales », *Med. Ther.*, vol. 24, p. 134-141, mars 2018.
- [7] Delattre J, Beaudoux J-L, et Bonnefont-Rousselot D, *Radicaux libres et stress oxydant*, Première édition. Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 2005.
- [8] A. Guillouty El Babili, Fatiha, « Plantes médicinales et antioxydants », Thèse de Doctorat, Université Toulouse III- Paul Sabatier, Toulouse, France, 2016.
- [9] L. Dupic, O. Huet, A. Harrois, et J. Duranteau, « Hypoxie et fonction mitochondriale », *Réanimation*, vol. 19, n° 5, p. 399-405, sept. 2010.

Références bibliographiques

- [10] Y. Dacosta, *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*. Paris: Edditions Yves Dacosta, 2003.
- [11] G. P. Novelli, « Role of free radicals in septic shock », *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.*, vol. 48, n° 4, p. 517-527, déc. 1997.
- [12] A. Favier, « Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique », *Actual. Chim.*, p. 108-117, 2003.
- [13] V. J. Thannickal et B. L. Fanburg, « Reactive oxygen species in cell signaling », *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 279, n° 6, p. L1005-1028, déc. 2000.
- [14] M. Gardès-Albert, « [Physico-chemical aspects of reactive oxygen species] », *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 64, n° 6, p. 365-372, nov. 2006, doi: 10.1016/s0003-4509(06)75331-7.
- [15] S. J. Klebanoff, « Myeloperoxidase: friend and foe », *J. Leukoc. Biol.*, vol. 77, n° 5, p. 598-625, mai 2005.
- [16] M. Valko, C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, et M. Mazur, « Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer », *Chem. Biol. Interact.*, vol. 160, n° 1, p. 1-40, mars 2006.
- [17] Z. Radak et Z. Radák, *Free Radicals in Exercise and Aging*. Human Kinetics, 2000.
- [18] K. H. Cheeseman et T. F. Slater, « An introduction to free radical biochemistry », *Br. Med. Bull.*, vol. 49, n° 3, p. 481-493, juill. 1993.
- [19] A. S. Logan, U. Nienaber, et X. Pan, Éd., *Lipid Oxidation: Challenges in Food Systems*, 1st edition. Academic Press and AOCS Press, 2015.

Références bibliographiques

- [20] J. Goudable et A. Favier, « Radicaux libres oxygénés et antioxydants », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 11, n° 2, p. 115-120, juin 1997.
- [21] O. M. Panasenko, I. V. Gorudko, et A. V. Sokolov, « Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems », *Biochem. Biokhimiia*, vol. 78, n° 13, p. 1466-1489, déc. 2013, doi: 10.1134/S0006297913130075.
- [22] O. Sorg, « Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? », *C. R. Biol.*, vol. 327, n° 7, p. 649-662, juill. 2004.
- [23] T. W. Stief, « The physiology and pharmacology of singlet oxygen », *Med. Hypotheses*, vol. 60, n° 4, p. 567-572, avr. 2003, doi: 10.1016/s0306-9877(03)00026-4.
- [24] I. Ferreira, L. Barros, et R. Abreu, « Antioxidants in Wild Mushrooms », *Curr. Med. Chem.*, vol. 16, p. 1543-1560, févr. 2009.
- [25] M. Dizdaroglu, P. Jaruga, M. Birincioglu, et H. Rodriguez, « Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 32, n° 11, p. 1102-1115, juin 2002.
- [26] M. Carocho et I. C. F. R. Ferreira, « A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives », *Food Chem. Toxicol.*, vol. 51, p. 15-25, janv. 2013.
- [27] M. Valko, M. Izakovic, M. Mazur, C. J. Rhodes, et J. Telser, « Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence », *Mol. Cell. Biochem.*, vol. 266, n° 1-2, p. 37-56, nov. 2004.
- [28] L. Benov et A. F. Beema, « Superoxide-dependence of the short chain sugars-induced mutagenesis », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 34, n° 4, p. 429-433, févr. 2003.

Références bibliographiques

- [29] B. Halliwell et S. Chirico, « Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance », *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 57, n° 5 Suppl, p. 715S-724S; discussion 724S-725S, mai 1993.
- [30] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, et N. Chandra, « Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health », *Pharmacogn. Rev.*, vol. 4, n° 8, p. 118-126, 2010.
- [31] Boyd B *et al.*, « Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé », *GlycoScience et Nutrition*, vol. 4, n° 6, p. 7, 2003.
- [32] H. Tohma, İ. Gülçin, E. Bursal, A. C. Gören, S. H. Alwasel, et E. Köksal, « Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS », *J. Food Meas. Charact.*, vol. 11, n° 2, p. 556-566, juin 2017.
- [33] A. I. Khlebnikov, I. A. Schepetkin, N. G. Domina, L. N. Kirpotina, et M. T. Quinn, « Improved quantitative structure-activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems », *Bioorg. Med. Chem.*, vol. 15, n° 4, p. 1749-1770, févr. 2007.
- [34] Halliwell, B, « How to characterize a biological antioxidant. Free Radic.Res.Commun », vol. 9, p. 1-32, 1990.
- [35] J. Haleng, J. Pincemail, J.-O. Defraigne, C. Charlier, et J.-P. Chapelle, « Le stress oxydant », *Rev. Médicale Liège*, vol. 62, n° 10, oct. 2007.
- [36] M. Valko, C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, et M. Mazur, « Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer », *Chem. Biol. Interact.*, vol. 160, n° 1, p. 1-40, mars 2006.
- [37] R. Stocker et J. F. Keaney, « Role of oxidative modifications in atherosclerosis », *Physiol. Rev.*, vol. 84, n° 4, p. 1381-1478, oct. 2004.

Références bibliographiques

- [38] Belkheiri ,N, « Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes », Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III- Paul Sabatier, Toulouse, France., 2010.
- [39] Delattre, J, J.-L. Beaudoux, et D. Bonnefont- Rousselot, « Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques », p. 87-108, 2005.
- [40] A. Rezaire, « Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) », p. 215.
- [41] M. R. McCall et B. Frei, « Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, n° 7-8, p. 1034-1053, avr. 1999.
- [42] R. Masella, R. Di Benedetto, R. Vari, C. Filesi, et C. Giovannini, « Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes », *J. Nutr. Biochem.*, vol. 16, n° 10, p. 577-586, oct. 2005.
- [43] L. Packer, K. Kraemer, et G. Rimbach, « Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications », *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif*, vol. 17, n° 10, p. 888-895, oct. 2001.
- [44] Panfili G, Fratianni A, et Irano M, « Normal Phase High-Performance Liquid Chromatography Method for the Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Cereals. », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, n° 14, p. 3940-3944, 2003.
- [45] A. R. Smith, S. V. Shenvi, M. Widlansky, J. H. Suh, et T. M. Hagen, « Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress », *Curr. Med. Chem.*, vol. 11, n° 9, p. 1135-1146, mai 2004.
- [46] K. L. Retsky, K. Chen, J. Zeind, et B. Frei, « Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, n° 1-2, p. 90-98, janv. 1999.

Références bibliographiques

- [47] S. Kaiser, P. Di Mascio, M. E. Murphy, et H. Sies, « Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols », *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 277, n° 1, p. 101-108, févr. 1990.
- [48] W. J. Bettger, « Zinc and selenium, site-specific versus general antioxidation », *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, vol. 71, n° 9, p. 721-724, sept. 1993.
- [49] H. Schroeter, C. Boyd, J. P. E. Spencer, R. J. Williams, E. Cadenas, et C. Rice-Evans, « MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide », *Neurobiol. Aging*, vol. 23, n° 5, p. 861-880, oct. 2002.
- [50] H. Zhang et R. Tsao, « Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects », *Curr. Opin. Food Sci.*, vol. 8, p. 33-42, avr. 2016.
- [51] M. Leopoldini, N. Russo, et M. Toscano, « The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants », *Food Chem.*, vol. 125, n° 2, p. 288-306, mars 2011.
- [52] P. G. Pietta, « Flavonoids as antioxidants », *J. Nat. Prod.*, vol. 63, n° 7, p. 1035-1042, juill. 2000.
- [53] D. V. Ratnam, D. D. Ankola, V. Bhardwaj, D. K. Sahana, et M. N. V. R. Kumar, « Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective », *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.*, vol. 113, n° 3, p. 189-207, juill. 2006.
- [54] M. Goodman, R. M. Bostick, O. Kucuk, et D. P. Jones, « Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: past, present, and future », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 51, n° 5, p. 1068-1084, sept. 2011.
- [55] A. L. Branen, « Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene », *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 52, n° 2, p. 59-63, févr. 1975.

Références bibliographiques

- [56] A. A. Botterweck, H. Verhagen, R. A. Goldbohm, J. Kleinjans, et P. A. van den Brandt, « Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study », *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.*, vol. 38, n° 7, p. 599-605, juill. 2000.
- [57] N. Gharavi et A. O. S. El-Kadi, « tert-Butylhydroquinone is a novel aryl hydrocarbon receptor ligand », *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, vol. 33, n° 3, p. 365-372, mars 2005.
- [58] D. G. Soares, A. C. Andreazza, et M. Salvador, « Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, n° 4, p. 1077-1080, févr. 2003.
- [59] I. Kubo, P. Xiao, et K. Fujita, « Antifungal activity of octyl gallate: structural criteria and mode of action », *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 11, n° 3, p. 347-350, févr. 2001.
- [60] B. D. Astill, D. W. Fassett, et R. L. Roudabush, « The metabolism of 2:4:5-trihydroxybutyrophenone in the rat and dog », *Biochem. J.*, vol. 72, n° 3, p. 451-459, juill. 1959.
- [61] A. P. Evan et K. D. Gardner, « Nephron obstruction in nordihydroguaiaretic acid-induced renal cystic disease », *Kidney Int.*, vol. 15, n° 1, p. 7-19, janv. 1979.
- [62] D. Harman, « Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry », *J. Gerontol.*, vol. 11, n° 3, p. 298-300, juill. 1956.
- [63] R. Barouki, « Stress oxydant et vieillissement », *Médecine Sci.*, vol. 22, n° 3, p. 266-272, 2006.
- [64] A.-M. Roussel et M. Ferry, « Stress oxydant et vieillissement », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 16, n° 4, p. 285-291, déc. 2002, doi: 10.1016/S0985-0562(02)00173-5.

Références bibliographiques

- [65] B. N. Ames, M. K. Shigenaga, et T. M. Hagen, « Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 90, n° 17, p. 7915-7922, sept. 1993.
- [66] A.-M. Roussel et M. Ferry, « Stress oxydant et vieillissement Oxidative stress, nutrition and aging », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 16, n° 4, p. 285-91, 2002.
- [67] T. Kayo, D. B. Allison, R. Weindruch, et T. A. Prolla, « Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, n° 9, p. 5093-5098, avr. 2001.
- [68] T. B. L. Kirkwood, « Understanding the odd science of aging », *Cell*, vol. 120, n° 4, p. 437-447, févr. 2005.
- [69] R. S. Sohal, R. J. Mockett, et W. C. Orr, « Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 33, n° 5, p. 575-586, sept. 2002.
- [70] B. Halliwell et J. M. Gutteridge, « Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview », *Methods Enzymol.*, vol. 186, p. 1-85, 1990.
- [71] I. Kato *et al.*, « Risk of iron overload among middle-aged women », *Int. J. Vitam. Nutr. Res. Int. Z. Vitam.- Ernährungsforschung J. Int. Vitaminol. Nutr.*, vol. 70, n° 3, p. 119-125, mai 2000.
- [72] J. Hunnicutt, K. He, et P. Xun, « Dietary Iron Intake and Body Iron Stores Are Associated with Risk of Coronary Heart Disease in a Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies¹²³ », *J. Nutr.*, vol. 144, n° 3, p. 359-366, mars 2014.
- [73] L. N. Berge, K. H. Børnaa, et A. Nordøy, « Serum ferritin, sex hormones, and cardiovascular risk factors in healthy women », *Arterioscler. Thromb. J. Vasc. Biol.*, vol. 14, n° 6, p. 857-861, juin 1994.
- [74] A. L. Bailey, S. Maisey, S. Southon, A. J. Wright, P. M. Finglas, et R. A. Fulcher, « Relationships between micronutrient intake and biochemical indicators

Références bibliographiques

- of nutrient adequacy in a "free-living' elderly UK population », *Br. J. Nutr.*, vol. 77, n° 2, p. 225-242, févr. 1997.
- [75] P. Fournier, *Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France*, LECHEVALIER. Tournon, Paris, 1947.
- [76] M. Malmir, R. Serrano, M. Caniça, B. Silva-Lima, et O. Silva, « A Comprehensive Review on the Medicinal Plants from the Genus *Asphodelus* », *Plants*, vol. 7, n° 1, p. 20, mars 2018.
- [77] « World Checklist of Selected Plant Families: Royal Botanic Gardens, Kew ». <https://wcsp.science.kew.org/qsearch.do> (consulté le 20 mai 2022).
- [78] P. Quézel et S. Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. quai Anatole-France, Paris: Editions du Centre National de la recherche scientifique, 1962.
- [79] « *Asphodelus acaulis* », *Gérard Weiner - Plantes de terrains secs*, 14 juillet 2019. <https://www.gerard-weiner.fr/asphodelus-acaulis/> (consulté le 20 mai 2022).
- [80] « L'Asphodèle porte cerise - *Asphodelus cerasiferus* - quelle-est-cette-fleur.com ». <https://quelle-est-cette-fleur.com/Fiches-botaniques/Fiche-espece-asphodele.php> (consulté le 21 mai 2022).
- [81] T.-M. G. C. Online, « Graines de ASPHODELUS FISTULOSUS - Asphodèle fistuleux - T.O.G », *The Original Garden*. <https://theoriginalgarden.com/fr/p/semences/ornement/herbacees/asphodelus-fistulosus-asphodele-fistuleux> (consulté le 21 mai 2022).
- [82] « *Asphodelus tenuifolius* », *teline.fr - Biodiversité végétale du sud-ouest marocain*. <https://www.teline.fr/fr/photos/asphodelaceae/asphodelus-tenuifolius> (consulté le 21 mai 2022).

Références bibliographiques

- [83] K. Eshun et Q. He, « Aloe vera: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries--a review », *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 44, n° 2, p. 91-96, 2004.
- [84] M. H. Radha et N. P. Laxmipriya, « Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review », *J. Tradit. Complement. Med.*, vol. 5, n° 1, p. 21-26, janv. 2015.
- [85] A. Di Petrillo *et al.*, « Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts », *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 16, n° 1, p. 453, nov. 2016.
- [86] M. Dioguardi *et al.*, « Possible Uses of Plants of the Genus *Asphodelus* in Oral Medicine », *Biomedicines*, vol. 7, n° 3, p. 67, sept. 2019.
- [87] N. Mayouf, N. Charef, S. Saoudi, A. Baghiani, S. Khennouf, et L. Arrar, « Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Asphodelus microcarpus* methanolic extracts », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 239, p. 111914, juill. 2019.
- [88] M. Oum, E. Bouaghi, Z. Amar, N. Gherraf, et S. Rhouati, « A Germacrene –D, characteristic essential oil from *A. microcarpus* Salzm and Viv. flowers growing in Algeria », vol. 3, p. 108-110, janv. 2013.
- [89] R. Al-Kayali, A. Kitaz, et M. Haroun, « Antibacterial Activity of *Asphodelin lutea* and *Asphodelus microcarpus* Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates », *Int J Phcog Phytochem Res*, vol. 8, n° 12, p. 1964-1968, 2016.
- [90] Hosni Hanae, K. Taghzouti, Amina Bounihi, Yahia Cherrah, et Katim Alaoui, « ANALGESIC ACTIVITY OF ASPHODELUS MICROCARPUS LEAVES EXTRACT », *World J Pharm Pharm. Sci*, vol. 8, n° 1, p. 297-306, déc. 2018.
- [91] A. Bouasla et I. Bouasla, « Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria », *Phytomedicine*, vol. 36, p. 68-81, déc. 2017, doi: 10.1016/j.phymed.2017.09.007.

Références bibliographiques

- [92] Sarri Madani, F. Mouyet, M. Benziane, et A. Cheriet, « Traditional use of medicinal plants in a city at steppic character (M'sila, Algeria) », *J. Pharm. Pharmacogn. Res.*, vol. 2, p. 31-35, avr. 2014.
- [93] S. Kaddem, « Les plantes médicinales en Algérie », Bouchène, Oued Zenati, 1990.
- [94] M. S. Ali-Shtayeh et S. I. Abu Ghdeib, « Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes », *Mycoses*, vol. 42, n° 11-12, p. 665-672, 1999.
- [95] P. Ljubuncic *et al.*, « Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in palestine », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 99, n° 1, p. 43-47, mai 2005.
- [96] Fakchich Jamila et Elachouri Mostafa, « Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 154, n° 1, p. 76-87, mai 2014, doi: 10.1016/j.jep.2014.03.016.
- [97] S. CHERMAT et R. Gharzouli, « Ethnobotanical Study of Medicinal Flora in the North East of Algeria - An Empirical Knowledge in Djebel Zdimm (Setif) », *J. Mater. Sci. Eng. A*, vol. 5, févr. 2015, doi: 10.17265/2161-6213/2015.1-2.007.
- [98] A. Razik *et al.*, « ANTIOXIDANT ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ASPHODELUS MICROCARPUS », *World J. Pharm. Res.*, vol. 5, n° 9, p. 666-673, 2016.
- [99] Kitaz Adawia, « Comparison of the Total Phenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Methanolic Roots Extracts of *Asphodelus microcarpus* and *Asphodeline lutea* Growing in Syria », *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.*, vol. 9, n° 2, p. 159-164, févr. 2017.
- [100] I. Gürbüz, O. Ustün, E. Yeşilada, E. Sezik, et N. Akyürek, « In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 83, n° 3, p. 241-244, déc. 2002.

Références bibliographiques

- [101] Aysegul Peksel, « Evaluation of antioxidant and antifungal potential of *Asphodelus aestivus* Brot. growing in Turkey », *J. Med. Plants Res.*, vol. 6, n° 2, janv. 2012, Consulté le: 24 avril 2022.
- [102] M. R. González-Tejero *et al.*, « Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 116, n° 2, p. 341-357, mars 2008.
- [103] Abd El-Fattah, H, « Chemistry of *Asphodelus fistulosus* », *Int J Pharmacogn*, vol. 35, p. 274-277, 1997.
- [104] F. M. Hammouda, A. Rizk, H. Ghaleb, et M. M. Abdel-Gawad, « Chemical and pharmacological studies of *Asphodelus microcarpus* », *Planta Med.*, vol. 22, n° 2, p. 188-195, sept. 1972.
- [105] L. Boulos, « Medicinal plants of North Africa. », *Med. Plants North Afr.*, 1983.
- [106] H. R. El-Seedi, « Antimicrobial Arylcoumarins from *Asphodelus microcarpus* L », *J. Nat. Prod.*, vol. 70, n° 1, p. 118-120, 2007.
- [107] S. Abuhamdah, R. Abuhamdah, A. Shakya, S. M. Al-Olimat, et P. Chazot, « Neuropharmacological evaluation of selected Jordanian traditional herbal medicines », p. 7.
- [108] M. M. Ghoneim *et al.*, « Biologically active secondary metabolites from *Asphodelus microcarpus* », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 8, n° 8, p. 1117-1119, août 2013.
- [109] A. E. Alami, F. Loubna, et A. Chait, « Etude ethnobotanique sur les plantes médicinales spontanées poussant dans le versant nord de l'Atlas d'Azilal (Maroc) », *ALGERIAN J. Nat. Prod.*, vol. 4, n° 2, Art. n° 2, avr. 2016.
- [110] ZELLAGUI, A, « Etude phytochimique et génétique sur *Asphodelus microcarpus* SALZM and viv de l'Est Algérien », Thèse de Magister, Université de Constantine, 1998.

Références bibliographiques

- [111] V. Rimbau, E. Risco, C. Cerdan, R. Vila, et J. Iglesias, « Antiinflammatory Activity of Some Extracts from Plants used in the Traditional Medicine of North-African Countries », *Phytother. Res.*, p. 421-423, janv. 1996.
- [112] J. Reynaud, M. Lussignol, M. M. Flament, et M. Becchi, « Flavonoid content of *Asphodelus ramosus* (Liliaceae) », *Can. J. Bot.*, vol. 75, n° 12, p. 2105-2107, déc. 1997.
- [113] Y. Vaghasiya et S. V. Chanda, « Screening of Methanol and Acetone Extracts of Fourteen Indian Medicinal Plants for Antimicrobial Activity », *Turk. J. Biol.*, vol. 31, n° 4, Art. n° 4, avr. 2007.
- [114] K. Faidi *et al.*, « Polyphenol derivatives from bioactive butanol phase of the Tunisian narrow-leaved asphodel (*Asphodelus tenuifolius* Cav., Asphodelaceae) », *J. Med. Plants Res.*, vol. 8, n° 14, p. 550-557, avr. 2014.
- [115] M. D. Kalim, D. Bhattacharyya, A. Banerjee, et S. Chattopadhyay, « Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of plants used in Unani system of medicine », *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 10, p. 77, déc. 2010.
- [116] M. Panghal, V. Kaushal, et J. P. Yadav, « In vitro antimicrobial activity of ten medicinal plants against clinical isolates of oral cancer cases », *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 10, p. 21, mai 2011.
- [117] M. Safder *et al.*, « Asphorodin, a potent lipoxygenase inhibitory triterpene diglycoside from *Asphodelus tenuifolius* », *J. Asian Nat. Prod. Res.*, vol. 11, n° 11, p. 945-950, nov. 2009.
- [118] M. S. Stankovic, *Medicinal Plants and Natural Product Research*. MDPI, 2020.
- [119] A. S. Dangi, M. Sharma, J. P. Yadav, D. R. Arora, et U. Chaudhary, « ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF ASPHODELUS TUNIFOLIUS (CAV) », *J. Evol. Med. Dent. Sci.*, vol. 2, n° 30, p. 5, 2013.

Références bibliographiques

- [120] M. Safder, R. Mehmood, B. Ali, U. R. Mughal, A. Malik, et A. Jabbar, « New Secondary Metabolites from *Asphodelus tenuifolius* », *Helv. Chim. Acta*, vol. 95, n° 1, p. 144-151, 2012.
- [121] S. Aslantuuml;rk, « Investigation of antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the extracts from tubers of *Asphodelus aestivus* Brot. », *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 7, n° 11, p. 610-621, mars 2013.
- [122] F. Elmokasabi, « The State of the Art of Traditional Herbal Medicine in the Eastern Mediterranean Coastal Region of Libya », *Middle East J Sci Res*, vol. 21, p. 575-582, janv. 2014.
- [123] N. Mayouf, N. Charef, S. Saoudi, A. Baghiani, S. Khennouf, et L. Arrar, « Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Asphodelus microcarpus* methanolic extracts », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 239, p. 111914, juill. 2019.
- [124] C. A. Williams, « Biosystematics of the monocotyledoneae—flavonoid patterns in leaves of the liliaceae », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 3, n° 4, p. 229-244, déc. 1975.
- [125] B.-E. V. Wyk, A. Yenesew, et E. Dagne, « Chemotaxonomic significance of anthraquinones in the roots of asphodeloideae (asphodelaceae) », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 23, n° 3, p. 277-281, avr. 1995.
- [126] K. Polatođlu, B. Demirci, et K. H. Can Bařer, « High Amounts of n-Alkanes in the Composition of *Asphodelus aestivus* Brot. Flower Essential Oil from Cyprus », *J. Oleo Sci.*, vol. 65, n° 10, p. 867-870, oct. 2016.
- [127] alı,s, I, Birincio ˘ glu, S.S, Kırmızıbekmez, H, Pfeiffer, B, et Heilmann, J, « Secondary Metabolites from *Asphodelus aestivus* », *Z Naturforsch*, n° 61, p. 1304-1310, 2006.
- [128] T. Fafal, F. F. Yilmaz, S. S. Birinciođlu, M. Hořgör-Limoncu, et B. Kivak, « Fatty acid composition and antimicrobial activity of *Asphodelus aestivus* seeds », *Hum Vet Med*, vol. 8, n° 2, p. 103-107, 2016.

Références bibliographiques

- [129] Van Oudtshoorn, M.V.R, « Chemotaxonomic Investigations in Asphodeleae and Aloineae (Liliaceae) », *Phytochemistry*, vol. 3, p. 383-390, 1964.
- [130] M. Abdel-Gawad, A. Hasan, et J. Raynaud, « Study of saturated and unsaturated fatty acids of the tubers of *Asphodelus albus* », *Fitoterapia*, vol. 47, p. 111-112, 1976.
- [131] Raynaud Par, J et Abdel-Gawad, M.M, « Contribution à L'étude Chimiotaxinomique du Genre *Asphodelus* (Liliaceae) », Lyon Linnéenne Society, Lyon, France, 1974.
- [132] Hammouda, F.M, Rizk, A.M, et Seif El-Nasr, M.M, « Anthraquinones of Certain Egyptian *Asphodelus* Species », *Z NaturforschC*, vol. 29, p. 351-354, 1974.
- [133] K. R. Fell, F. M. Hammouda, et A. M. Rizk, « The constituents of the seeds of *Asphodelus microcarpus viviani* and *A. fistulosus* L », *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 20, n° 8, p. 646-649, août 1968.
- [134] Khan, S.A, Qureshi, M.I, et Bhatti, M.K, « Composition of the Oil of *Asphodclus fistulosus* (Piazi) Seeds », *J Am Oil Chem Soc*, vol. 38, p. 452-453, 1961.
- [135] E. El-Ghaly, « Phytochemical and biological activities of *Asphodelus microcarpus* leaves », *J Phcog Phytochem*, vol. 6, n° 2, p. 259-264, 2017.
- [136] A. Di Petrillo *et al.*, « Broad-range potential of *Asphodelus microcarpus* leaves extract for drug development », *BMC Microbiol.*, vol. 17, n° 1, p. 159, juill. 2017.
- [137] A. G. González, R. Freire, J. A. Salazar, R. Hernández, et E. Suárez, « Asphodelin and microcarpin, two new bianthraquinones from *Asphodelus microcarpus* », vol. 4, p. 851, 1973.
- [138] M. M. Ghoneim *et al.*, « Isolation and characterization of new secondary metabolites from *Asphodelus microcarpus* », *Med. Chem. Res. Int. J. Rapid*

Références bibliographiques

- Commun. Des. Mech. Action Biol. Act. Agents*, vol. 23, n° 7, p. 3510-3515, juill. 2014.
- [139] A. M. Rizk, F. M. Hammouda, et M. M. Abdel-Gawad, « Anthraquinones of *Asphodelus microcarpus* », *Phytochemistry*, vol. 11, n° 6, p. 2122-2125, juin 1972.
- [140] Ghaleb, H, Rizk, A.M, Hammouda, F.M, et Abdel-Gawad, M.M, « The Active Constituentes of *Asphodelus microcarpus* Salzm et Vivi », *Qual Plant Mater Veg*, vol. 21, p. 237-251, 1972.
- [141] Ghoneim, M.M *et al.*, « Asphodosides A-E, anti-MRSA metabolites from *Asphodelus microcarpus* », *Phytochemistry*, vol. 105, p. 79-84, 2014.
- [142] A. M. Rizk et F. M. Hammouda, « PHYTOCHEMICAL STUDIES OF ASPHODELUS MICROCARPUS », *Planta Med.*, vol. 18, n° 2, p. 168-172, mars 1970.
- [143] Picci, V, Cerri, R, et Ladu, M, « Note di biologia e fitochimica sul genere *Asphodelus* (Liliaceae) di Sardegna, I *Asphodelus microcarpus* Salzmann e Viviani », *Riv Ital Essenze Profum Piante Off*, vol. 60, p. 647-650, 1978.
- [144] C. Chimona, A. Karioti, H. Skaltsa, et S. Rhizopoulou, « Occurrence of secondary metabolites in tepals of *Asphodelus ramosus* L. », *Plant Biosyst. - Int. J. Deal. Asp. Plant Biol.*, vol. 148, n° 1, p. 31-34, janv. 2014.
- [145] M. Adinolfi, M. M. Corsaro, R. Lanzetta, M. Parrilli, et A. Scopa, « A bianthrone C-glycoside from *Asphodelus ramosus* tubers », *Phytochemistry*, vol. 28, n° 1, p. 284-288, 1989.
- [146] Lanzetta, R, Parrilli, M, Adinolfi, M, Aquila, T, et Corsaro, M, « Bianthrone C-Glucosides. 2. Three New Compounds from *Asphodelus ramosus* Tubers », *Tetrahedron*, vol. 46, p. 1287-1294, 1990.

Références bibliographiques

- [147] M. Adinolfi, R. Lanzetta, C. E. Marciano, M. Parrilli, et A. D. Giulio, « A new class of anthraquinone-anthrone-C-glycosides from *asphodelus ramosus* tubers. », *Tetrahedron*, vol. 47, p. 4435-4440, 1991, doi: 10.1016/S0040-4020(01)87112-X.
- [148] M. Abdel-Mogib et S. A. Basaif, « Two new naphthalene and anthraquinone derivatives from *Asphodelus tenuifolius* », *Pharm.*, vol. 57, n° 4, p. 286-287, avr. 2002.
- [149] Singh, N et Jaswel, S.S, « Structure of an Ester from the Seeds of *Asphodelus tenuifolius* Cav », *Indian J Chem*, vol. 12, p. 1325-1327, 1974.
- [150] T. R. Madaan et I. S. Bhatia, « Lipids of *Asphodelus tenuifolius* Cav. seeds », *Indian J. Biochem. Biophys.*, vol. 10, n° 1, p. 55-58, mars 1973.
- [151] Ahmad, F, Ahmad, M.U, Alam, A, Sinha, S, et Osman, S.M, « Studies on Herbaceous Seed Oils-I », *J Oil Technol Assoc India*, vol. 8, p. 3-4, 1976.
- [152] Saxena, V.K et Singh, R.B, « Chemical Examination of *Asphodelus tenuifolius* », *J Inst Chem*, vol. 48, p. 18-20, 1976.
- [153] Saxena, V.K et Singh, R.B, « Unsaponified Matter of *Asphodelus tenuifolius* Fat », *Curr Sci*, vol. 44, p. 723, 1975.
- [154] Aysegul Peksel, « Evaluation of antioxidant and antifungal potential of *Asphodelus aestivus* Brot. growing in Turkey », *J. Med. Plants Res.*, vol. 6, n° 2, p. 253-265, janv. 2012.
- [155] A. Peksel, S. Imamoglu, N. Altas Kiyamaz, et N. Orhan, « Antioxidant and radical scavenging activities of *Asphodelus aestivus* Brot. extracts », *Int. J. Food Prop.*, vol. 16, n° 6, p. 1339-1350, août 2013.
- [156] S. Aslantürk, et Çelik, T.A, « Investigation of antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the extracts from tubers of *Asphodelus aestivus* Brot. », *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 7, n° 11, p. 610-621, mars 2013.

Références bibliographiques

- [157] A. Di Petrillo *et al.*, « Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts », *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 16, n° 1, p. 453, déc. 2016.
- [158] M. Oskay, K. Aktas, D. Oskay, et C. Azeri, « *Asphodelus aestivus* (Liliaceae)' un Antimikrobiyal Etkisinin Çukur ve Disk Diffüzyon Yöntemiyle Karşılaştırmalı Olarak Belirlenmesi », *Ekoloji*, vol. 16, p. 62-65, janv. 2007.
- [159] M. Abu Darwish et M. Ateyyat, « The Pharmacological and Pesticidal Actions of Naturally Occurring 1,8-dihydroxyanthraquinones Derivatives », p. 495-505, janv. 2008.
- [160] G. Tirzitis et G. Bartosz, « Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights », *Acta Biochim. Pol.*, vol. 57, n° 2, p. 139-142, 2010.
- [161] S. Kandi et A. L. Charles, « Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis », *Food Chem.*, vol. 287, p. 338-345, juill. 2019.
- [162] D. Villaño, M. S. Fernández-Pachón, M. L. Moyá, A. M. Troncoso, et M. C. García-Parrilla, « Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical », *Talanta*, vol. 71, n° 1, p. 230-235, janv. 2007.
- [163] P. Molyneux, « The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity », *Songklanakarin J Sci Technol*, vol. 26, n° 2, p. 211-219, nov. 2003.
- [164] K. H. Musa, A. Abdullah, et A. Al-Haiqi, « Determination of DPPH free radical scavenging activity: application of artificial neural networks », *Food Chem.*, vol. 194, p. 705-711, mars 2016.
- [165] T. Hatano, H. Kagawa, T. Yasuhara, et T. Okuda, « Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical

Références bibliographiques

- scavenging effects », *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, vol. 36, n° 6, p. 2090-2097, juin 1988.
- [166] G. Agbor, « Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay », *Nutr. Diet. IJFS Int. J. Food Sci.*, vol. 1, p. 1-19, 2014.
- [167] M. S. Blois, « Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical », *Nature*, vol. 181, n° 4617, p. 1199-1200, avr. 1958.
- [168] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, et C. Rice-Evans, « Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, n° 9-10, p. 1231-1237, mai 1999.
- [169] J. Sochor *et al.*, « Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages », *Molecules*, vol. 15, n° 12, p. 8618-8640, nov. 2010.
- [170] M. G. Miguel, « Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review », *Molecules*, vol. 15, n° 12, p. 9252-9287, déc. 2010.
- [171] N. J. Miller, J. Sampson, L. P. Candeias, P. M. Bramley, et C. A. Rice-Evans, « Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls », *FEBS Lett.*, vol. 384, n° 3, p. 240-242, avr. 1996, doi: 10.1016/0014-5793(96)00323-7.
- [172] Y.-C. Chung, C.-T. Chang, W.-W. Chao, C.-F. Lin, et S.-T. Chou, « Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1 », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, n° 8, p. 2454-2458, avr. 2002.
- [173] H.-B. Li, C.-C. Wong, K.-W. Cheng, et F. Chen, « Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants », *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 41, n° 3, p. 385-390, avr. 2008.

Références bibliographiques

- [174] M. Oyaizu, « Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. », *Jpn. J. Nutr. Diet.*, vol. 44, n° 6, p. 307-315, 1986.
- [175] R. K. Adhikamsetty, N. R. Gollapalli, et S. B. Jonnalagadda, « Complexation kinetics of Fe²⁺ with 1,10-phenanthroline forming ferriin in acidic solutions », *Int. J. Chem. Kinet.*, vol. 40, n° 8, p. 515-523, 2008.
- [176] R. Belcher, « The application of chelate compounds in analytical chemistry », *Pure Appl. Chem.*, vol. 34, n° 1, p. 13-28, 1973.
- [177] R. Apak *et al.*, « Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay », *Mol. Basel Switz.*, vol. 12, n° 7, p. 1496-1547, juill. 2007.
- [178] A. Szydłowska-Czerniak, C. Dianoczki, K. Recseg, G. Karlovits, et E. Szlyk, « Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods », *Talanta*, vol. 76, p. 899-905, août 2008.
- [179] L. Azeez, A. Lateef, et S. A. Adebisi, « Silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized using pod extract of *Cola nitida* enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *Amaranthus caudatus* Linn », *Appl. Nanosci.*, vol. 7, n° 1, p. 59-66, févr. 2017.
- [180] K. Sridhar et A. L. Charles, « In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC₅₀ using advanced statistical programs », *Food Chem.*, vol. 275, p. 41-49, mars 2019.
- [181] Mustafa Ozyürek, N. Güngör, S. Baki, K. Güçlü, et R. Apak, « Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols », *Anal. Chem.*, vol. 84, n° 18, p. 8052-8059, sept. 2012.
- [182] L. Rahalison, M. Hamburger, K. Hostettmann, M. Monod, et E. Frenk, « A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants », *Phytochem. Anal.*, vol. 2, n° 5, p. 199-203, 1991.

Références bibliographiques

- [183] R. L. Fabri, M. S. Nogueira, J. dos R. Moreira, M. L. M. Bouzada, et E. Scio, « Identification of Antioxidant and Antimicrobial Compounds of *Lippia* Species by Bioautography », *J. Med. Food*, vol. 14, n° 7-8, p. 840-846, juill. 2011.
- [184] L. E. Hebert *et al.*, « Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population », *JAMA*, vol. 273, n° 17, p. 1354-1359, mai 1995.
- [185] C. M. Beard, E. Kokmen, P. C. O'Brien, et L. T. Kurland, « The prevalence of dementia is changing over time in Rochester, Minnesota », *Neurology*, vol. 45, n° 1, p. 75-79, janv. 1995.
- [186] I. Orhan, B. Sener, M. I. Choudhary, et A. Khalid, « Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 91, n° 1, p. 57-60, mars 2004.
- [187] H. Mabrouk *et al.*, « Butyrylcholinesterase activity in schizophrenic patients », *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, vol. 69, n° 6, p. 647-652, nov. 2011.
- [188] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, et R. M. Featherstone, « A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 7, n° 2, p. 88-95, juill. 1961.
- [189] B. A. Rumpold et O. K. Schlüter, « Nutritional composition and safety aspects of edible insects », *Mol. Nutr. Food Res.*, vol. 57, n° 5, p. 802-823, mai 2013.
- [190] M. Seo *et al.*, « *Tenebrio molitor* Larvae Inhibit Adipogenesis through AMPK and MAPKs Signaling in 3T3-L1 Adipocytes and Obesity in High-Fat Diet-Induced Obese Mice », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, n° 3, p. 518, févr. 2017.
- [191] D. K. Gessner *et al.*, « Insect Meal as Alternative Protein Source Exerts Pronounced Lipid-Lowering Effects in Hyperlipidemic Obese Zucker Rats », *J. Nutr.*, vol. 149, n° 4, p. 566-577, avr. 2019.

Références bibliographiques

- [192] N. M. de Carvalho, F. Teixeira, S. Silva, A. R. Madureira, et M. E. Pintado, « Potential prebiotic activity of *Tenebrio molitor* insect flour using an optimized in vitro gut microbiota model », *Food Funct.*, vol. 10, n° 7, p. 3909-3922, juill. 2019.
- [193] J. A. Ortiz *et al.*, « Insect Mass Production Technologies », p. 153-201, 2016.
- [194] G. W. Felton et C. B. Summers, « Antioxidant systems in insects », *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, vol. 29, n° 2, p. 187-197, 1995.
- [195] C. Liu, J. Masri, V. Perez, C. Maya, et J. Zhao, « Growth Performance and Nutrient Composition of Mealworms (*Tenebrio Molitor*) Fed on Fresh Plant Materials-Supplemented Diets », *Foods Basel Switz.*, vol. 9, n° 2, p. E151, févr. 2020.
- [196] T. van der Valk et A. van der Meijden, « Toxicity of scorpion venom in chick embryo and mealworm assay depending on the use of the soluble fraction versus the whole venom », *Toxicon Off. J. Int. Soc. Toxicology*, vol. 88, p. 38-43, sept. 2014.
- [197] « FIGURE 2 | The mealworm *Tenebrio molitor*. (A) Life cycle showing larva,... », *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/figure/The-mealworm-Tenebrio-molitor-A-Life-cycle-showing-larva-pupa-and-adult-Epic_fig2_338039207 (consulté le 31 mai 2022).
- [198] Barigozzi, C, « Genus *Artemia*: problems of systematic. Brine Shrimp *Artemia* Appl: Morphol, General, Radiobiol, Toxicol. In: Persoone, G., P. Sorgeloos., O.A. Roels., E. Jaspers (eds) », *Univ Press Wett Belg.*, p. 147-154, 1980.
- [199] Vos, J et Transutapanit, A, « Detailed report on *Artemia* cysts inoculation in Bangpakong », *FAOUNDP Field Doc*, p. 54, 1979.
- [200] M. Hamidi, B. Jovanova, et T. Kadifkova Panovska, « Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model », *Maced. Pharm. Bull.*, vol. 60, p. 9-18, avr. 2014.

Références bibliographiques

- [201] E. L. Jacques Quignard *et al.*, « Median Lethal Concentrations of Amazonian Plant Extracts in the Brine Shrimp Assay », *Pharm. Biol.*, vol. 42, n° 3, p. 253-257, janv. 2004.
- [202] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, et J. L. McLaughlin, « Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents », *Planta Med.*, vol. 45, n° 5, p. 31-34, mai 1982.
- [203] « Artemia salina (Artémia, artémie) », *AquaPortail*.
<https://www.aquaportail.com/fiche-invertebre-2683-artemia-salina.html> (consulté le 6 juin 2022).
- [204] H. Abe, K. Katada, M. Orita, et M. Nishikibe, « Effects of calcium antagonists on the erythrocyte membrane », *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 43, n° 1, p. 22-26, janv. 1991.
- [205] Ganesh Pandu, Saurabh Maru, et Sarada N.C, « Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant *Mimusops elengi*L. », *J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 5, p. 125-130, juin 2013.
- [206] RESHMA, A. Kp, et B. P, « in vitro anti-inflammatory, antioxidant and nephroprotective studies on leaves of *aegle marmelos* and *ocimum sanctum* », *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, p. 121-129, sept. 2014.

Annexe



Tube a essai



Tube hépariné



Tube éppendorf



Spectrophotomètre des microplaques



Spectrophotomètre UV visible



Centrifugeuse réfrigérée



Bain Marie



Etuve



Microplaque



Agitateur magnétique



Spatules



Micropipette



Eprouvette



Entonnoir



**Ampoule a
décanté**



**Barreaux
magnétiques**



Bécher



Plaque CCM



Balance de précision



Cuve de chromatographie



Evaporateur rotatif



Vortex



pH mètre

RESUME

Résumé

le but de Cette étude d'évaluer les activités enzymatiques, antioxydantes, anti-inflammatoires et les dosages de toxicité et cytotoxicité des trois extraits d'une espèce de genre *Asphodelus* a savoir l'extrait acétate d'éthyle, n-butanol et l'extrait des bulbes.

Plusieurs substances de référence sont utilisées pour étudier l'activité biologique tel que le BHA, BHT, acide ascorbique, trolox et l' α -tocophérol pour les activités antioxydantes, Le galantamine pour l'activité enzymatique, bichromate de potassium dans la cytotoxicité, le diclofénac et l'acide gallique dans les activités anti-inflammatoires.

Les résultats des activités antioxydantes (DPPH, ABTS, FRAP, phénanthroline, SNP), ont montré que l'activité la plus importante a été observée avec l'extrait d'acétate d'éthyle avec des concentrations $IC_{50}=10,47\pm 0,53$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=9,29\pm 0,87$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=73,91\pm 1,66$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}<3,125$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=74,03\pm 8,38$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique utilisant le sang des rats montre que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une puissante activité, avec une concentration de $83,95\% \pm 0,54$.

L'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase par la méthode d'Ellman et al (1961), l'extrait d'acétate d'éthyle montre une faible activité avec un $IC_{50} > 200$ $\mu\text{g/ml}$, tandis que les autres extraits n'ont aucune activité.

Les tests de toxicité et cytotoxicité sur les larves *Artemia Salina* et *Tenebrio Molitor* montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle a une faible toxicité, contrairement au deux autres extraits présentent des pourcentages légèrement supérieur au dernier.

Mots clés : *Asphodelus*, activité antioxydante, activité enzymatique, activité de toxicité, activité anti-inflammatoires.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the enzymatic, antioxidant, anti-inflammatory activities and the toxicity and cytotoxicity dosages of the three extracts of a species of the genus *Asphodelus* namely the acetate extract, n-butanol and the extract of the bulbs.

Several reference substances are used to study biological activity such as: BHA, BHT, ascorbic acid, trolox, α -tocopherol for antioxidant activities, galantamine for enzymatic activity, potassium dichromate in cytotoxicity, diclofenac and gallic acid in anti-inflammatory activities.

The results of the antioxidant activities (DPPH, ABTS, FRAP, phenanthroline, SNP), showed that the most important activity was observed with the ethyl acetate extract with concentrations $IC_{50}=10.47\pm 0.53$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=9.29\pm 0.87$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=73.91\pm 1.66$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}<3.125$ $\mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=74.03\pm 8.38$ $\mu\text{g/ml}$ respectively.

The evaluation of anti-inflammatory activity *in vitro* by the osmotic and heat stress red blood cell membrane protection test using rat blood shows that ethyl acetate extract possesses powerful activity, with a concentration of $83.95\% \pm 0.54$.

The inhibitory activity of butyrylcholinesterase by the method of Ellman et al (1961) the ethyl acetate extract shows weak activity with an $IC_{50} > 200$ $\mu\text{g/ml}$, while the other extracts have no activity.

Toxicity and cytotoxicity tests on *Artemia Salina* and *Tenebrio Molitor* larvae show that the ethyl acetate extract has low toxicity, unlike the other two extracts with percentages slightly higher than the latter.

Key words: *Asphodelus*, antioxidant activity, enzymatic activity, toxicity activity, anti-inflammatory activity.

ملخص

الهدف من دراسة ثلاث مستخلصات نبتة من جنس البروق (Asphodelus) هو تقييم الأنشطة الأنزيمية وفعالية مكوناتها كمضادات الأكسدة ومضادات للالتهابات وكذلك قياس جرعات السمية والسمية الخلوية وهي مستخلصات أسيتات إيثيل و ن- بيوتانول بالإضافة إلى خلاصة البصيلات.

تم استخدام العديد من المركبات المرجعية لدراسة الفعالية البيولوجية مثل: (BHA ، BHT ، حمض الأسكوربيك ، ترولوكس ، ألفا توكوفيرول) كمضادات للأكسدة. و الجالانطامين المستخدم كمرجع في النشاط الأنزيمي ، وثاني كرومات البوتاسيوم في السمية الخلوية وديكلوفيناك ، وحمض الغاليك في الأنشطة المضادة للالتهابات.

فيما يتعلق بأنشطة مضادات الأكسدة (DPPH ، ABTS ، FRAP ، الفينانثرولين ، SNP) ، لوحظ أعلى نشاط مع مستخلص أسيتات الإيثيل بتركيزات $IC_{50} = 10.47 \pm 0.53$ ميكروغرام / مل ، $IC_{50} = 9.29 \pm$ بتركيزات 0.87 ميكروغرام / مل ، $IC_{50} = 73.91 \pm 1.66$ ميكروغرام / مل ، $IC_{50} < 3.125$ ميكروغرام / مل ، $IC_{50} = 74.03 \pm 8.38$ ميكروغرام / مل على التوالي.

يوضح تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر عن طريق اختبار حماية غشاء خلايا الدم الحمراء بالتناسحي والإجهاد الحراري باستخدام دم الفئران أن مستخلص أسيتات الإيثيل يمتلك نشاطاً قوياً ، بتركيز 83.95 ± 0.54 %.

يتم تحديد النشاط التثبيطي لبوتيريل كولينستيراز بواسطة طريقة Ellman and al (1961) حيث وجد أن مستخلص أسيتات الإيثيل له نشاط منخفض مع $IC_{50} > 200$ ميكروغرام / مل ، بينما المستخلصات الأخرى ليس لها أي نشاط.

تظهر اختبارات السمية والسمية الخلوية على يرقات Artemia Salina و Tenebrio Molitor أن مستخلص أسيتات الإيثيل منخفض السمية ، على عكس المستخلصين الآخرين بنسب أعلى قليلاً من هذا الأخير.

الكلمات المفتاحية :

البروق=الأسفوديليس، نشاط مضاد الاكسدة، نشاط أنزيمي، نشاط السمية، نشاط مضاد للالتهاب

Activité antioxydante et anti-inflammatoire et toxicité et cytotoxicité d'une espèce du genre *Asphodelus***Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du diplôme de Master****Résumé**

le but de Cette étude d'évaluer les activités enzymatiques, antioxydantes, anti-inflammatoires et les dosages de toxicité et cytotoxicité des trois extraits d'une espèce de genre *Asphodelus* a savoir l'extrait acétate d'éthyle, n-butanol et l'extrait des bulbes.

Plusieurs substances de référence sont utilisées pour étudier l'activité biologique tel que le BHA, BHT, acide ascorbique, trolox et l' α -tocophérol pour les activités antioxydantes, Le galantamine pour l'activité enzymatique, bichromate de potassium dans la cytotoxicité, le diclofénac et l'acide gallique dans les activités anti-inflammatoires.

Les résultats des activités antioxydantes (DPPH, ABTS, FRAP, phénanthroline, SNP), ont montré que l'activité la plus importante a été observée avec l'extrait d'acétate d'éthyle avec des concentrations $IC_{50}=10,47\pm 0,53 \mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=9,29\pm 0,87 \mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=73,91\pm 1,66 \mu\text{g/ml}$, $IC_{50}<3,125 \mu\text{g/ml}$, $IC_{50}=74,03\pm 8,38 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par le test de protection de la membrane du globule rouge vis-à-vis du stress osmotique et thermique utilisant le sang des rats montre que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une puissante activité, avec une concentration de $83,95\% \pm 0,54$.

L'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase par la méthode d'Ellman et al (1961), l'extrait d'acétate d'éthyle montre une faible activité avec un $IC_{50} >200 \mu\text{g/ml}$, tandis que les autres extraits n'ont aucune activité.

Les tests de toxicité et cytotoxicité sur les larves *Artemia Salina* et *Tenebrio Molitor* montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle a une faible toxicité, contrairement au deux autres extraits présentent des pourcentages légèrement supérieur au dernier.

Mots clés : *Asphodelus*, activité antioxydante, activité enzymatique, activité de toxicité, activité anti-inflammatoires.

Laboratoires de recherche : Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).

Examineur 1 : Mr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).

Examineur 2 : Mr BENSOUICI Chawki (MRA- CRBT Constantine).