

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة 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

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية  
Département de biochimie et Biologie cellulaire et Moléculaire

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

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences biologique

**Spécialité :** *Biochimie.*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Évaluation *in vitro* de certaines activités biologiques des extraits  
d'une plante endémique Algérienne**

---

Présenté par : AMROUNI Nesrine

Le 25/06/2023

TRIFA Narimen

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Dr. HALMI Sihem (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Rapporteur :** Dr. NOUI Amira (MRB - CRBt).  
**Co-Encadreur :** Dr. MADI Aicha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur :** Dr. ZEGHAD Nadia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire  
2022 – 2023**

## **Remerciements**

*Nous tenons d'abord à remercier Dieu le tout-puissant et miséricordieux, qui nous avons la force et la patience durant ces longues années d'études.*

*Nos vifs remerciements à notre encadrant **Dr. Noui Amira** Maître de recherche classe B au centre de recherche en biotechnologie (CRBt), Constantine, pour les orientations, les encouragements et les fructueux conseils dans la réalisation de ce travail.*

*Nous voudrions également remercier notre Co-encadreur **Dr. Madi Aicha**, Maître assistant classe B de l'université de Constantine 1 d'avoir co-encadrer le présent travail.*

*Nous tenons chaleureusement à remercier les membres du jury **Dr. HALMI Sihem** et **Dr. ZEGHAD Nadia***

*Nos remerciements vont également à toute l'équipe de laboratoires du Centre de Recherche en Biotechnologie, en particulier **M<sup>elle</sup> Sara**, **Mr Mehdi M<sup>me</sup>.Samiha**. **Dr. BENSOUICI Chawki** chef du laboratoire de biochimie au centre de Recherche en Biotechnologie.*

*Un grand merci également à **M.r Amine Smaili** chef de laboratoire électrophorèse au centre de Recherche en Biotechnologie*

*Sans Oublier le plus grand merci le **Dr. BOUDARSA Nabil** ainsi que **Dr. BEN NAAMOUN**.*

*Merci pour tous ceux qui ont participé à la réussite de ce mémoire.*



# *Dédicace*

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrasses, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*À L'homme, mon précieux offre du Dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon père.*

*À la femme qui m'a donné du bonheur, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère.*

*À mon mari, Yasser, qui m'a apporté soutien et réconfort, et na cesse de m'apporter aide et conseils pendant les longues années d'études, que Dieu le protège et lui offre sa chance de bonheur.*

*À mes sœurs, Soumia, Ismahen, Nassima, ceux qui se réjouissent de mon bonheur et écoutent toutes mes plaintes et mes peurs et qui attendent avec impatience mes moments de réussite.*

*À mon frère Issam, qui m'a encouragé et soutenu tout au long de mes études.*

*À ma belle-mère et beau-père qui me donnent le support toutes ces années.*

*À mes beaux-frères et belles-sœurs, Hannen, Assma, Bouzid, Mohamed, qui m'a soutenu et encouragé.*

*À mon amie Narimene ce qui était une source d'inspiration et de bonheur.*

*Nesrine*







# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail*

*A ceux qui j'ai de plus chers au monde, a ceux qui ont veillé à ce que je réussisse, a tous leurs efforts, leur sacrifice, leurs amours, tendresses et affection à l'irremplaçable papa et maman.*

*Que ma mère et mon père trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus sincères et mon attachement le plus profond, ils sont au-dessus de tous remerciements et je prie le bon dieu qu'il leur donne une longue vie plein de joie et de bonheur.*

*A nos chers frères qui étaient à coté de nous au moment ou nous avons besoin surtout d'eux.*

*A mes très chère sœurs : chaima. Manar*

*A mon frère bien aimé : HOUSSE*

*A vous aussi que je n'oublierai jamais et à qui ce travail aurait fait une énorme joie , à vous que j'aime , je ne cesse pas de penser à vous , MES TENTES .*

*A tous ceux qui occupent une place dans mon cœur .*

NARIMEN

## Liste des abréviations

Abréviations	Synonyme
<b>ABTS</b>	2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
<b>EAJR</b>	Extrait acétate de <i>Jaubertia reboudiana</i>
<b>EBJR</b>	Extrait butanolique de <i>Jaubertia reboudiana</i>
<b>ECJR</b>	Extrait chloroformique de <i>Jaubertia reboudiana</i>
<b>EMJR</b>	Extrait méthanolique de <i>Jaubertia reboudiana</i>
<b>EOA</b>	Espèce oxygénée activée
<b>FCR</b>	Folin-Ciocalteu
<b>Fe<sup>+2</sup></b>	Fer ferreux.
<b>Fe<sup>+3</sup></b>	Fer ferrique.
<b>GO<sup>•</sup></b>	Le radical galvinoxyle
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène.
<b>Ir</b>	Indices de rétention (Ir)
<b>NO<sup>•</sup></b>	Monoxide d'azote.
<b>O<sub>2</sub><sup>+•</sup></b>	Radical superoxide.
<b>OH<sup>•</sup></b>	Radical Hydroxyle.
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>EAG</b>	Équivalent de l'acide gallique

<b>FRAP</b>	Pouvoir réducteur
<b>g</b>	Gramme
<b>kg</b>	Kilogramme
<b>m</b>	Masse
<b>mg</b>	Milligramme
<b>min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mM</b>	Milli molaire
<b>M</b>	Masse molaire
<b>mmol</b>	Millimole
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>ppm</b>	Partie par million
<b>s</b>	Seconde
<b>TFC</b>	Contenu total en flavonoïdes
<b>TPC</b>	Contenu total en polyphénols
<b>µg</b>	Microgramme
<b>µl</b>	Microlitre
<b>DMSO</b>	Diméthyle Sulfoxide
<b>EQ</b>	Équivalent de la quercétine
<b>TEAC</b>	Capacité antioxydante équivalente Trolox

<b>SO</b>	Stress oxydatif
<b>ROS</b>	Réactive oxygène species

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Présentation de <i>Jaubertia reboudiana</i> .....	5
<b>Figure 2 :</b> Présentation de <i>Jaubertia reboudiana</i> .....	6
<b>Figure 3 :</b> Présentation de famille Rubiaceae (Espèce <i>Galium odoratum</i> ) .....	8
<b>Figure 4 :</b> Acide benzoïque .....	15
<b>Figure 5:</b> Acide cinnamique .....	15
<b>Figure 6:</b> Les lignanes et les lignines .....	16
<b>Figure 7:</b> Les coumarines.....	16
<b>Figure 8:</b> Les structure des Lignan et Lignin .....	16
<b>Figure 9 :</b> Les flavonoïdes .....	18
<b>Figure 10 :</b> Les alcaloïdes .....	19
<b>Figure 11:</b> Déséquilibre Antioxydant /Oxydant .....	21
<b>Figure 12 :</b> La présentation des différentes formes de ROS .....	23
<b>Figure 13:</b> La transformation du radical DPPH' en DPPHH .....	25
<b>Figure 14:</b> Réaction chimique ABTS .....	25
<b>Figure 15:</b> La réaction chimique FRAP .....	26
<b>Figure 16 :</b> phénanthroline .....	26
<b>Figure 17 :</b> Réaction chimique Phénanthroline.....	27
<b>Figure 18:</b> Présentation de l'inhibition de l'enzyme Alpha-amylase.....	28
<b>Figure 19 :</b> Evaporateur rotatif utilisé pour l'élimination du solvant d'extraction .....	31
<b>Figure 20:</b> différentes étapes d'extraction des parties aérienne de <i>jaubertia reboudiana</i> .....	32
<b>Figure 21:</b> Aspect des solutions obtenues avec les différents solvants pendant la décantation. ....	33
<b>Figure 22:</b> Rendement de l'extraction .....	39
<b>Figure 23:</b> La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	40
<b>Figure 24:</b> Evaluation des polyphénols totaux des extraits de <i>Jaubertia reboudiana</i> ...	41
<b>Figure 25:</b> La courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	42
<b>Figure 26:</b> Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de <i>Jaubertia rboudiana</i> .....	42
<b>Figure 27:</b> Aspect de la microplaque après l'incubation.....	43
<b>Figure 28 :</b> Pourcentage d'inhibition antiradicalaire DPPH de chaque extrait.....	44
<b>Figure 29 :</b> Activité antiradicalaire du standard contre le DPPH .....	44
<b>Figure 30:</b> La concentrations inhibitrices CI <sub>50</sub> des différents extraits pour le test DPPH. .....	45



<b>Figure 31</b> : La pourcentage d'inhibition antiradicalaire ABTS de chaque extrait.....	45
<b>Figure 32</b> : pourcentage d'inhibition antiradicalaire ABTS du Trolox.....	46
<b>Figure 33</b> : Concentrations inhibitrices CI <sub>50</sub> des differents extraits pour le test ABTS..	46
<b>Figure 34</b> : Pouvoir réducteur des différents extraits de la plante .....	47
<b>Figure 35</b> : Le pouvoir réducteur du standard Trolox .....	47
<b>Figure 36</b> : Pourcentage d'inhibition antiradicalaire phénanthroline de chaque extrait	48
<b>Figure 37</b> : Courbe d'étalonnage Trolox phénanthroline.....	48
<b>Figure 38</b> : Les valeurs de test d'inhibition de l'α-amylase pour l'acarbose.....	49
<b>Figure 39</b> : Profil des microplaques pour le dosage des polyphénols après l'incubation	55
<b>Figure 40</b> : Profil des microplaques pour le dosage des flavonoïdes.....	56
<b>Figure 41</b> : L'aspect de la microplaque pour l'activité antiradicalaire DPPH.....	56
<b>Figure 42</b> : Profil de la microplaque pour l'activité antiradicalaire ABTS <sup>+</sup> .....	56
<b>Figure 43</b> : Profil de la microplaque pour l'activité enzymatique (inhibition alpha-amylase) .....	57

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : La classification botanique de <i>Jaubertia reboudiana</i> .....	7
---	---

<b>Tableau 2:</b> Biogéographie de la plante <i>Jaubertia reboudiana</i> .....	7
<b>Tableau 3:</b> La pourcentage des alcaloïdes disponible dans quelques espèces de la famille <i>Rubiaceae</i> .....	9
<b>Tableau 4:</b> Les composants phénoliques.....	13
<b>Tableau 5:</b> Espèces réactives de l'oxygène .....	22
<b>Tableau 6:</b> La teneur en composés phénoliques, flavonoïdes.....	41
<b>Tableau 7 :</b> Inhibition de l' $\alpha$ -amylase par les extraits de <i>Jaubertia reboudiana</i> .....	49

# **Partie bibliographique**

# Bibliographie

Introduction.....	2
-------------------	---

## Chapitre I: *Jaubertia reboudiana*

I.1	Présentation botanique et géographique .....	5
I.1.1	Description botanique .....	5
I.1.2	Systématique botanique.....	6
I.1.3	La Biogéographie : .....	7
I.2	La famille <i>Rubiaceae</i> ( <i>Rubiacées</i> ) .....	7
I.3	Composition chimique de la famille <i>Rubiaceae</i> .....	8

## Chapitre II : Substances bioactives d'origine végétale

II.1	Généralités.....	11
II.2	Principales classes de substances bioactives d'origine végétale .....	11
II.3	Polyphénols .....	11
II.3.1	Introduction .....	11
II.3.2	Propriétés chimiques .....	12
II.3.3	Effets biologiques des polyphénols : .....	14
II.3.4	Classification de polyphénols.....	15
II.3.4.1	Les non flavonoïdes.....	15
II.3.4.1.1	Les acides phénoliques .....	15
II.3.4.1.2	Les stilbènes.....	16
II.3.4.2	Les flavonoïdes.....	16
II.3.4.3	Les tanins.....	18
II.3.5	Alcaloïdes.....	18

## Chapitre III : Activités biologiques

III.1	Stress oxydatif.....	21
III.2	Radicaux libres.....	21
III.2.1	Oxygène, espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	22

III.3	Antioxydant.....	23
III.3.1	Antioxydants enzymatiques.....	24
III.3.2	Antioxydants non enzymatiques.....	24
III.3.3	Antioxydants naturels .....	24
III.4	Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire.....	24
III.4.1	Activité antiradicalaire au DPPH .....	24
III.4.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	25
III.4.3	Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	26
III.4.4	Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> phénanthroline .....	26
III.5	Activité enzymatique.....	27
III.5.1	Inhibition de l'alpha amylase .....	27

#### **Chapitre IV : Matériel et méthodes**

IV.1	Matériel végétal.....	31
IV.2	Méthode de d'extractions .....	31
IV.3	Méthodes des extractions liquide- liquide.....	32
IV.4	Dosage colorimétrique des polyphénols (TPC) .....	33
IV.4.1	Dosage des polyphénols totaux .....	33
IV.4.1.1	Principe.....	33
IV.4.1.2	Mode opératoire.....	33
IV.4.2	Dosage des flavonoïdes .....	34
IV.4.2.1	Principe.....	34
IV.4.2.2	Mode opératoire.....	34
IV.4.3	Dosage des tannins .....	34
IV.4.3.1	Principe.....	34
IV.4.3.2	Mode opératoire.....	34
IV.5	Evaluation de l'activité antioxydante .....	35
IV.5.1	Activité antiradicalaire au DPPH .....	35

IV.5.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>+</sup> .....	35
IV.5.3	Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	36
IV.5.4	Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> - phénanthroline ....	36
IV.6	Activités enzymatiques (Inhibition de l'alpha-amylase).....	36
IV.7	Analyse statistique.....	37

## **Chapitre V : Résultats et discussion**

V.1	Rendement d'extraction : .....	39
V.2.	Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes .....	40
V.2.1	Dosage des polyphénols totaux .....	40
V.2.2	Dosages des flavonoïdes .....	41
V.2	Les tanins.....	42
V.3	Les activités antioxydantes.....	43
V.3.1	Activité antiradicalaire DPPH.....	43
V.3.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>+</sup> .....	45
V.3.3	Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	46
V.3.4	Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>2+</sup> – phénanthroline .....	47
V.4	Activités enzymatiques .....	49
V.4.1	Inhibition de l'alpha amylase .....	49
	<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>51</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>52</b>
	<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>59</b>
	<b>Résumé.....</b>	<b>66</b>



# **Introduction**

## Introduction

---

### Introduction

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a trouvé dans la nature et particulièrement, chez les plantes des solutions à ses problèmes quotidiens et surtout pour traiter et soigner toutes sortes de maladies. (Lee, 2004)

Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels, attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire. (World Health Organization.,2002)

Malgré l'utilisation croissante des plantes médicinales à travers le monde, il reste encore beaucoup de chose à comprendre sur les mécanismes de biosynthèse et de leurs vertus thérapeutiques. (Gao *et al.*,2001)

L'Algérie par son emplacement géographique particulier et ces qualités climatiques très variées, présente une végétation riche et diverse. On compte plus de 3000 espèces de plantes, dont 15% endémiques, appartenant à plusieurs familles botaniques. (Gaussen *et al.*,1952)

Dans ce contexte, s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'évaluer certaines activités biologiques des extraits de la plante *Jaubertia reboudiana* pour évaluer la possibilité de son utilisation en tant que source de substances bioactives.

Notre recherche est structurée en trois grandes parties dont la première, est consacrée à des généralités bibliographiques.

La seconde concerne la description du matériel végétal, extraction avec des solvants de différentes polarités, quantification des principales classes de composés phénoliques à savoir les polyphénols totaux, les flavonoïdes, et les tannins condensés et l'évaluation des activités antioxydantes.

La troisième partie illustre les résultats et discussion.

# **Partie théorique**

# Chapitre I

*Jaubertia reboudiana*

## I.1 Présentation botanique et géographique

## I.1.1 Description botanique

**Nom:** *Jaubertia reboudiana* (Backlund *et al.*,2007)



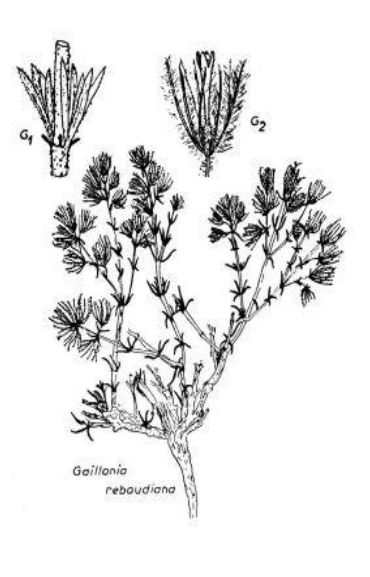
**Basionyme:** *Gaillonia reboudiana*

**Synonyms:** *Plocama reboudiana*

*Choulettia reboudiana*

*Galium reboudiana*

*Neogaillonia reboudiana*

		
<p>2017/02/16-Piste Tafraoute-SidiAli-Tagounite</p>	<p>Planche extraite de Flora atlantica, Cosson (1882)</p>	<p>Planche extraite de la Flore du Sahara (Ozenda, P., 1958).</p>

**Figure 1:** Présentation de *Jaubertia reboudiana* (Backlund *et al.*,2007)

**Description :** petit buisson vivace, rameux et dense, de 30 à 70 centimètres de haut et dégageant une forte odeur fétide lorsqu'on froisse les feuilles ou les tiges. Rameaux blanchâtres. Petites feuilles sub-cylindriques acuminées, opposées et munies de petites stipules foliacées,

l'ensemble formant de pseudo-verticilles. Fleurs petites, de couleur blanc rosé, à 4 pétales soudés. (Kemassi *et al.*, 2014)

Chaque fleur est entourée d'un involucre de 7 à 10 bractées filiformes, longuement ciliées et hirsutes, de couleur pourpre puis brunissant en vieillissant. (Kemassi *et al.*, 2014)



**Figure 2** : Présentation de *Jaubertia reboudiana*

### **I.1.2 Systématique botanique**

Le Genre *Plocama* est classiquement monospécifique, ne comprenant que *P. Pendula*. Cependant une étude récente regroupe dans *Plocama* des espèces qui jusqu'alors appartenaient à plusieurs genres voisins (*Gaillonia*, *Putoria*, *Jaubertia*, *Crocyllis*...), si bien que ce genre se voit riche de 34 espèces (Kemassi *et al.*, 2014).



**Tableau 1:** La classification botanique de *Jaubertia reboudiana* (Backlund *et al.*,2007)

<b>Embranchement</b>	Plantae
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	<i>Rubiaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Jaubertia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Jaubertia reboudiana</i>

### I.1.3 La Biogéographie :

**Tableau 2:** Biogéographie de la plante *Jaubertia reboudiana* (Backlund *et al.*,2007)

<b>Biogéographie :</b>	Espèce saharo-sindienne
<b>Type bio morphologique de Raunkier</b>	Chamaephyte
<b>Port</b>	Ligneux bas souvent mutilé par les herbivores
<b>Préférences édaphiques</b>	Espèce des sols rocailleux.
<b>Préférences hydriques</b>	Espèce xérophile et assez résistante à la sécheresse.
<b>Tolérance aux sels</b>	Non
<b>Biotopes</b>	Plante saxicole se développant dans les bas de pente rocailleux ainsi que dans les regs

## I.2 La famille *Rubiaceae* (*Rubiacées*)

Les plantes de la famille *Rubiaceae* intègrent les galliums et les cafés, la source de l'alcaloïde antipaludique quinine, certaines plantes tinctoriales et des cultivars ornementaux. Il

Il y a environ 600 genres et plus de 13 000 espèces chez les rubiacées, réparties en trois sous-familles :

Les rubiacées sont morphologiquement facilement reconnaissables comme un groupe cohérent par une combinaison de caractéristiques : feuilles opposées qui sont simples et entières, des stipules interpétiolés, des corolles actinomorphes avec sympétales tubulaires et un ovaire infère.

La famille *Rubiaceae* (*Rubiaceae*) est intégrée dans l'ordre Gentianales (*Gentianales*) et dans la classe Magnoliopsida (*Magnoliopsidés*).



**Figure 3** : Présentation de famille *Rubiaceae* (Espèce *Galium odoratum*)

### **I.3 Composition chimique de la famille *Rubiaceae***

Les *Rubiaceae*, en générale, réputées par la richesse en alcaloïdes (Meyer et Anderson.,1952), cette idée a été confirmée après des études menées sur 77 espèces de la famille *Rubiaceae* (Malaisse *et al.* ,1979), il y a quelques exemples dans le tableau suivant :

**Tableau 3:** La pourcentage des alcaloïdes disponible dans quelques espèces de la famille *Rubiaceae* (Malaisse *et al.*, 1979)

<b>Espèce</b>	<b>Alcaloïdes</b>
<i>Leptactina benguellensis</i>	Feuilles (0,5% alcaloïdes) (tige (alcaloïdes) racines(alcaloïdes))
<i>Pavetta cataractarum</i>	Feuilles (0,02% alcaloïdes)
<i>Pavetta crassipes</i>	Feuilles (trace alcaloïdes)
<i>Pavetta gardeniifolia</i>	Feuilles (0,1% alcaloïdes)

# **Chapitre II**

## **Substances bioactives d'origine végétale**

## II.1 Généralités

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Tyler *et al.*, 1981).

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Quelques exemples représentatifs sont présentés ci-après, grâce à une revue des ouvrages de (Bruneton 1993., Guignard, 1996).

## II.2 Principales classes de substances bioactives d'origine végétale

Les substances bioactives sont des molécules tirées d'une source naturelle biologique (animale ou végétale), ayant des propriétés physico-chimiques bénéfiques (anti-tumorales, antivirales, antifongiques, antimicrobiennes, antioxydantes, cicatrisantes...) offrant un large champ d'application : cosmétiques, pharmaceutiques, additifs, compléments alimentaires... (Pouyat-Leclère 2013., Dufour & Garnier, 2019).

## II.3 Polyphénols

### II.3.1 Introduction

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire des plantes.

. Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires,

cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Padayatty *et al.*, 2003).

### II.3.2 Propriétés chimiques

Le terme polyphénol a été introduit en 1980, en remplacement au terme ancien de *tanin végétal* (vegetable tannin) et a été défini comme suit : « Composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines. » Il s'ajoute à cette définition le fait qu'ils possèdent un pouvoir antioxydant élevé (Pandey & Russell., 2009).

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (acide tannique) (Paiva, 1999).

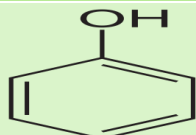
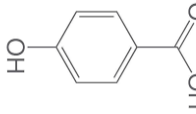
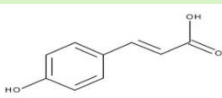
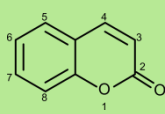
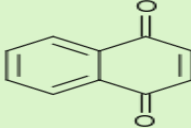
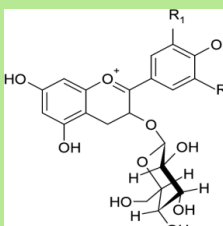
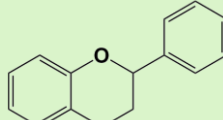
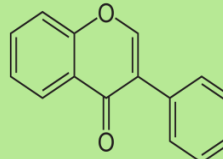
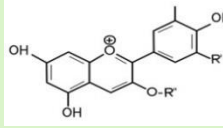
Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique) et coumarines, en naphthoquinones, en stilbénoides (deux cycles C6 liés par 2C), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et anthocyanes (structure C6-C3-C6) et en formes polymérisées : lignanes, lignines, tanins condensés. Ces squelettes carbonés de bases sont issus du métabolisme secondaire des plantes, élaborés par la voie du shikimate. (Tinggi, 2008).

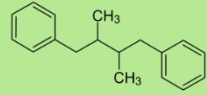
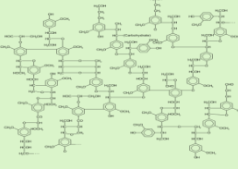
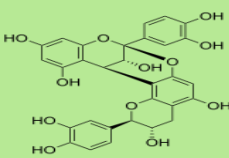
Ce sont des molécules contenant au moins un cycle benzénique et des groupes hydroxyles. C'est parce que ce groupe hydroxyle se lie aux protéines salivaires que les polyphénols sont des astringents, donnant une impression de bouche sèche (Powell, 2000).

En se basant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de composés phénoliques suivantes :



Tableau 4: Les composants phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acide p - hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide p-coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Naphtoquinones	Juglon		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon

(C6-C3)	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3)	Lignines			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6)	Tanins condensés	Procyanidol		Raisins, kaki

### II.3.3 Effets biologiques des polyphénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire. (Fleuriet, 2005).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Fleuriet, 2005).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Fleuriet, 2005).

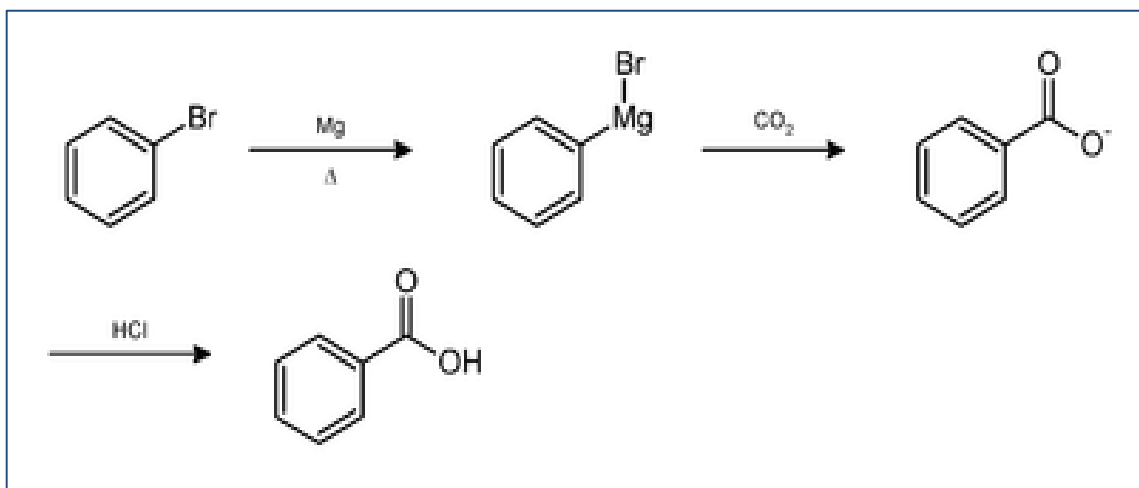
### II.3.4 Classification de polyphénols

#### II.3.4.1 Les non flavonoïdes

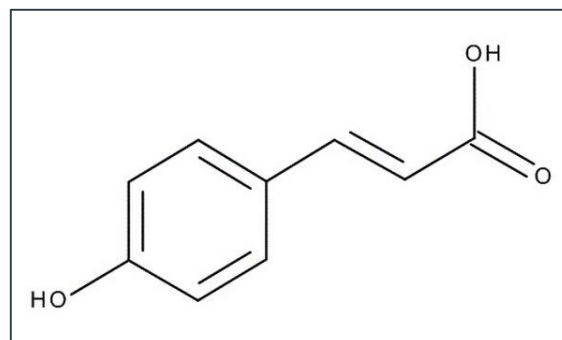
Ce groupe comprend plusieurs composés parmi lesquels on distingue les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones.

##### II.3.4.1.1 Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acide phénolique ; les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. La concentration de l'acide hydroxy-benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques sont très présents (Fleuriet, 2005).



**Figure 4 :** Acide benzoïque (Fleuriet, 2005)



**Figure 5:** Acide cinnamique (Fleuriet, 2005)

II.3.4.1.2 Les stilbènes

Les stilbènes se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales, l'exemple le trans-resveratrol (Fleuriet, 2005., Stalikas ,2007).

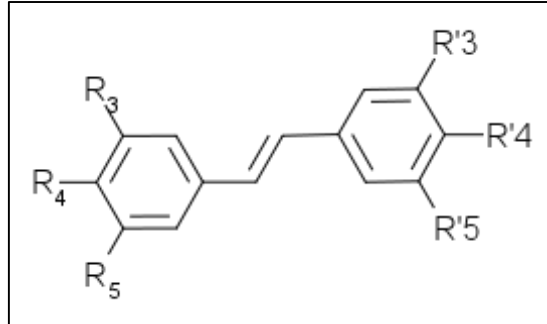


Figure 6: Les lignanes et les lignines (Fleuriet, 2005)

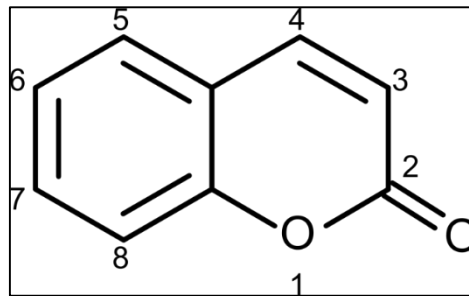
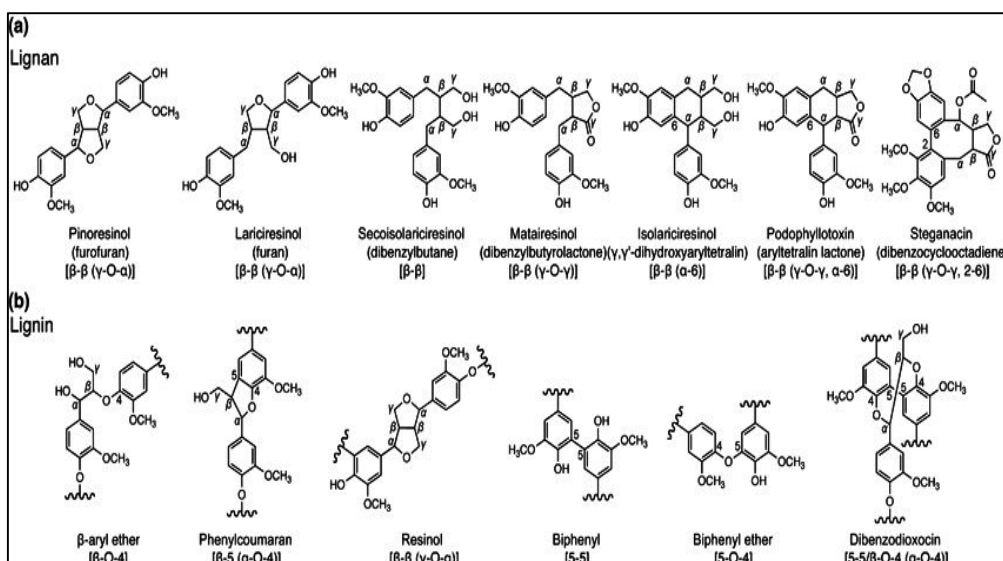


Figure 7: Les coumarines (Stalikas ,2007)

II.3.4.2 Les flavonoïdes



Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en

partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes.

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (Stöckigt *et al.*,2009) et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6) les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (De Rijke *et al.*,2006).

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (Gàbor *et al.*,1988) .On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3-oles, les flavylum, les chalcones, les aures, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, les ptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, le coumestanes, les roténoïdes.) (De Rijke *et al.*,2006). Ont classé les flavonoïdes en 6 familles qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols. Au sein de ces six familles, deux types de structures ont été relevés, celui des flavonoïdes au sens strict dont la structure porte le noyau aromatique B en position 3 sur la chaîne C3 et celui des isoflavonoïdes dont le noyau aromatique B est en position 2 sur la chaîne C3

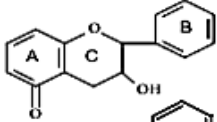
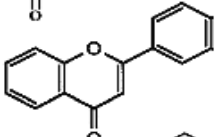
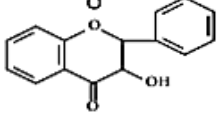
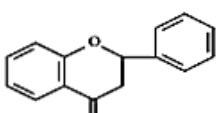
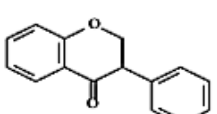
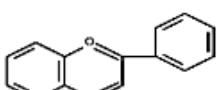
Classe	Structure générale	Flavonoïde
Flavanol		(+)-catéchine (+)-épicatéchine épigallocatechine gallate
Flavone		chrysine apigénine rutine lutéoline lutéoline glucosides
Flavanol		kaempferol quercétine
Flavanone		myricétine tamarixétine naringine taxifoline hesperidine
Isoflavone		génistine génistéine
Anthocyanidine		apigénidine cyanidine

Figure 9 : Les flavonoïdes (De Rijke *et al.*,2006)

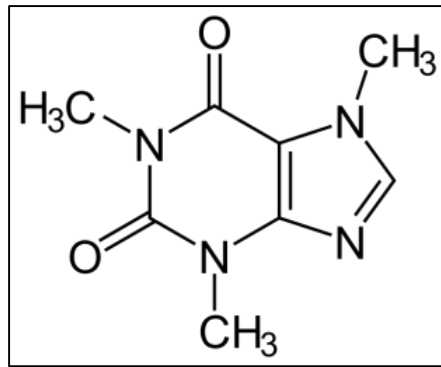
### II.3.4.3 Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux] On distingue : les tanins hydrolysables et condensés (Khanbabae & Ree.,2001).

### II.3.5 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotée et à caractère alcalin. Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine). La morphine a été le premier alcaloïde isolé dans l'opium (Vers,1805). Puis on découvrit la strychnine (1818). Les autres alcaloïdes

plus connus sont : la colchicine, l'atropine, la tubocurarine, la théine, la cocaïne, la mescaline, l'acide lysergique et l'aconitine (Stöckigt *et al.*, 2009).



**Figure 10** : Les alcaloïdes (Stöckigt *et al.*, 2009)

# **Chapitre III**

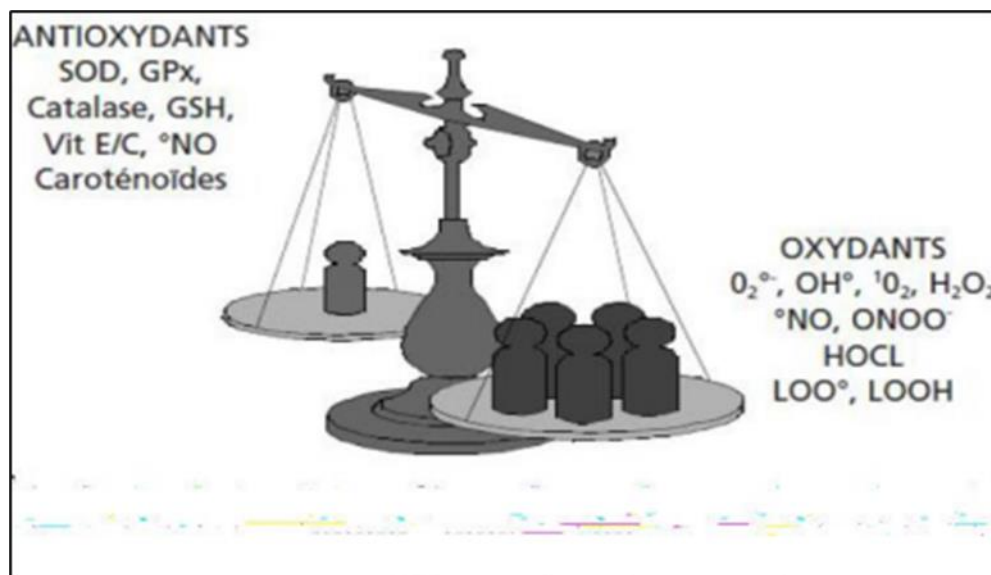
## **Activités biologiques**



### III.1 Stress oxydatif

Le stress oxydatif (SO) est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de substances oxydantes qui sont principalement des ERO (espèces réactives de l'oxygène) (Rajendran *et al.*, 2014).

Ces espèces réactives constituent un facteur non spécifique de la genèse de processus inflammatoire et néoplasique. De nombreux agents et substances induisent la production des radicaux libres (UV du soleil, tabagisme, toxines, métaux lourds et bien d'autres agents nocifs), mais ils sont aussi et surtout produits dans l'organisme pendant la respiration cellulaire. La génération de ces radicaux libres est vitale pour la cellule, mais c'est l'exacerbation de cette production qui est délétère. Les dommages cellulaires engendrés peuvent alors être induits par une surproduction des radicaux libres et/ou par un déficit des systèmes antioxydants protecteurs (Lemineur *et al.*, 2006).



**Figure 11:** Déséquilibre Antioxydant /Oxydant (Rajendran *et al.*, 2014)

### III.2 Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. En biologie, les radicaux libres sont des dérivés réactifs de l'oxygène. Ils sont produits naturellement par notre organisme, principalement par nos cellules, lors de la transformation des nutriments en énergie (métabolisme), mais ils peuvent aussi provenir de sources extérieures comme le tabac, l'exposition aux UV, la pollution, le stress, etc (Valéry *et al.*, 2007).

### III.2.1 Oxygène, espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires et les radicaux libres oxygénés. En effet, la molécule d'oxygène diatomique ( $O_2$ ) ne réagit pas spontanément avec d'autres molécules, car elle contient 2 électrons non appariés (biradical). Pour permettre la réaction de l'oxygène avec les molécules organiques, il y a 2 possibilités : (1) la molécule organique est transformée en une monoradical (une molécule contenant 1 électron non apparié) par l'élimination de 1 électron (oxydation), et / ou (2) l'oxygène est converti en monoradical par l'addition de 1 électron (réduction) (Koppenol, 2001).

L'oxygène, en tant que récepteur final d'électrons dans l'organisme, se transforme en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 2 à 3 % de l'oxygène sont transformés en ERO particulièrement réactionnelles. Dans une première étape, le radical libre anion superoxyde est formé, ce qui conduit par la suite à la production d'autres ERO comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, le radical hydroxyle, l'acide hypochloreux, des dérivés nitrés, ... (Potterat, 1997., Dacosta, 2003., Hennebelle, 2006).

**Tableau 5:** Espèces réactives de l'oxygène

Non radicalaires	Radicaux libres
Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )	Radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )
Oxygène singulet ( $O_2$ )	Radical peroxylipidique ( $LOO^{\bullet}$ )
Acide hypochlorique ( $HOCl$ )	Radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ )
Ozone ( $O_3$ )	Peroxynitrite ( $ONOO^-$ )
Radical oxyde nitrique ( $NO^{\bullet}$ )	

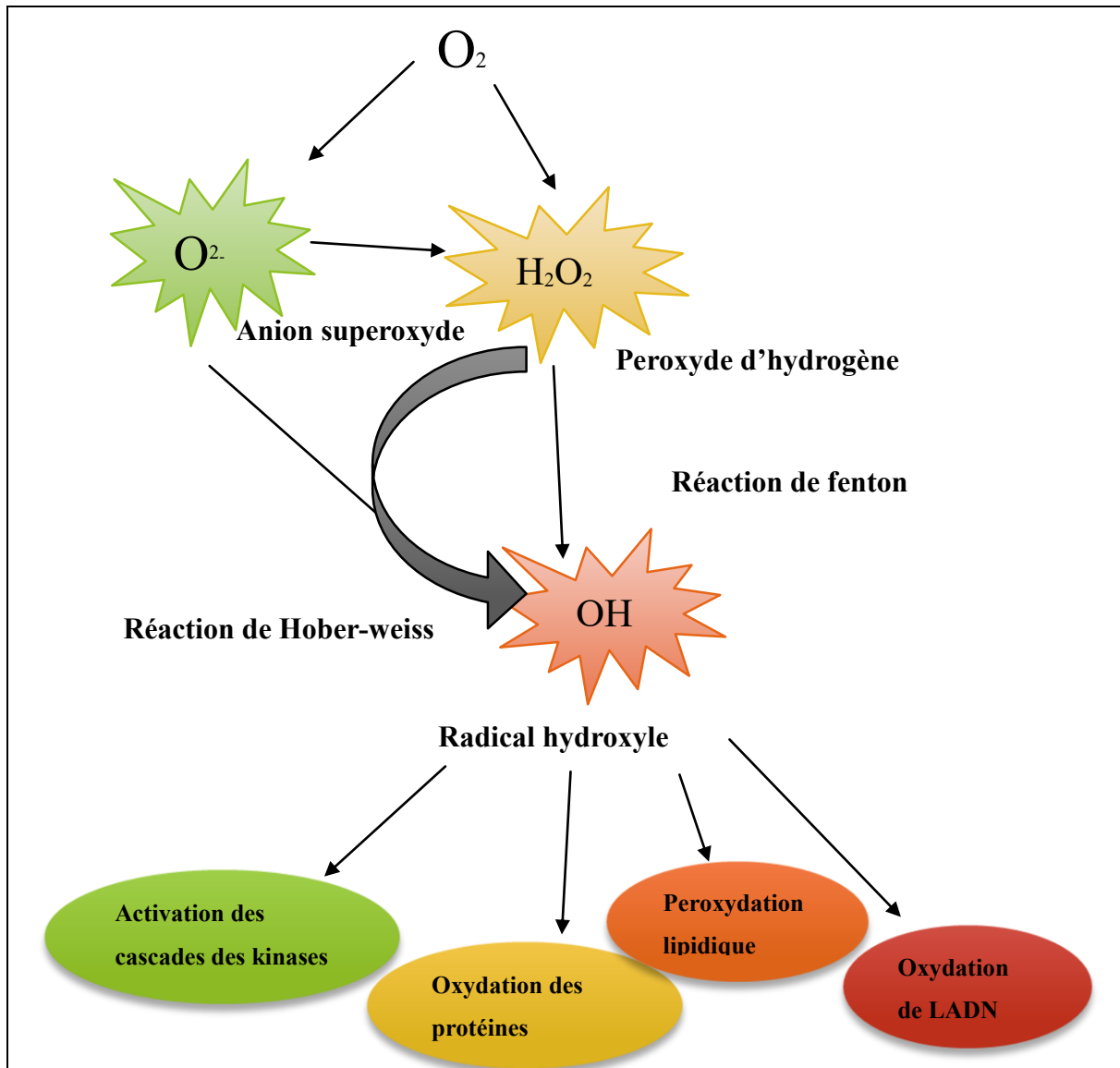


Figure 12 : La présentation des différentes formes de ROS

### III.3 Antioxydant

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Halliwell *et al.*,1990). Ces antioxydants peuvent être de 3 natures différentes : des systèmes enzymatiques et des systèmes non enzymatiques et Antioxydants naturels (Leverve,2009).

Ces divers antioxydants ont des mécanismes de défense antioxydante différents, pour préserver le bon fonctionnement de la cellule, parce que lorsque les défenses antioxydantes sont

affaiblies ou dépassées, le stress oxydatif peut provoquer l'inactivation enzymatique et la peroxydation lipidique (Halliwell *et al.*,1990 ; Farombi *et al.*,2007).

### III.3.1 Antioxydants enzymatiques

Il y a plusieurs systèmes d'enzymes qui catalysent des réactions pour neutraliser des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène. Ces enzymes comprennent : (superoxy de dismutase, le glutathion peroxyde, réductase de glutathion catalase...) (Velioglu *et al.*,1998).

### III.3.2 Antioxydants non enzymatiques

Il comprend des vitamines E ( $\alpha$ -tocophérol), des vitamines C (acide ascorbique) et des polyphénols d'origine végétale (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acides phénoliques, tanins, anthocyanes, ...). La plupart de ces ingrédients ne sont pas fabriqués par l'organisme et doivent être obtenus par l'alimentation (Vansant,2004).

### III.3.3 Antioxydants naturels

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont des composés phénoliques (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines,) (Vansant,2004).

## III.4 Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire

### III.4.1 Activité antiradicalaire au DPPH

Le 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances anti oxydantes, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents. La réaction peut se résumer de la façon suivante (figure13) : (Hamlaoui *et al.*, 2018 ; Sridhar *et al.*, 2018).

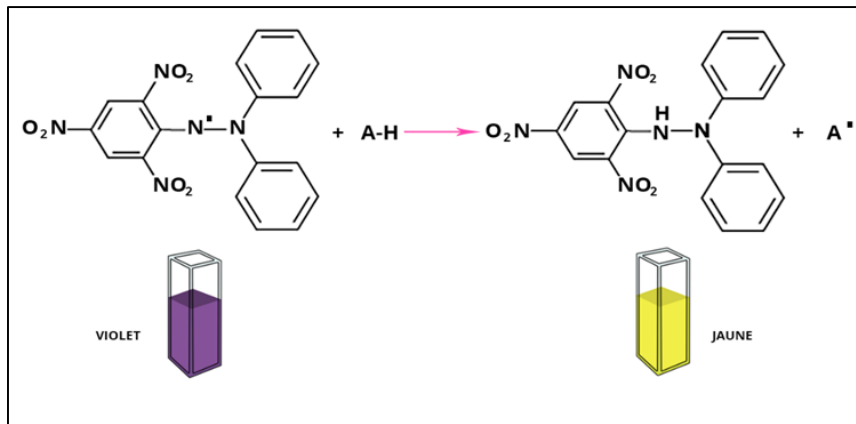


Figure 13: La transformation du radical DPPH<sup>•</sup> en DPPHH (Ouaket *et al.*, 2022)

### III.4.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

L'estimation de l'activité anti radicalaire repose sur un test colorimétrique basé sur la mesure de la capacité relative d'un extrait à piéger le radical préformé ABTS<sup>•+</sup>. Ce dernier est généré par l'oxydation de l'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)) avec le persulfate de potassium donnant une solution bleu-verte. Le radical ABTS<sup>•+</sup> est réduit en présence d'un composé antioxydant donneur d'électron. Cette réduction se traduit par une décoloration proportionnelle au pourcentage d'inhibition du chromophore ABTS<sup>•+</sup> et en fonction de la concentration de l'antioxydant. Ces mesures sont exprimées par rapport à la réactivité d'un composé référence, généralement le Trolox. On définit ainsi le TEAC (Trolox équivalent antioxydant capacity) (Cano., 2002 ; Sridhar *et al.*, 2018).

La méthode de l'ABTS est employée pour l'étude de l'activité des composés antioxydants hydrophiles et lipophiles, des composés purs et pour les extraits alimentaires

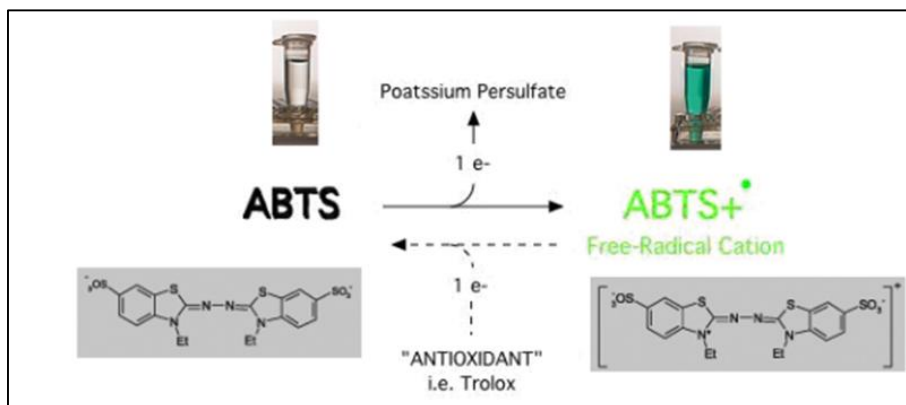
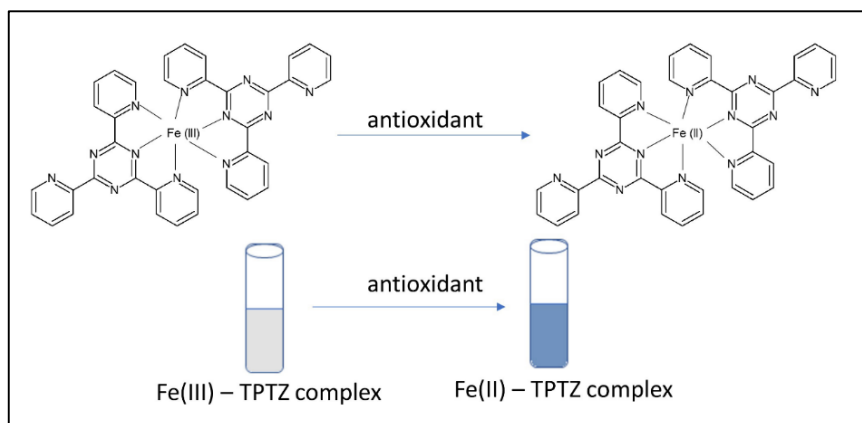


Figure 14: Réaction chimique ABTS (Pannala *et al.*, 2011)

### III.4.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

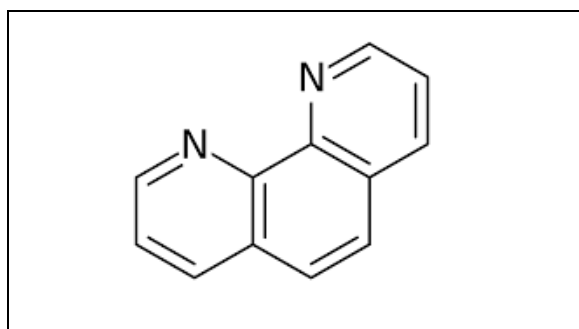
Le pouvoir réducteur (PR) des différents extraits est estimé en appliquant la méthode d'avec une grande modification de légères modifications. L'évaluation du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du complexe fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du complexe ferricyanure en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), en présence des antioxydants réducteurs, dont la couleur est verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Jones *et al.*, 2017).



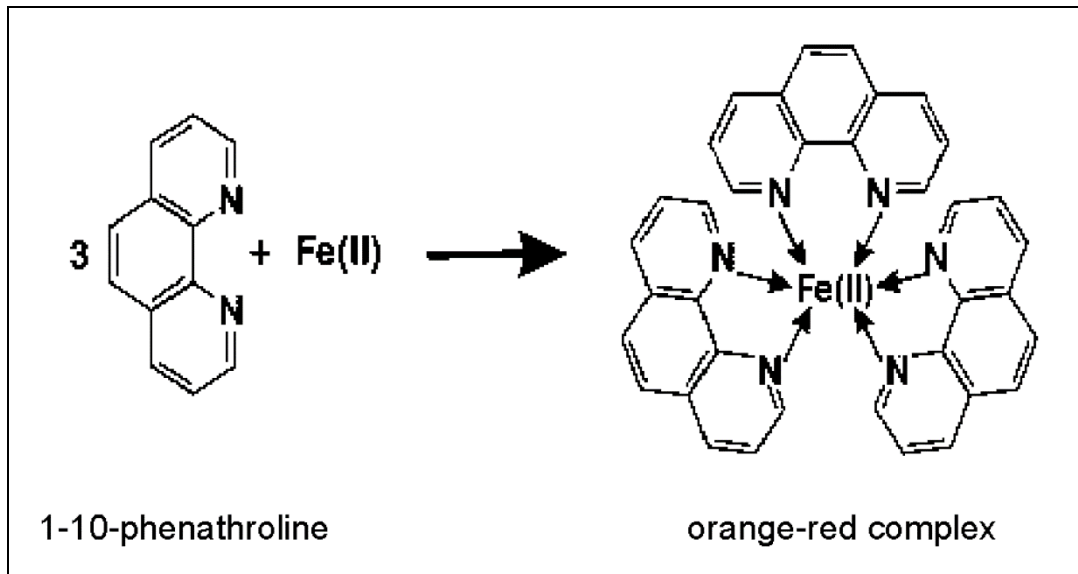
**Figure 15:** La réaction chimique FRAP (Wojtunik-Kulesza & Karolina.,2020)

### III.4.4 Activité de réduction par la formation du complexe $\text{Fe}^{+2}$ phénanthroline

Les complexes Fe (II)-phénanthroline sont largement utilisés dans les méthodes spectrophotométriques classiques pour la détermination du fer (Szydłowski *et al.*, 2008). La technique est basée sur la formation d'un complexe  $\text{Fe}^{+2}$  phénanthroline rouge orangé après une réaction redox (Figure 16). Le complexe est soluble à pH alcalin et peut être mesuré à l'absorbance à 510 nm (Adhikamsetty *et al.*, 2008).



**Figure 16 :** phénanthroline (Adhikamsetty *et al.*, 2008)



**Figure 17 :** Réaction chimique Phénanthroline (Koronkiewicz.,2021)

### III.5 Activité enzymatique

Les enzymes sont des composés biologiques de nature protéique, doués d'activité catalytique et produits par la cellule vivante. Ce sont donc des catalyseurs biologiques autrement dit des substances qui sans éprouver de transformation visible et à faible dose modifient la vitesse d'une réaction chimique (Germain ,1986).

#### III.5.1 Inhibition de l'alpha amylase

L'alpha-amylase est une enzyme digestive produite par les glandes salivaires et le pancréas et est également synthétisée lors de la maturation des fruits des plantes, qui catalyse l'hydrolyse de polymères d'alpha d-glucose au niveau de liaison C1-C4 (Devanlay , 2003). Le rôle principal de alpha-amylase est l'hydrolyse les polymères présents dans l'alimentation en générale glucose et maltose et dextrine (Devanlay, 2003).

Les inhibiteurs d' $\alpha$ -amylase ont ainsi un potentiel thérapeutique pour le traitement de l'obésité et du diabète.

L'acarbose est un médicament bien connu utilisé comme inhibiteur de l'alpha-amylase. Il retarde la digestion des glucides et abaisse la glycémie postprandiale. Cependant, il a des effets secondaires comme la diarrhée, la hernie, les ulcères...

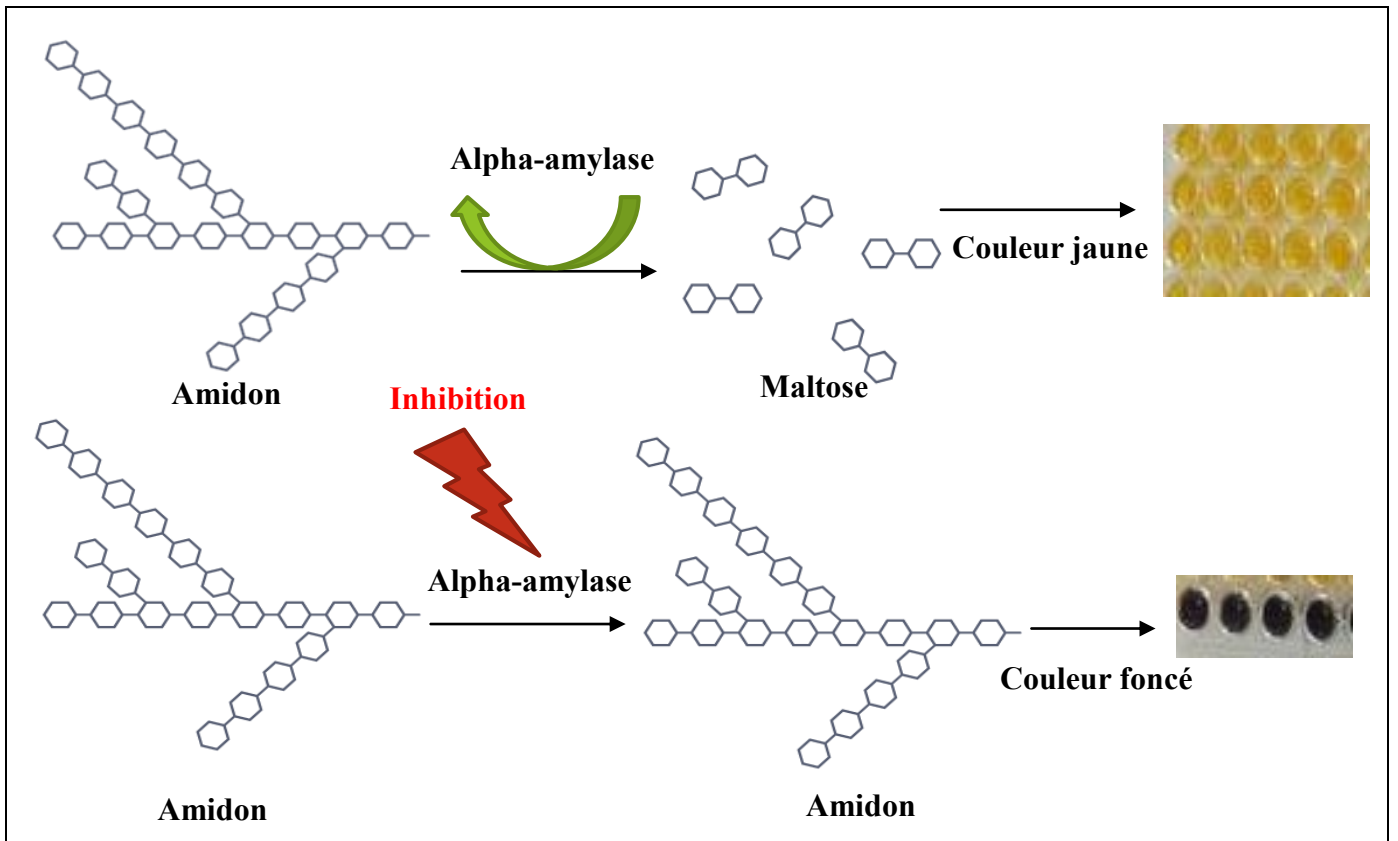


Figure 18: Présentation de l'inhibition de l'enzyme Alpha-amylase



# **Partie expérimentale**

# **Chapitre IV**

## **Matériel et méthodes**

### IV.1 Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué de feuilles de *Jaubertia reboudiana*. Ces feuilles ont été récoltées en 2012 dans la région de Bechar (Algérie). L'identification taxonomique a été confirmée par le professeur Kaabouch (université des frères Mentouri constantine),

Le séchage a été effectué à la température ambiante dans une salle aérée du Laboratoire pendant trois semaines.

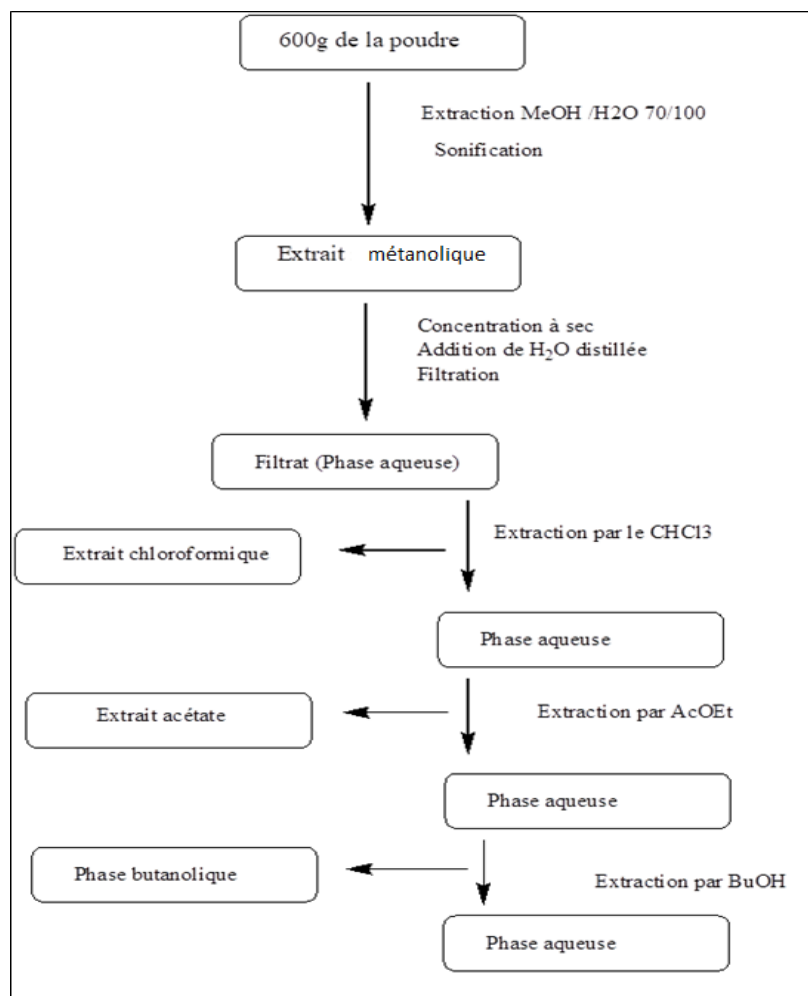
Après séchage, les feuilles ont été pulvérisées mécaniquement à l'aide d'un broyeur à Couteaux puis elles ont été stockées soigneusement.

### IV.2 Méthode de d'extractions

Dans une première étape l'extraction se fait avec le méthanol à 70%, 600g de la plante broyée a été soumise à une macération (La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, habituellement à température ambiante.) avec 800 ml de méthanol à température ambiante et sous agitation pendant 24 heures, l'opération est répétée trois fois. L'extrait récupéré est filtré, puis évaporé dans un évaporateur rotatif à 40°C. Dans une seconde étape, le macérât récupéré a été soumis à une sonification (une procédure accélérée de nettoyage des pièces, grâce à la dissolution des produits permise par l'effet mécanique d'ondes ultrasonores. Ce procédé est à la fois efficace et très sécurisé.,).



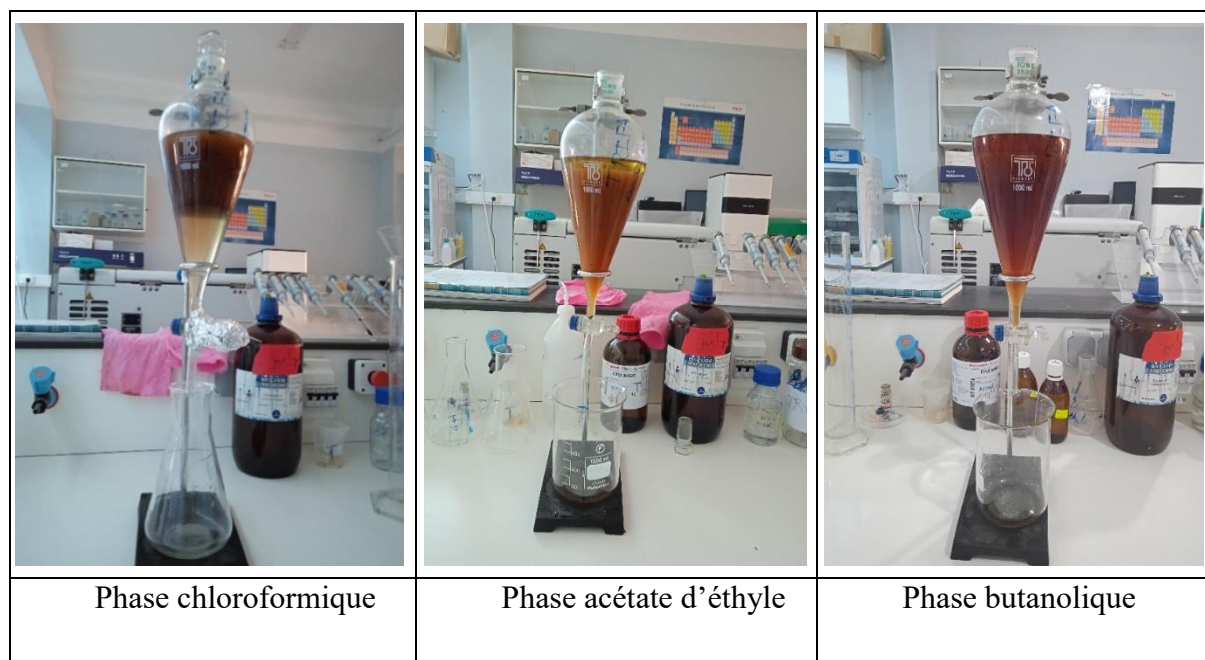
**Figure 19 :** Evaporateur rotatif utilisé pour l'élimination du solvant d'extraction



**Figure 20:** différentes étapes d'extraction des parties aérienne de *jaubertia reboudiana*

### IV.3 Méthodes d'extractions liquide- liquide

Dans le présent travail, une extraction par macération a été réalisée utilisant plusieurs solvants de différentes polarités. Cette extraction permet de récupérer les différents composés de *jaubertia reboudiana* en se basant sur la solubilité de chaque type de composés. Les aspects des solutions obtenues après extraction sont montrés dans la figure (21).



**Figure 21:** Aspect des solutions obtenues avec les différents solvants pendant la décantation.

#### IV.4 Dosage colorimétrique des polyphénols (TPC)

##### IV.4.1 Dosage des polyphénols totaux

###### IV.4.1.1 Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) qui sera réduit, en milieu alcalin par les polyphénols, donnant un mélange d'oxydes de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm (Sango, 2006).

###### IV.4.1.2 Mode opératoire

Un volume de 20  $\mu$ L de chaque extrait (1 mg/ml) a été transféré dans une microplaque de 96 puits. Ensuite, 100  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu, et 75  $\mu$ L de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. Après 2 heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre utilisant un lecteur microplaque. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant

utilisé (Méthanol). L'acide gallique est utilisé comme contrôle positif, à partir de lequel une courbe d'étalonnage a été établie.

#### **IV.4.2 Dosage des flavonoïdes**

##### **IV.4.2.1 Principe**

Les teneurs des flavonoïdes ont été mesurées par une méthode utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Lagnika, 2005).

##### **IV.4.2.2 Mode opératoire**

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits de la plante est réalisé par la méthode de Khlifi *et al.* (2013) avec modifications. Un volume de 100  $\mu\text{l}$  de chaque extrait est mélangé dans une microplaque de 96 puits avec 100  $\mu\text{l}$  de chlorure d'aluminium (2 % dans le méthanol). L'absorbance est mesurée à 415 nm, après incubation à température ambiante pendant 40 min. Les concentrations en flavonoïdes sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage tracée utilisant la quercétine comme standard.

#### **IV.4.3 Dosage des tannins**

##### **IV.4.3.1 Principe**

La détermination de la concentration des tannins condensés dans les extraits est basée sur la formation d'un complexe rose-rouge entre les flavanols libérés sous l'action de l'HCL avec la vanilline dont l'absorbance est mesurée à 500 nm (Broadhurst & Jones., 1978).

##### **IV.4.3.2 Mode opératoire**

La quantification des tannins condensés dans les extraits est réalisée par la méthode sur microplaque rapportée par Saci *et al.*, (2020). Un volume de 25  $\mu\text{l}$  de chaque extrait a été mélangé avec 150  $\mu\text{l}$  de vanilline (4% préparé dans le méthanol), et 75  $\mu\text{l}$  d'acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ , 30 %). Le mélange est ensuite incubé pendant 15 min et l'absorbance est mesurée à 500 nm.

### IV.5 Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de la plante *Jaubertia reboudiana* a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie au CRBt de Constantine. Les mesures des absorbances des activités biologiques ont été faites à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire

#### IV.5.1 Activité antiradicalaire au DPPH

L'activité antiradicalaire au DPPH est déterminée spectrophotométriquement par la méthode décrite par Blois (1958). Brièvement, 160 µl d'une solution de DPPH (4 mg de DPPH préparé dans 100ml du méthanol). Est ajouté à 40 µl de chaque extrait à différentes concentrations.

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé, en mélangeant 40µl de méthanol avec 160µl de la solution méthanolique de DPPH. Après 30min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517nm.

Le Trolox est utilisé comme standard (contrôle positif). La capacité antioxydant de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> calculée par l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[ \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

**Équation 1** : Pourcentage d'inhibition du DPPH.

**A<sub>contrôle</sub>**: l'absorbance du contrôle négatif

**A<sub>extrait</sub>** : l'absorbance de l'extrait/standard.

#### IV.5.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re *et al.*, (1999).

La solution de l'ABTS<sup>•+</sup> est préparée en faisant réagir 2 mM de l'ABTS avec 2.45 mM de persulfate de sodium (v : v) pendant 16h. l'absorbance de la solution concentrée ainsi obtenue est ajustée à 0.7 à la longueur d'onde 734 nm. Par suite, 40 µl de chaque extrait à

différentes concentrations et 160  $\mu\text{l}$  de la solution ABTS<sup>++</sup> sont mélangés dans une microplaque. Après 10 min de réaction à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance est effectuée à 734 nm. Les pourcentages d'inhibition sont calculés par l'équation (1) précédente. Les résultats sont comparés aux standards Trolox.

#### IV.5.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

La détermination du pouvoir réducteur est réalisée selon la méthode développée par Oyaizu (1986). Un volume de 10  $\mu\text{l}$  de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 40  $\mu\text{l}$  d'une solution de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6), et 50  $\mu\text{l}$  d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 min. A la fin de l'incubation, 50  $\mu\text{l}$  d'acide trichloracétique à 10%, 40  $\mu\text{l}$  d'eau distillée, et 10  $\mu\text{l}$  d'une solution  $\text{FeCl}_3$  (0,1%) sont ajoutés et l'absorbance est immédiatement lue à 700 nm. Les résultats sont exprimés en termes d'absorbances. La concentration donnant une absorbance de 0,5 est déterminée à partir de la courbe de régression tracée par les absorbances des différentes concentrations. Le trolox est utilisé comme référence positive.

#### IV.5.4 Activité de réduction par la formation du complexe $\text{Fe}^{+2}$ - phénanthroline

L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniak et al., (2008)

Dans une microplaque 96 puits, 10  $\mu\text{l}$  d'extrait, 50  $\mu\text{l}$   $\text{FeCl}_3$ , (0,2%), 30  $\mu\text{l}$  phénanthroline (0,5%), et 110  $\mu\text{l}$  méthanol sont mélangés. La réaction est laissée pour 20 min à (30°C) pendant 20 min, l'absorbance est ensuite mesurée à 510 nm. Les résultats sont rapportés sous forme d'absorbances. Le Trolox sont utilisé comme standard. Les résultats ont été calculés à titre de  $A_{0,50}$  ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

#### IV.6 Activités enzymatiques (Inhibition de l'alpha-amylase)

L' $\alpha$ -amylase dégrade l'amidon en composés moins complexes qui ne peuvent pas réagir avec l'iode. L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par un inhibiteur entraîne l'accumulation de l'amidon qui réagit par suite avec l'iode pour donner un complexe bleu-noir dont l'absorbance est mesurée à 630 nm. Cette activité a été déterminée par la méthode de Zengin *et al.*, (2014) avec quelques modifications.

Dans une microplaque, 25  $\mu\text{l}$  de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 50  $\mu\text{l}$  de la solution d' $\alpha$  amylase (1 U/ml dans le tampon phosphate, 100 mM, pH, 6,9, 6



mM NaCl). Le mélange est incubé pendant 10 min à 37 °C puis 50 µl d'amidon 0.1% est ajouté. Une deuxième incubation pendant 10 min à 37 °C est effectuée et la réaction est stoppée par l'ajout de 25µl HCl (1M), et l'amidon est révélée par 100 µl IKI. La lecture est effectuée à 630 nm contre un contrôle négatif contenant tous les réactifs sans les extraits. Un autre contrôle qui consiste à réagir la solution d'amidon utilisée avec l'iode est aussi effectuée. Parallèlement, des blancs extrait ne contenant pas la solution enzymatique à différentes concentrations sont performés. Les pourcentages d'inhibition sont calculés utilisant la formule ci-dessous

$$\% \text{Inhibition} = 1 - \left[ \frac{(\mathbf{Ac} - \mathbf{Ae}) - (\mathbf{As} - \mathbf{Ab})}{(\mathbf{Ac} - \mathbf{Ae})} \right]$$

**Équation 2** : Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase.

**Ac**= Absorbance des blancs extrait (tous les réactifs sans la solution enzymatique)

**Ae**= Absorbance du contrôle négatif sans inhibiteur (tous les réactifs sans extrait)

**As**= Absorbance de la réaction contenant tous les réactifs

**Ab**= Absorbance de la réaction maximale entre l'amidon et l'iode (Amidon + IKI).

#### **IV.7 Analyse statistique**

Les résultats sont rapportés sous forme de moyenne ± écart type de trois mesures. Les échantillons sont analysés par ANOVA (analyse de la variance) effectué sur logiciel GraphPad version 5 (GraphPad Software Inc, California, USA) pour déterminer la différence entre eux ( $p < 0.05$ ). Les valeurs  $CI_{50}$  sont déterminées sur EXCEL utilisant les courbes de régression.

# **Chapitre V**

## **Résultats et discussion**

### V.1 Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction a été déterminé par la formule suivante :

$$R (\%) = (Me / M) \times 100$$

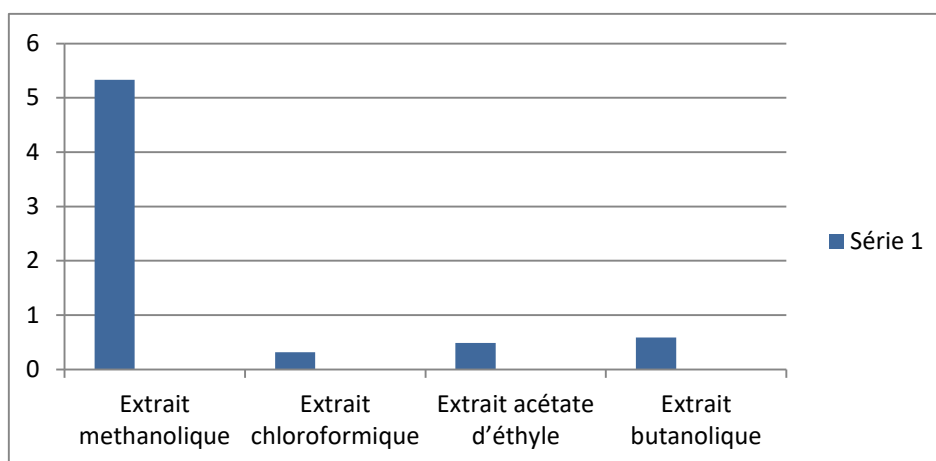
#### Équation 3 : Rendement d'extraction

(%) : Rendement d'extraction exprimé en %.

Me : Masse de l'extrait sec résultant en g

M : Masse du matériel végétal (poudre) en g utilisée pour l'extraction.

Le rendement d'extraction obtenu pour chaque solvant a été calculé et les valeurs sont rapportées dans l'histogramme de la figure (22)



**Figure 22:** Rendement de l'extraction

D'après les résultats, on constate que le rendement d'extraction augmente avec la polarité du solvant utilisé. Ainsi, l'extrait méthanolique a donné le rendement le plus élevé avec une valeur de (5.33%) suivi par les extraits : Butanolique acétate d'éthyle avec des valeurs (0.59 %) et (0.49 %) successivement, et enfin l'extrait chloroformique qui présente un faible rendement (0.32%).

On peut déduire à partir de ces résultats que *Jaubertia reboudiana* est riche en composés polaires généralement présentés par les polysaccharides ou des composés glycosylés.

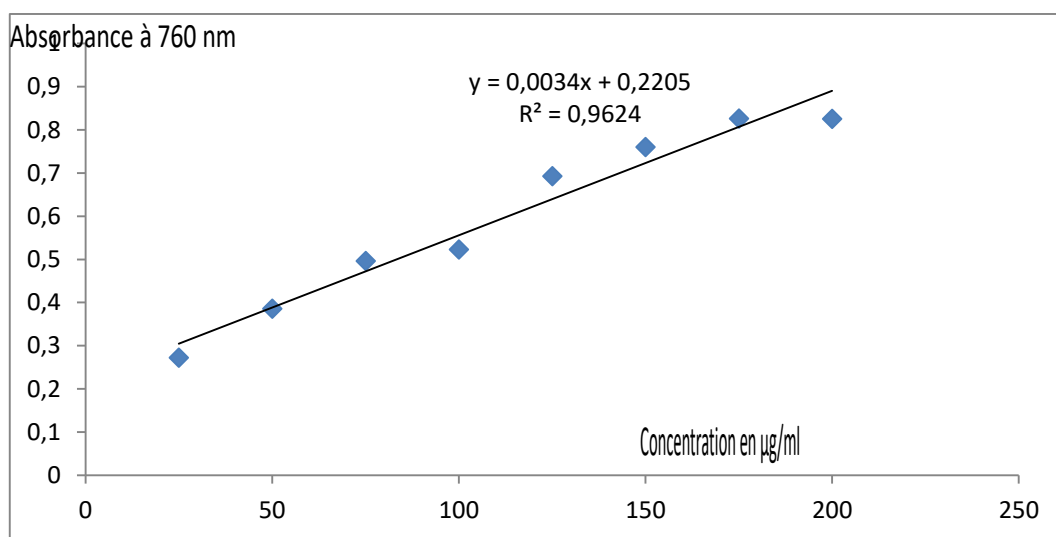
## V.2. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont déterminées par des méthodes colorimétriques.

### V.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Les concentrations en polyphénols totaux sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique (Figure 23). Les différentes teneurs des extraits sont représentées dans la Figure 24

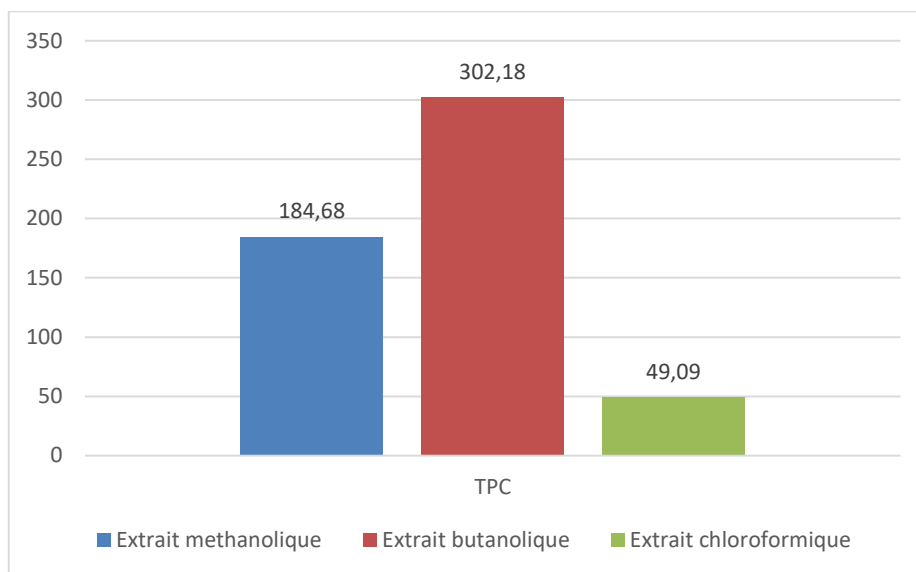
Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *Jaubertia reboudiana* a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique ( $y = 0,0034x + 0,2205$ )



**Figure 23:** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Ces résultats montrent que la valeur en polyphénols totaux la plus élevée est  $302,28 \pm 25,24 \mu\text{g}$  EAG/ml d'extrait correspondant à l'extrait butanolique, suivie par la valeur  $184,68 \pm 8,22 \mu\text{g}$  EAG/ml d'extrait correspondant à l'extrait méthanolique, puis l'extrait Chloroformique qui a donné la teneur la plus faible ( $49,09 \pm 8,27 \mu\text{g}$  EAG/ml d'extrait). Cette différence des teneurs entre les extraits pourrait être expliquée par le fait que les composés phénoliques sont particulièrement solubles

dans solvants organiques polaires comme le méthanol, éthanol, acétone, éthyle acétate (Ghedadba *et al.*, 2014).



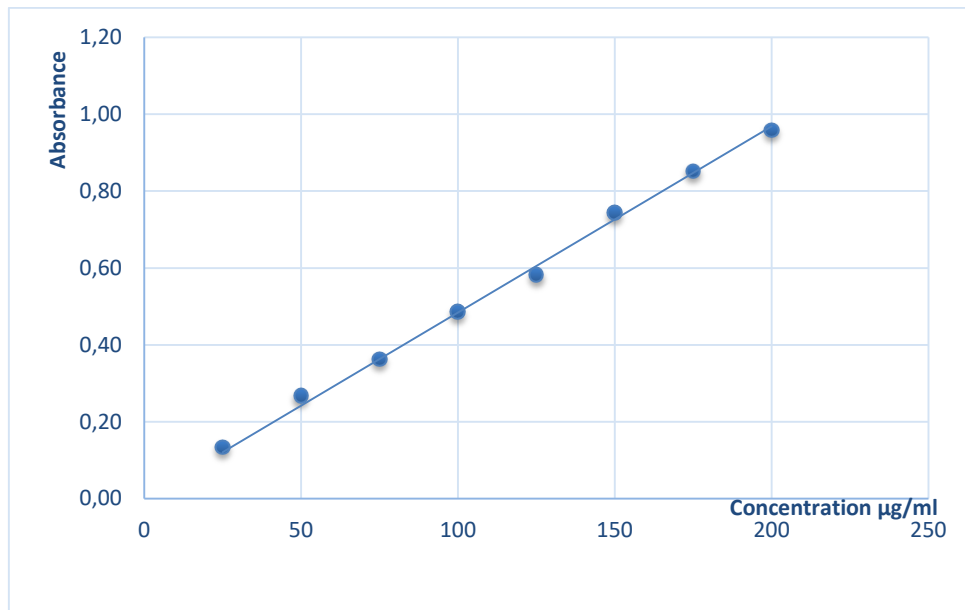
**Figure 24:** Evaluation des polyphénols totaux des extraits de *Jaubertia reboudiana*

**Tableau 6:** La teneur en composés phénoliques, flavonoïdes

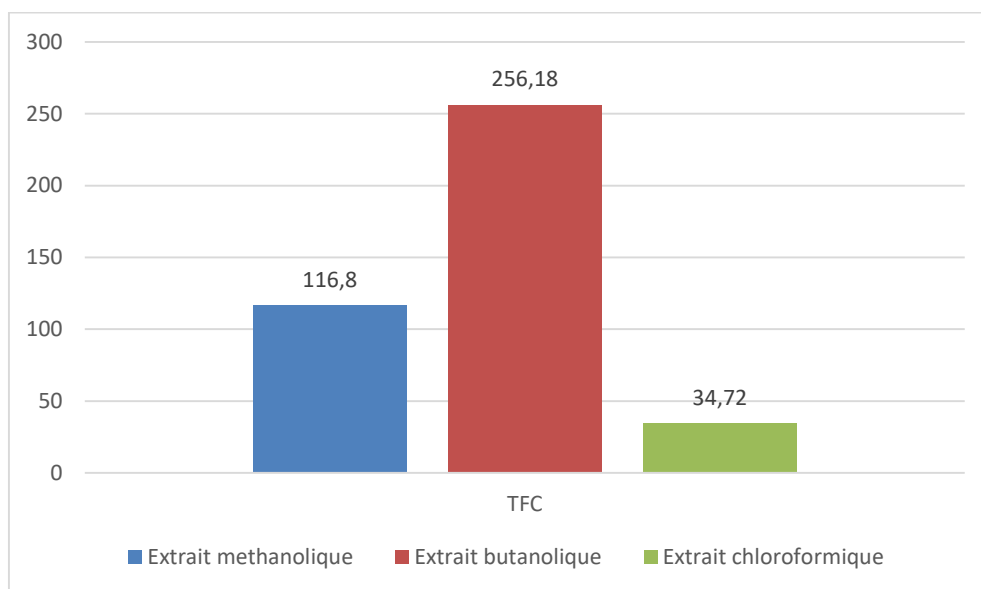
	Total phénoliques ( $\mu\text{g GAE/mg}$ )	Flavonoïdes ( $\mu\text{g QE/mg}$ )
Extrait méthanolique	184,68 $\pm$ 8,22	116,80 $\pm$ 3,68
Extrait butanolique	302,18 $\pm$ 25,24	256,18 $\pm$ 11,34
Extrait chloroformique	49,09 $\pm$ 8,27	34,72 $\pm$ 3,14

### V.2.2 Dosages des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont déterminées à partir de la courbe de régression tracée par la quercétine (Figure 25) et les différents résultats sont représentés dans la Figure 26. Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage ayant l'équation : ( $Y= 0,002x + 0,0048$ ). Selon les résultats, on constate que *Jaubertia reboudiana* est une plante très riche en flavonoïdes. La teneur la plus élevée est obtenue avec l'extrait Butanolique avec une valeur de 256.18 $\pm$ 11,34 $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait, suivie par l'extrait metanolique (116.80 $\pm$ 3,68 $\mu\text{g EQ/mg}$ , respectivement). L'extrait chlororoformique contient la teneur la plus faible qui est de 34,72 $\pm$  3.14  $\mu\text{g EQ /mg}$  d'extrait (Figure 26). La répartition des flavonoïdes entre les solvants dépend fortement de leur solubilité qui est déterminée par leur degré de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et triglycosylés) (Kholkhal, 2014).



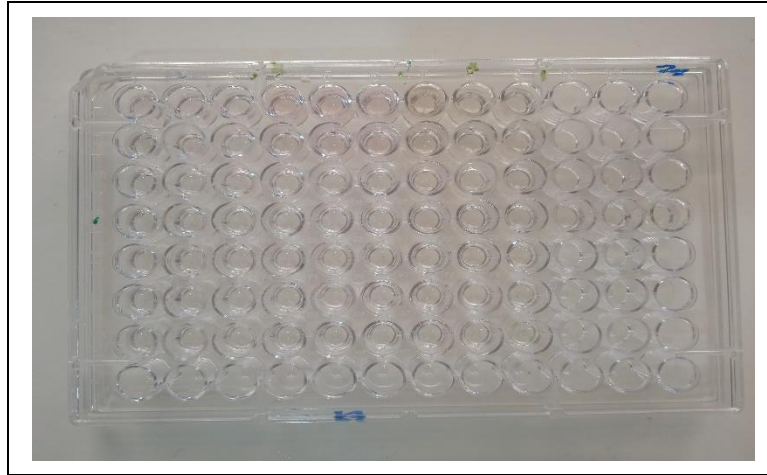
**Figure 25:** La courbe d'étalonnage de la Quercétine.



**Figure 26:** Evaluation des flavonoïdes totaux des extraits de *Jaubertia rboudiana*

## V.2 Les tannins

Le dosage des tannins condensés a donné une réaction négative indiquant l'absence de ces composés ou leur présence en quantités très faibles (traces) (Figure 27).



**Figure 27:** Aspect de la microplaque après l'incubation

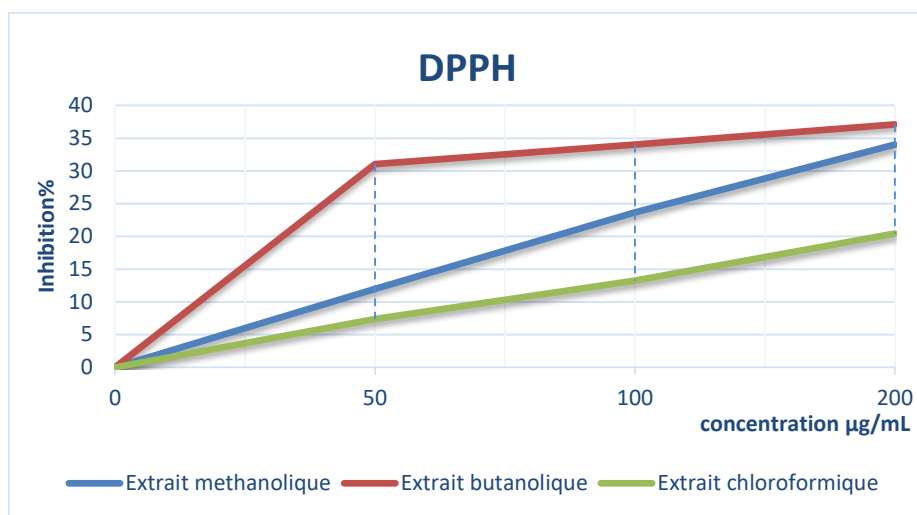
### V.3 Activités antioxydantes

Plusieurs essais ont été menés par certains auteurs pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits des plantes. C'est dans ce contexte que nous avons évalué l'activité antioxydante des extraits de la plante *Jaubertia reboudiana* par 4 méthodes différentes.

#### V.3.1 Activité antiradicalaire DPPH

La capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres a été évaluée utilisant les deux radicaux libres DPPH et ABTS

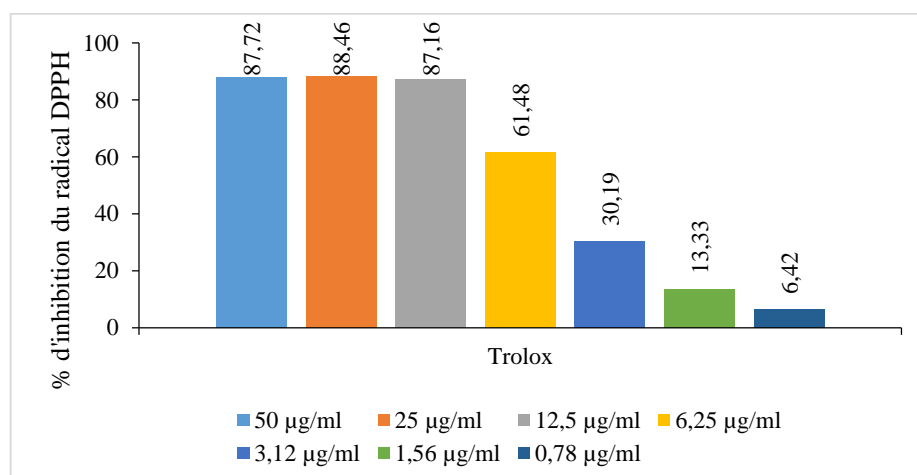
L'activité scavenger des extraits de *Jaubertia reboudiana* contre le radical DPPH est présentée sous forme de pourcentages d'inhibition à différentes concentrations comme montré dans la (figure 28). On constate que le pourcentage d'inhibition est dose-dépendante ; plus on augmente la concentration, le pourcentage d'inhibition augmente.



**Figure 28 :** Pourcentage d’inhibition antiradicalaire DPPH de chaque extrait

Les extraits méthanolique et butanolique ont eu les pourcentages d’inhibition les plus forts ( $34,03 \pm 0,85$  et  $31,13 \pm 3,89$  %, respectivement à la concentration  $200 \mu\text{g/ml}$ ), cela peut être due à la présence des composés polaires spécifiquement les polyphénols, par contre l’extrait chloroformique a montré l’effet le plus faible ( $20,41 \pm 1,07$  % à  $200 \mu\text{g/ml}$ ) ce qui confirme notre supposition.

Néanmoins, en comparant les extraits aux standards, le trolox a exercé une très forte inhibition du radical à de très faibles concentrations.



**Figure 29 :** Activité antiradicalaire du standard contre le DPPH

Les résultats d’inhibition du radical DPPH sont aussi affirmés par le calcul des valeurs  $CI_{50}$  qui représentent les concentrations des extraits qui inhibent 50% du radical. La figure 30 montre les valeurs  $CI_{50}$  des différents extraits obtenus avec le radical DPPH.



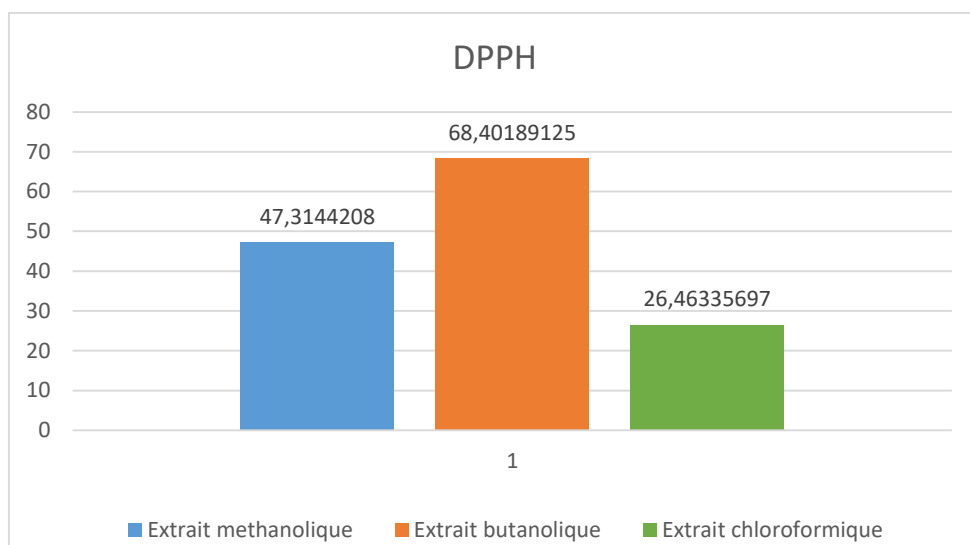


Figure 30: La concentrations inhibitrices CI<sub>50</sub> des différents extraits pour le test DPPH.

### V.3.2 Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

Les extraits ont également montré un effet remarquable contre le radical ABTS dont le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration de l'extrait (figure 31). L'extrait butanolique a exercé l'effet le plus fort avec des pourcentages d'inhibition de 23,83±1,29 à 200 µg/ml. Comme dans le DPPH, suivi de l'extrait méthanolique avec un pourcentage d'inhibition (14,84±6,25% à 200 µg/ml), par contre l'extrait chloroformique a donné l'absorbance la plus faible 11.10±0,78µg/ml).

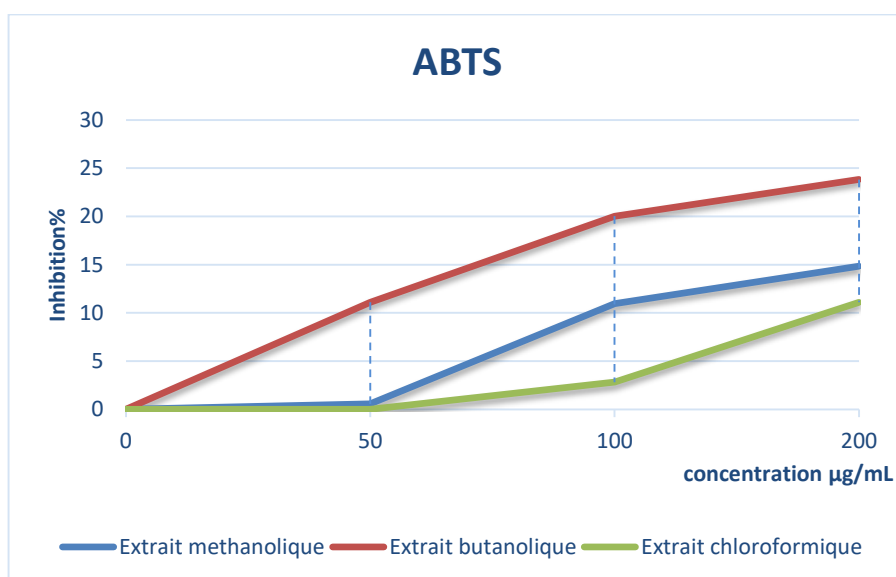
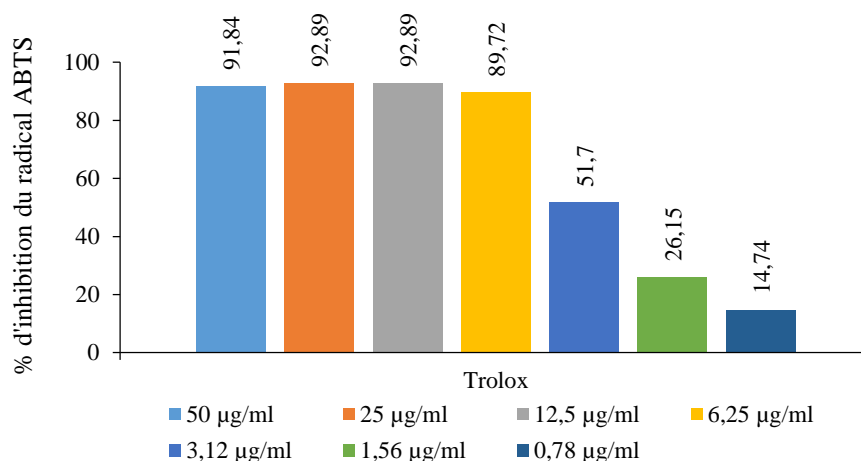
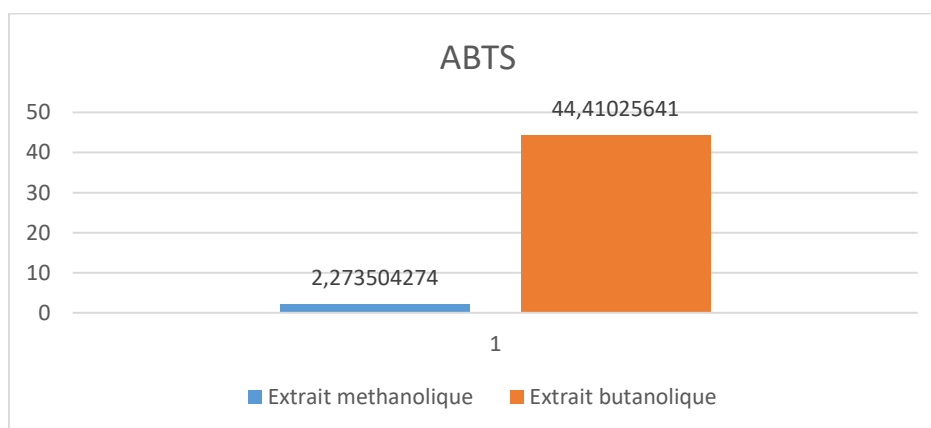


Figure 31 : La pourcentage d'inhibition antiradicalaire ABTS de chaque extrait  
Le standard (figure32) montre toujours des inhibitions fortes à de faibles concentrations.



**Figure 32 :** pourcentage d’inhibition antiradicalaire ABTS du Trolox

Le calcul des valeurs  $CI_{50}$  affirme nos résultats (Figure 33). La forte activité des extraits butanolique et méthanolique pourrait être expliquée par leurs teneurs élevées en polyphénols.



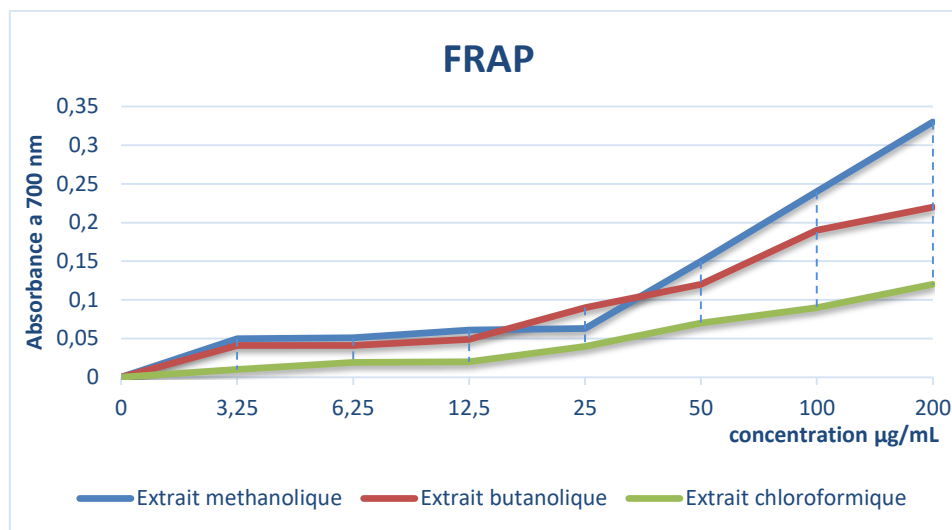
**Figure 33:** Concentrations inhibitrices  $CI_{50}$  des différents extraits pour le test ABTS.

### V.3.3 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

La réduction des ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) est déterminée par le test pouvoir réducteur basé sur la réduction des ions  $Fe^{3+}$  du ferricyanure en  $Fe^{2+}$  pour donner le ferrocyanure avec l’apparition d’une couleur bleu-verte dont l’intensité dépend du taux de la réduction.

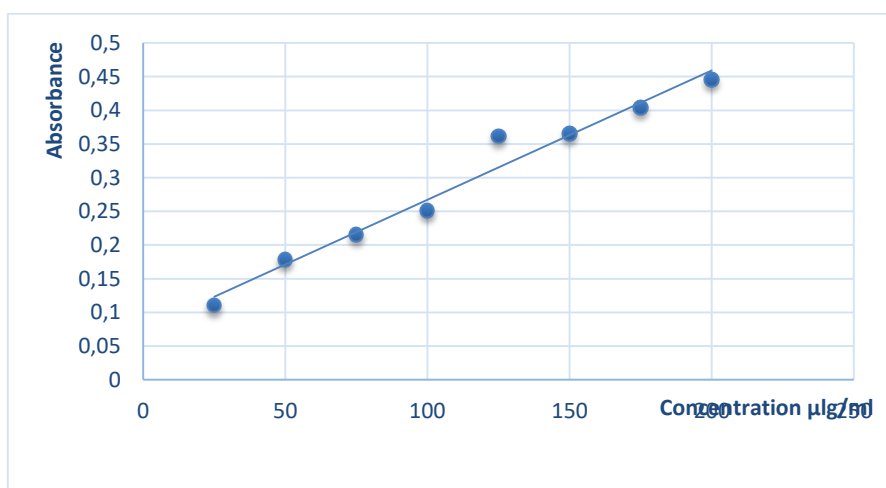
La figure 34 représente la capacité des extraits *Jaubertia reboudiana* à réduire les ions du fer. Comme constaté, l’absorbance à 700 nm augmente en fonction de concentration indiquant un effet dose-dépendant. Les résultats trouvés indiquent que tous les échantillons ont des absorbances maximales moins de 0.5 ( $<0.5$ ), cela nécessite des concentrations plus de 200  $\mu\text{g/ml}$  ( $>200$ ) pour pouvoir déterminer la valeur  $A_{0.5}$

En comparant entre les extraits, l'extrait méthanolique exerçait la capacité la plus forte une absorbance de  $0,33 \pm 0,01$  à  $200 \mu\text{g/ml}$ , suivi par l'extraits butanolique ( $0,22 \pm 0,09$  à  $200 \mu\text{g/ml}$ ), par contre l'extrait chloroformique a donné l'absorbance la plus faible ( $0,12 \pm 0,08$  à  $200 \mu\text{g/ml}$ ).



**Figure 34 :** Pouvoir réducteur des différents extraits de la plante

Les résultats de la réduction des ions  $\text{Fe}^{3+}$  sont comparés à ceux du standard trolox qui a montré une forte réduction de ces ions à de très faibles concentrations ( $0,4 \pm 0,04$  à  $200 \mu\text{g/ml}$ ) (figure 35).

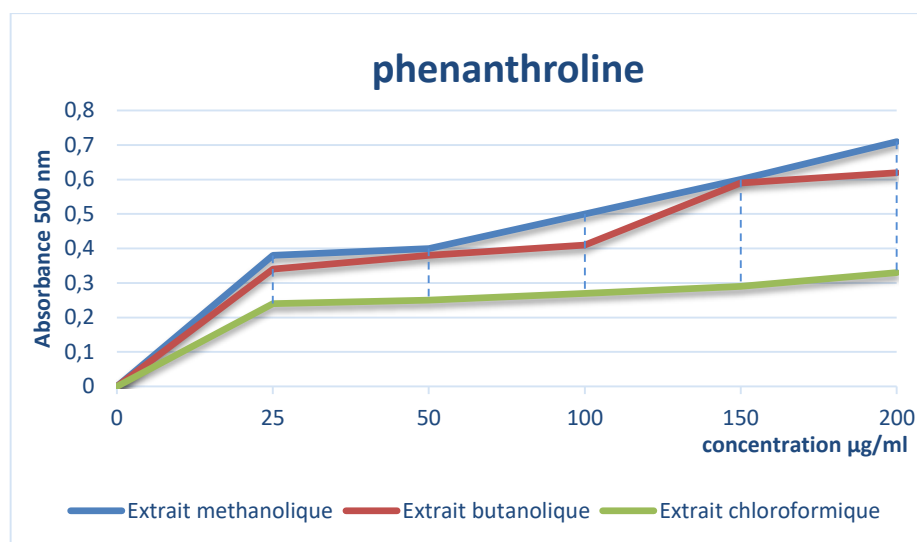


**Figure 35 :** Le pouvoir réducteur du standard Trolox

#### V.3.4 Activité de réduction par la formation du complexe $\text{Fe}^{2+}$ – phénanthroline

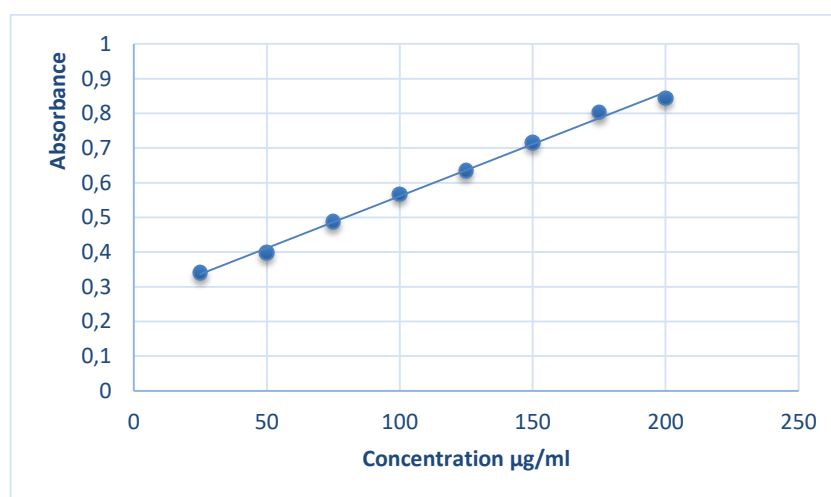
La réduction des ions  $\text{Fe}^{3+}$  est également évaluée par le test au phénanthroline. Dans ce test les ions  $\text{Fe}^{3+}$  associés au phénanthroline vont être réduits par les extraits en fer ferreux

donnant un complexe  $Fe^{2+}$ -phénanthroline de couleur rouge dont l'intensité est mesurée à 510 nm. Selon la (figure 36), la capacité des extraits à réduire les ions  $Fe^{3+}$  peut être classée selon l'ordre suivant à la concentration maximale (200  $\mu\text{g/ml}$ ) : extrait méthanolique, extrait butanolique et extrait chloroformique avec des absorbances de  $0,71 \pm 0,09$ ,  $0,62 \pm 0,05$  et  $0,33 \pm 0,08$ .



**Figure 36 :** Pourcentage d'inhibition antiradicalaire phénanthroline de chaque extrait

Le standard trolox utilisé à de faibles concentrations a montré une très forte capacité à réduire les ions  $Fe^{3+}$  (0,85 à 200  $\mu\text{g/ml}$ ) (figure 37)



**Figure 37 :** Courbe d'étalonnage Trolox phénanthroline

## V.4 Activité enzymatique

### V.4.1 Inhibition de l'alpha amylase

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase des différents extraits de *JR* a été évaluée par la détermination des concentrations inhibitrices  $CI_{50}$  par rapport au standard Acarbose en se basant sur la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme. Les résultats sont présentés ci-dessous :

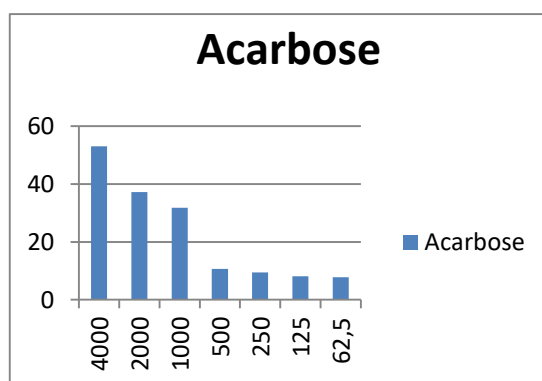
**Tableau 7 :** Inhibition de l' $\alpha$ -amylase par les extraits de *Jaubertia reboudiana*

Extraits	% d'inhibition							$IC_{50}$ ( $\mu$ g/ml)
	6.25 $\mu$ g	12.5 $\mu$ g	25 $\mu$ g	50 $\mu$ g	100 $\mu$ g	200 $\mu$ g	400 $\mu$ g	
Extrait méthanolique	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Extrait butanolique	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Extrait chloroformique	NA	NA	NA	NA	NA	12,36 $\pm$ 1,00	16,88 $\pm$ 4,02	>400

NA : non active

Les résultats enregistrés sur le tableau 7 ont montré que les extraits méthanolique et butanolique n'ont aucun effet inhibiteur contre l'alpha-amylase contrairement à l'extrait chloroformique qui a donné un effet d'inhibition modeste (pourcentage d'inhibition égale à 16,88 $\pm$ 4,02% à la concentration 400  $\mu$ g/ml).

Ces observations pourraient être expliquées par le fait que les substances hydrophobes ont un effet inhibiteur plus important que les substances hydrophiles



**Figure 38:** Les valeurs de test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase pour l'acarbose

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

---

### Conclusion et perspectives

Le présent travail porte sur l'étude de certaines activités biologiques de la plante endémique Algérienne *Jubertia reboudiana* (famille *Rubiacees*).

La quantification en polyphénols et en flavonoïdes totaux des différents extraits nous a permis de déduire que la plante testée est une source prometteuse en polyphénols et en flavonoïdes. Les résultats obtenus nous ont révélé que l'extrait le plus riche en polyphénols et flavonoïdes est l'extrait butanolique.

L'étude des propriétés pharmacologiques des extraits, a révélé une activité antioxydante remarquable. Plus particulièrement les extraits riches en polyphénols indiquant que les polyphénols sont responsables de cette activité. D'autre part, l'extrait chloroformique de la plante a exercé un effet moyen contre l' $\alpha$ -amylase.

Nos résultats permettent de conclure que la partie aérienne de la plante *Jaubertia reboudiana* représente une source naturelle d'agents antioxydants et peut servir comme traitement préventif contre le stress oxydatif.

Néanmoins, D'autres travaux sont nécessaires pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités de cette plante à mentionner :

- Caractérisation chimique des extraits de la plante par des méthodes chromatographiques pour identifier les composés actifs de la plante.
- Une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydant antibactérien des extraits de cette plante.

### Annexes

#### Annexe I : matériels et instruments utilisés

##### Instruments

Nom	Photo
Evaporateur rotatif (Buchi R-200)	
Ultra-son (Fisher scientific)	
Incubateur (Memmert)	
Balance de précision (Discovery)	
Lecteur de plaque (PerkinElmer (USA))	
Sonificateur (Vibro-cell)	

##### Matériel du laboratoire

- Ampoule à décanter.



## Annexes

- Tubes Eppendorf,
- Micropipettes de volumes différents.
- Microplaques.
- Ballons.
- Bêchers.
- Erlenmeyers.
- Éprouvettes.
- Flacons.
- Spatules.
- Portoirs,
- Verres de montre

### Annexe II : Réactifs des activités antioxydantes

Réactifs	Compositions	Quantités
<b>DPPH<sup>•</sup></b>	DPPH	6 mg
	Méthanol	100 ml
<b>ABTS<sup>•+</sup> (7 mM)</b>	ABTS	19,2 mg
	H <sub>2</sub> O	5 ml
	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (2.45 mM)	3,3 mg
	H <sub>2</sub> O	5 ml
<b>phenanthroline (0.5%)</b>	1,10-Phénantroline monohydraté	0,05g
	Méthanol	q.s.p 10 ml

### Annexe III : Solutions enzymatiques et substrats

Solutions	Compositions	Quantités
<b>Enzyme <math>\alpha</math>-amylase (1U)</b>	Enzyme $\alpha$ -amylase	1 mg
	Tampon phosphate (pH 6,9)	9ml
<b>Amidon (0.1%)</b>	Amidon	0,1 g
	H <sub>2</sub> O	q.s.p 100 ml
<b>BChE</b>	BChE	1 mg
	Tampon phosphate (pH 8)	22,6 ml

## Annexes

### Annexe IV : Standards

Standards	Compositions	Quantités
Acide gallique	Acide gallique	0,5 mg
	Méthanol	5 ml
Quercétine	Quercétine	1 mg
	Méthanol	5 ml

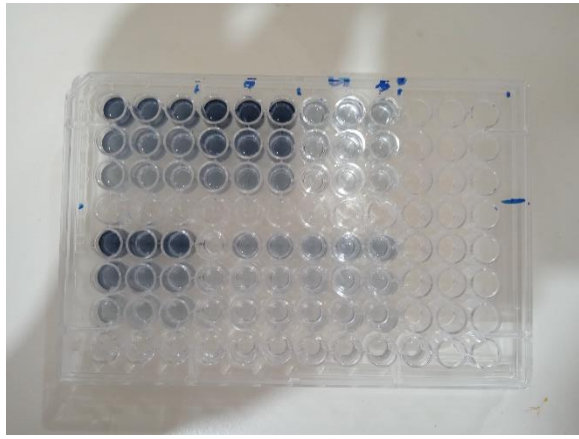
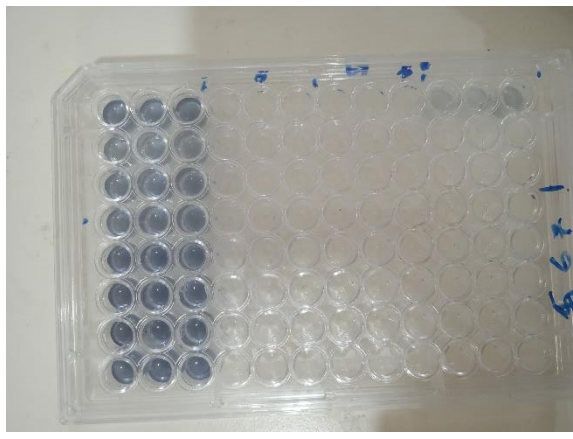
### Annexe V : Solutions chimiques

Solutions chimiques	Compositions	Quantités
Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois	FCR concentré (2M) H <sub>2</sub> O	1ml q.s.p 10 ml
Carbonate de sodium anhydre (7,5%)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O	7,5 g q.s.p 100 ml
Acétate de potassium (1M)	CH <sub>3</sub> COOK H <sub>2</sub> O	9,80 g 100 ml
Nitrate d'aluminium	Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , 9H <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O	10g 100ml
Chlorure de cuivre II dihydraté	CuCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O	0,042625 g 25 ml
Tampon phosphate pH 6,6	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	62,5 ml 37,5 ml
Ferricyanide de potassium (1%)	K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O	1 g q.s.p 100 ml
Acide trichloracétique (10%)	TCA H <sub>2</sub> O	1 g q.s.p 10 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.1%)	FeCl <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O	0,1 g q.s.p 100 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.2%)	FeCl <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O	0,02g q.s.p 10 ml
Chlorure de fer III tetrahydraté (0,2 mM)	FeCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O	4 mg 100 ml

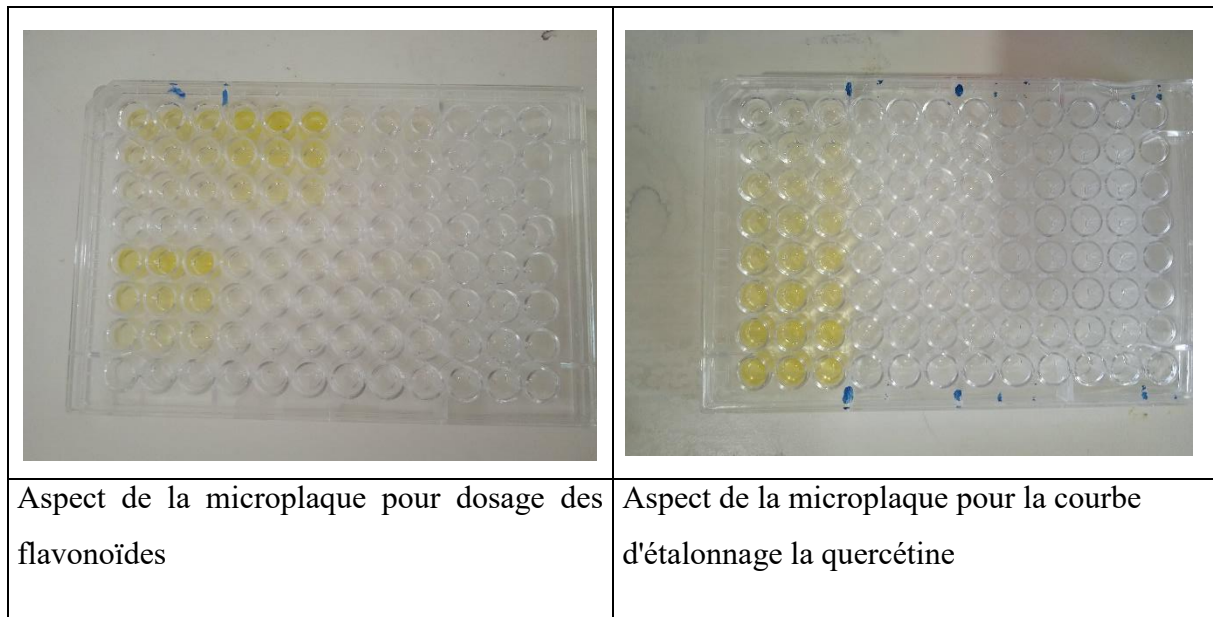
## Annexes

<b>Tampon phosphate (pH 6.9) (0.2 M)</b>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	51 ml
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	49 ml
<b>Acide hydrochlorique (1M)</b>	HCl	4.17 ml
	H <sub>2</sub> O	45.83 ml
<b>Iodure de potassium iode (IKI)</b>	KI	3 g
	H <sub>2</sub> O	100 ml
	Iodine (5mM)	127 mg
<b>Tampon phosphate (pH 8) (100 mM)</b>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5,3
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	94,5

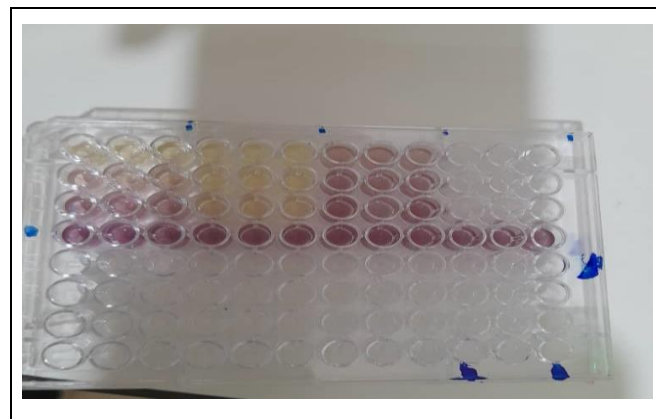
### Annexe VI : Profil des microplaques après l'incubation

	
Aspect de la microplaque pour dosage des polyphenol	Aspect de la microplaque pour la courbe d'étalonnage l'acide gallique

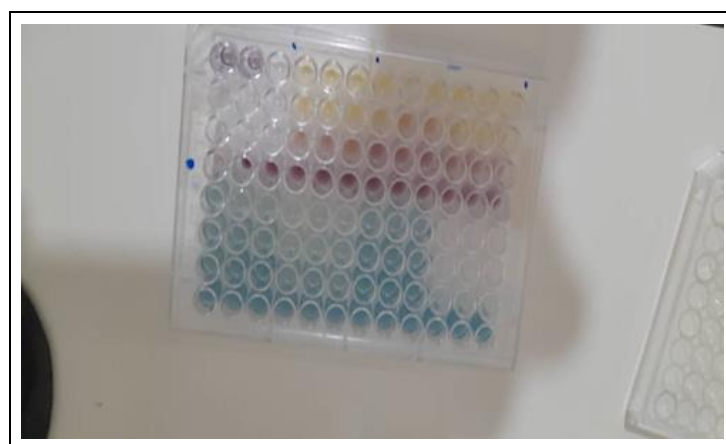
**Figure 39:** Profil des microplaques pour le dosage des polyphénols après l'incubation



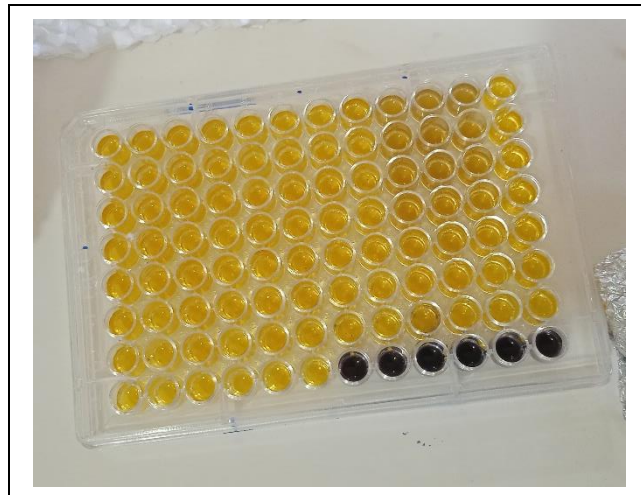
**Figure 40:** Profil des microplaques pour le dosage des flavonoïdes



**Figure 41 :** L'aspect de la microplaque pour l'activité antiradicalaire DPPH



**Figure 42:** Profil de la microplaque pour l'activité antiradicalaire ABTS<sup>+</sup>



**Figure 43:** Profil de la microplaque pour l'activité enzymatique (inhibition alpha-amylase)

**Références**

**Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

---

### Références Bibliographiques

#### « A »

- **Adhikamsetty, R. K., Gollapalli, N. R., & Jonnalagadda, S. B. (2008).** Complexation kinetics of Fe<sup>2+</sup> with 1, 10-phenanthroline forming ferriin in acidic solutions. *International Journal of Chemical Kinetics*, 40(8), 515-523.
- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.

#### « B »

- **Backlund, M., Bremer, B., & Thulin, M. (2007).** Paraphyly of Paederieae, recognition of Putorieae and expansion of Plocama (*Rubiaceae*-*Rubioideae*). *Taxon*, 56(2), 315-328.
- **Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- **Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978).** Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788-794. Saci, F., Bachir bey,

#### « C »

- **Cano, A., Alcaraz, O., Acosta, M., & Arnao, M. B. (2002).** On-line antioxidant activity determination: Comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS•+ assay. *Redox Report*, 7(2), 103-109.
- **Cody, V. (1988).** Plant flavonoids in biology and medicine II. In *Meeting on Plant Flavonoids in Biology and Medicine (1987: Strasbourg, France)*. Liss.

#### « D »

- **De Rijke, E., Out, P., & Niessen, W. M. A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman UA T., 2006.** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112, 31-63.
- **Devanlay M (2003).** alpha-Amylase Encyl Med Biol Elsevier, Paris,2003
- **Dufour, A., & Garnier, C. (2019).** Ma Bible des superaliments santé. Leduc.S Pratique.

## Références Bibliographiques

---

### « F »

- **Farombi, E. O., Adelowo, O. A., & Ajimoko, Y. R. (2007).** Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *International journal of environmental research and public health*, 4(2), 158-165.
- **Fatima, K. H. O. L. K. H. A. L. (2014).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus* (Doctoral dissertation).
- **Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., & Macheix, J. J. (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*, 121, 216.

### « G »

- **Gao, H., lamusta J., Zhang W.F., Salmonsén R., liu Y., Oconel E., Evan J. E., Burstein S., Chen, J.J. (2011).** Tumor cell selective cytotoxicity and apoptosis introduction by an Herbal preparative from *Brucea javanica*. *North American journal of medicine and science*.
- **Gaussen, H., Leroy H. F. (1982).** Précis de botanique, végétaux supérieurs. 2eme Ed.,426
- **Ghedadba, N., Bousselela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.
- **Ghedadba, N., Bousselela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.

### « H »

- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. & Chapelle J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*62, 628-638
- **Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1990).** The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*, 280(1), 1-8.



## Références Bibliographiques

---

- **Hamlaoui, I., Bencheraiet, R., Bensegueni, R., & Bencharif, M. (2018).** Experimental and theoretical study on DPPH radical scavenging mechanism of some chalcone quinoline derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1156, 385-389.
- **Hedge, I. C. (2006).** *Flora Iranica. Fascicle 176. Rubiaceae.* By F. Ehrendorfer, E. Schönbeck-Temesy, C. Puff & W. ReEchinger. Wien : Naturhistorisches Museum Wien. (2005) ISBN: 392421088.

### « J »

- **Jean St. Germain the (1986)** radioactive patient. *Seminars in Nuclear Medicine* Volume 16,3 Pages 179-183
- **Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G. R., Bashir, R., Mahon, P. J., & Shalliker, R. A. (2017).** Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. *Analytica chimica acta*, 967, 93-101.

### « K »

- **Kemassi, A., Darem, S., Cherif, R., Boual, Z., Sadine, S. E., Aggoune, M. S., ... & Ould El Hadj, M. D. (2014).** Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of advanced research in science and technology*, 1(1), 1-5.
- **Koppenol, W. H. (2001).** The Haber-Weiss cycle—70 years later. *Redox Report*, 6(4), 229-234.
- **Koronkiewicz, S. (2021).** Photometric determination of iron in pharmaceutical formulations using double-beam direct injection flow detector. *Molecules*, 26(15), 4498.
- **Khelifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and chemical toxicology*, 55, 202-208.

### « L »

- **Lagnika, L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. France/Bénin: Université Louis Pasteur Starsbourg/Université d'Abomey Calavi, 280.

## Références Bibliographiques

---

- **Lee, K. H. (2004).** Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. *Journal of Natural products*, 67(2), 273-283.
- **Lemineur, T., Deby-Dupont, G., & Preiser, J. C. (2006).** Biomarkers of oxidative stress in critically ill patients: what should be measured, when and how?. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 9(6), 704-710.
- **Leverve, X. (2009).** Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224.

### « M »

- **Malaisse, F., Grégoire, J., Nyembo, L., & Robbrecht, E. (1979).** A propos d'une recherche d'alcaloïdes dans les *Rubiaceae* du Shaba méridional (Zaïre). *Bulletin du Jardin botanique national de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van Belgie*, 165-177.

### « O »

- **Ouaket, A., Chraka, A., Raissouni, I., El Amrani, M. A., Berrada, M., & Knouzi, N. (2022).** Synthesis, spectroscopic (<sup>13</sup>C/<sup>1</sup>H-NMR, FT-IR) investigations, quantum chemical modelling (FMO, MEP, NBO analysis), and antioxidant activity of the bis-benzimidazole molecule. *Journal of Molecular Structure*, 1259, 132729.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- **Ozenda, P. (1958).** Flore du Sahara septentrional et central.

### « P »

- **Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.-H., ... Levine, M. (2003).** Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1), 18–35. doi :10.1080/07315724.2003.10719272
- **Paiva, S. A. R., & Russell, R. M. (1999).** β-Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(5), 426–433. doi :10.1080/07315724.1999.10718880
- **Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009).** Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278. Doi :10.4161/oxim.2.5.9498

## Références Bibliographiques

---

- **Potterat, (1997); Dacosta, (2003), Hennebelle, (2006).** Différents types des ERO
- **Pouyat-Leclère, J. (2013).** Guide des aliments antioxydants. Thierry Souccar Editions & La Nutrition.fr
- **Powell, S. R. (2000).** The Antioxidant Properties of Zinc. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1447S–1454S. doi :10.1093/jn/130.5.1447s

### « R »

- **Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., ... & Nishigaki, I. (2014).** Antioxidants and human diseases. *Clinica chimica acta*, 436, 332-347.
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

### « S »

- **Sango., (2006).** Larousse medical. Ed larousse. Paris.
- **Sridhar, K., & Charles, A. L. (2019).** *In vitro* antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275, 41-49.
- **Stalikas, C. D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.
- **Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.
- **Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.
- **Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.

### « T »

## Références Bibliographiques

---

- **Tinggi, U. (2008).** Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 13(2), 102–108. doi :10.1007/s12199-007-0019-4
- **Tinggi, U. (2008).** Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 13(2), 102–108. doi :10.1007/s12199-007-0019-4
- **Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers, J.E. (1881).** *Pharmacognosy*. Lea & Febiger, Philadelphia, 520 p.

### « V »

- **Vansant, G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants: principes de base. In Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- **Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D. (1998).** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.

### « W »

- **Wojtunik-Kulesza, K. A. (2020).** Approach to optimization of FRAP methodology for studies based on selected monoterpenes. *Molecules*, 25(22), 5267.
- **World Health Organization. (2002).** WHO traditional medicine strategy 2002-2005.

### « Z »

- **Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., & Ceylan, R. (2014).** *Sideritis galatica* Bornm.: a source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's's and diabetes mellitus. *journal of functional foods*, 11, 538-547.

# Résumé

### Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité pharmacologiques des extraits de la plante endémique Algérienne *Jaubertia reboudiana* et de déterminer leurs teneurs en polyphénols et flavonoïdes. Pour cela, l'activité antioxydante est évaluée utilisant quatre différentes méthodes (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur et phénanthroline). De plus, l'effet inhibiteur des extraits bruts contre l'enzyme  $\alpha$ -amylase a été également évalué.

Les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées ont été observées dans les extraits butanolique méthanolique ( $302.28 \pm 25.24 \mu\text{g EAG/ml}$  et  $184,68 \pm 8,22 \mu\text{g EAG/ml}$ , respectivement), contrairement à l'extrait chloroformique qui a donné la teneur la plus faible ( $49.09 \pm 8.27 \mu\text{g EAG/ml}$  d'extrait).

L'activité antioxydante a montré que tous les extraits de la plante étudiée présentent des propriétés antioxydantes à différent niveau. Cependant l'extrait méthanolique a signalé l'activité antioxydante la plus importante. Les extraits polaires ont été inactifs contre l' $\alpha$ -amylase, par contre l'extrait chloroformique a montré un effet modeste contre cette enzyme avec un pourcentage d'inhibition de  $16,88 \pm 4,02\%$  à  $400 \mu\text{g/ml}$

Ces résultats montrent que la plante *Jaubertia reboudiana* pourrait être valorisée comme source de substances biactives.

**Mots clés :** *Jaubertia reboudiana* , activité antioxydante, l' $\alpha$ -amylase,, polyphénols, flavonoïdes.

### Abstract:

The purpose of this study is to evaluate the pharmacological activity of the endemic Algerian plant *Jaubertia reboudiana* plant and to determine their polyphenol and flavonoid content. For this, antioxidant activity is evaluated using four different methods (DPPH, ABTS, reducing power and phenanthroline). In addition, the inhibitory effect of crude extracts against the enzyme  $\alpha$ -amylase was also evaluated.

The highest total polyphenol levels were observed in methanolic and butanolic extracts ( $302.28 \pm 25.24 \mu\text{g EAG/ml}$  and  $184.68 \pm 8.22 \mu\text{g EAG/ml}$ , respectively), unlike the chloroform extract which gave the lowest content ( $49.09 \pm 8.27 \mu\text{g EAG/ml}$  extract).

The antioxidant activity showed that all extracts of the plant studied exhibit antioxidant properties at different levels. However, the methanolic extract reported the most important antioxidant activity. Polar extracts were inactive against  $\alpha$ -amylase; however, chloroform extract showed a modest effect against this enzyme with an inhibition percentage of  $16.88 \pm 4.02\%$  at  $400 \mu\text{g/ml}$

These results show that the *Jaubertia reboudiana* plant could be valued as a source of bioactive substances.

Keywords: *Jaubertia reboudiana*, antioxidant activity,  $\alpha$ -amylase, polyphenols, flavonoids.

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط الدوائي مستخلصات نبات مستوطن جزائري لنبات *Jaubertia reboudiana* وتحديد البوليفينول والفلافونويد. لهذا، يتم تقييم نسبة النشاط المضاد للأكسدة باستخدام أربع طرق مختلفة (DPPH و ABTS و pouvoir réducteur والفينانثرولين). بالإضافة إلى ذلك، تم أيضاً تقييم التأثير المثبط لمستخلصات الخام ضد إنزيم الأميلاز  $\alpha$

لوحظت أعلى مستويات البوليفينول الكلي في مستخلصات الميثانول بوتانوليك

(302.28±25.24 g EAG/ml) (184.68± 8.22 g EAG/ml) ، على التوالي، على عكس المستخلص الكلوروفورمي، الذي أعطى أدنى المستويات. (8.27±49.09 g EAG/ml extract).

أظهر النشاط المضاد للأكسدة أن جميع مستخلصات النبات المدروس لها خصائص مضادة للأكسدة بمستويات مختلفة. ومع ذلك، فإن مستخلص الميثانول يشير إلى أهم نشاط مضاد للأكسدة. كانت المستخلصات القطبية غير نشطة ضد  $\alpha$ -أميلاز، في حين أظهر المستخلص الكلوروفورمي تأثيراً متواضعاً ضد هذا الإنزيم بنسبة تثبيط تبلغ 16.88 4.02% عند 400 غرام/مل

تظهر هذه النتائج أنه يمكن الترويج لنبات *Jaubertia reboudiana* كمصدر للمواد ثنائية النشاط

الكلمات الرئيسية: *Jaubertia reboudiana*، نشاط مضاد للأكسدة،  $\alpha$ -amylase، بوليفينول، فلافونويد.



Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : AMROUNI Nesrine

TRIFA Narimen

## Évaluation *In vitro* de certaines activités biologiques des extraits d'une plante endémique algérienne

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie.

### Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité pharmacologiques des extraits de la plante endémique Algérienne *Jaubertia reboudiana* et de déterminer leurs teneurs en polyphénols et flavonoïdes. Pour cela, l'activité antioxydante est évaluée utilisant quatre différentes méthodes (DPPH, ABTS, pouvoir réducteur et phénanthroline). De plus, l'effet inhibiteur des extraits bruts contre l'enzyme  $\alpha$ -amylase a été également évalué.

Les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées ont été observées dans les extraits butanolique méthanolique ( $302.28 \pm 25.24 \mu\text{g EAG/ml}$  et  $184,68 \pm 8,22 \mu\text{g EAG/ml}$ , respectivement), contrairement à l'extrait chloroformique qui a donné la teneur la plus faible ( $49.09 \pm 8.27 \mu\text{g EAG/ml}$  d'extrait).

L'activité antioxydante a montré que tous les extraits de la plante étudiée présentent des propriétés antioxydantes à différent niveau. Cependant l'extrait méthanolique a signalé l'activité antioxydante la plus importante. Les extraits polaires ont été inactifs contre l' $\alpha$ -amylase, par contre l'extrait chloroformique a montré un effet modeste contre cette enzyme avec un pourcentage d'inhibition de  $16,88 \pm 4,02\%$  à  $400 \mu\text{g/ml}$ .

Ces résultats montrent que la plante *Jaubertia reboudiana* pourrait être valorisée comme source de substances biactives.

**Mots-clefs :** *Jaubertia reboudiana*., activité antioxydanet., l' $\alpha$ -amylase., polyphénols., flavonoïdes.

### **Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie. Institut des sciences Vétérinaires.  
Université Constantine 1. Algérie. En collaboration avec centre de recherche de la biotechnologie Constantine. Algérie

**Président :** Dr. HALMI Sihem (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Rapporteur :** Dr. NOUI Amira (MRB - CRBt).

**Co-Encadreur :** Dr. MADI Aicha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** Dr. ZEGHAD Nadia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).