



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU  
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES  
DEPARTEMENT BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

**BOUKENI Ghenima & TOUM Thanina**

THEME

**Activité antioxydante des composés phénoliques  
d'*Asphodelus microcarpus***

Soutenu le : 18/11/2020

Devant le jury composé de:

<b>M<sup>r</sup> Titouche Y.</b>	Maitre de conférences B à l'UMMTO	Président de jury
<b>M<sup>elle</sup> Oussaid S.</b>	Maitre de conférences B à l'UMMTO	Promotrice
<b>M<sup>r</sup> Sebbane H.</b>	Maitre assistant A à l'UMMTO	Examineur

Année universitaire : 2019/2020

# REMERCIEMENTS

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à terme notre travail. C'est avec plaisir que nous consacrons cette page en signe de gratitude et de profondes reconnaissances pour notre promotrice M<sup>elle</sup> OUSSAID S. (Maitre de conférence classe B à UMMTO), pour son suivi, son énorme soutien, sa généreuse disponibilité, les précieuses informations qu'elle nous a prodiguées et ses conseils pertinents qui nous ont tant aidés.

Nos vifs remerciements vont à :

Monsieur TITOUCHE Y. (Maitre de conférence classe B à UMMTO), d'avoir accepté d'évaluer ce travail et sa disponibilité à présider le jury.

Monsieur SEBBANE H. (Maitre assistant classe A à UMMTO), d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.



# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents pour tout leur sacrifice, leur soutien et leur bienveillance pour mon instruction et mon bien être. Que Dieu le tout puissant vous accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçois.

A mes chers frères pour leur soutien moral, leur affection et le fait d'être toujours là pour moi. Que Dieu vous protège et vous garde.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A ma grand-mère, qui m'a accompagné par ses prières, que Dieu te garde pour moi.

A la mémoire de mes grands-parents, j'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.

A ma binôme « Ghenima » pour sa sympathie, sa compréhension et tout les moments agréables que nous avons passés ensemble.

**THANINA**



# Dédicaces

Avec l'expression de mes sincères reconnaissances, je dédie ce modeste travail :

A mes parents, ces deux personnes chères pour moi qui sont ma raison de vivre, je vous remercie pour votre amour éternel, votre affection, vos sacrifices, votre bienveillance, votre confiance aveugle en moi et vos conseils qui m'ont toujours guidés vers la bonne voie et ....Quelques soient les termes que j'utilise je n'arriverai jamais à décrire mes sincères sentiments envers vous, que Dieu vous accorde la santé et une longue vie heureuse.

A mes frères et sœurs, pour votre soutien, votre présence à mes cotés et vos encouragements qui m'ont énormément servis, que dieu vous garde pour moi.

A ma sœur chérie « Souhila » mon âme sœur, mon pilier, ma confidente, ta présence illumine ma vie jour après jour, ton amour et ton humour font de toi une personne particulière et précieuse, que Dieu nous gardera fusionnelles à jamais.

A la mémoire de mes grands-parents et ma tante, que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.

Sans oublier ma binôme « Thanina » pour sa compréhension, sa patience et sa sympathie tout au long de notre travail.

**GHENIMA**

## Résumé

*Asphodelus microcarpus* est largement utilisée en médecine traditionnelle. Ses vertus thérapeutiques pourraient être dues à la présence des composés phénoliques. Le présent travail est une étude bibliographique portant sur l'activité antioxydante des polyphénols obtenus à partir de cette plante néanmoins d'autres propriétés biologiques ont été abordées. Il ressort de l'étude antérieure portant sur l'analyse phytochimique d'*A. microcarpus* que les composés majoritaires sont les acides phénoliques et les flavonoïdes essentiellement l'acide chlorogénique, acide transinamylaldehyde, lutéoléine, cyanine chlorure et l'acide *p*-coumarique. Les taux les plus importants de polyphénols et flavonoïdes ont été enregistrés dans les extraits méthanoliques des feuilles. L'évaluation des propriétés biologiques de cette plante a permis d'enregistrer un fort pouvoir antioxydant et une considérable activité antibactérienne et antifongique vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Cryptococcus neoformans*, respectivement. De plus, des concentrations inférieures à 10 µg/ml sont capables d'inhiber la prolifération des cellules myéloïdes LMA. L'extrait d'*A. microcarpus* exerce également un excellent effet anti-inflammatoire sur des modèles animaux souffrant d'œdème.

Ainsi, de nombreuses propriétés biologiques d'*A. microcarpus* ont été mises en évidence, ce qui explique son utilisation traditionnelle pour le traitement de diverses maladies particulièrement celles qui sont liées au stress oxydant.

**Mots clés :** *A. microcarpus*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, stress oxydatif, propriétés biologiques.

## Abstract

*Asphodelus microcarpus* has been usually used in traditional medicine. Its therapeutic virtues could be attributed to the presence of phenolic compounds. The present work is a bibliographic study on the antioxidant activity of polyphenols obtained from this plant, but other pharmacological properties have been discussed. It emerges from the previous study on the phytochemical analysis of *A. microcarpus* that the major compounds are phenolic acids and flavonoids mainly chlorogenic acid, transinamylaldehyde acid, luteolein, cyanine chloride and *p*-coumaric acid. The highest levels of polyphenols and flavonoids are found in the methanolic extracts of the leaves. Evaluation of the biological properties of this plant has made it possible to record a strong antioxidant power, antibacterial and antifungal activities against *Staphylococcus aureus* and *Cryptococcus neoformans*, respectively. Additionally concentrations of its extract less than 10 µg/ml were able to inhibit the proliferation of myeloid cells AML. *A. microcarpus* extract exerts also an excellent anti-inflammatory effect on the animal models with edema.

Since this study confirms the biological properties of *A. microcarpus* therefore this explains its traditional use for the treatment of various diseases particularly those related to oxidative stress.

**Key words:** *A. microcarpus*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, oxidative stress, biological properties.

## ملخص

يستخدم *Asphodelus microcarpus* على نطاق واسع في الطب التقليدي. يمكن أن تعود فضائله العلاجية إلى المركبات الفينولية. العمل الحالي عبارة عن دراسة ببيوغرافية عن النشاط المضاد للأكسدة للبوليفينول الذي تم الحصول عليه من هذا النبات ، ولكن تمت مناقشة الخصائص البيولوجية الأخرى. من الدراسة السابقة للتحليل الكيميائي النباتي لعقار *A. microcarpus* ، يبدو أن المركبات السائدة هي الأحماض الفينولية والفلافونويدات ، وخاصة حمض الكلوروجينيك ، وحمض ترانسيناميل ألديهيد ، واللوتولين ، وكلوريد السيانين ، وحمض الكوماريك. تم تسجيل أعلى مستويات البوليفينول والفلافونويد في المستخلصات الميثانولية للأوراق. أتاح تقييم الخصائص الدوائية لهذا النبات تسجيل قوة قوية مضادة للأكسدة ونشاط مضاد للميكروبات ومضاد للفطريات ضد *Staphylococcus aureus* و *neoformans* و *Cryptococcus*. بالإضافة إلى ذلك ، فإن التركيزات التي تقل عن 10 ميكروغرام / مل قادرة على منع تكاثر الخلايا النخاعية LMA. مستخلص *A. microcarpus* له تأثير ممتاز مضاد للالتهابات على النماذج الحيوانية التي تعاني من الوذمة.

وهكذا، تم تحديد العديد من الخصائص البيولوجية لـ *A. microcarpus* ، وهو ما يفسر استخدامه التقليدي لعلاج الأمراض المختلفة ، لا سيما تلك المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية :** *A. microcarpus* ، البوليفينول ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، الإجهاد التأكسدي ، الخصائص البيولوجية.

## Liste des abréviations

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**EAM** : Extraction assistée par micro-ondes

**EAU** : Extraction assistée aux ultrasons

**ER** : Equivalente rutine

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**GP<sub>x</sub>** : Glutathion peroxyde

**GSH** : Glutathion

**HClO** : Acide hypochlorique

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibiteur requise pour produire 50% d'inhibition

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

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

**O<sub>3</sub>** : Ozone

**OH•** : Radical hydroxyle

**ROO•** : Radical peroxyde

**SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

**SH** : Groupement sulfhydryle

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : La Plante d' <i>Asphodelus microcarpus</i> (a) : la partie aérienne de la plante ; (b) : la partie souterraine de la plante.....	2
<b>Figure 2</b> : Structure du groupement phénol.....	5
<b>Figure 3</b> : Structure de catéchol (a) et de pyrogallol (b) .....	7
<b>Figure 4</b> : Structure de base des flavonoides.....	8
<b>Figure 5</b> : Structure de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b).....	9
<b>Figure 6</b> : Caractéristiques structurales des tannins hydrolysables (a) : acide gallique ; (b) : acide ellagique ; (c) : pentagalloylglucose, précurseur des tannins hydrolysables .....	10
<b>Figure 7</b> : Structure de tannins condensés.....	11
<b>Figure 8</b> : Structure de la lignine (a) : alcool coumarylique ; (b) : alcool coniférylique ; (c) : alcool sinapylique.....	11
<b>Figure 9</b> : L'origine biosynthétique des composés phénoliques par la voie de shikimate.....	13
<b>Figure 10</b> : Structure d'un extracteur Soxhlet .....	14
<b>Figure 11</b> : Réacteur de l'EAU (a) : photo ; (b) : schéma .....	15
<b>Figure 12</b> : Mécanisme de l'EAM.....	16
<b>Figure 13</b> : Structure de l'acide urique.....	23
<b>Figure 14</b> : Structure du glutathion .....	23
<b>Figure 15</b> : Structure de la vitamine E.....	24
<b>Figure 16</b> : Structure de la vitamine C .....	24

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Représentation des formes simples des composés phénoliques .....	6
<b>Tableau II :</b> Représentation des formes complexes des composés phénoliques .....	9
<b>Tableau III :</b> Rendement d'extraction des polyphénols à partir des différentes parties d' <i>A. microcarpus</i> .....	26
<b>Tableau IV :</b> Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques et aqueux des différentes parties d' <i>A. microcarpus</i> .....	27
<b>Tableau V :</b> Concentrations des composés phénoliques identifiés dans les extraits méthanoliques d' <i>A. microcarpus</i> .....	28

Résumé .....	I
Abstract .....	I
ملخص .....	II
Liste des abréviations .....	III
Liste des figures .....	IV
Liste des tableaux .....	V

## SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### I. *Asphodelus microcarpus*

I.1. Description botanique .....	2
I.2. Classification scientifique .....	2
I.3. Composition chimique .....	3
I.4. Activités biologiques .....	3
I.5. Usages traditionnels .....	3

### II. Les composés phénoliques

II.1. Classification des composés phénoliques .....	5
II.1.1. Polyphénols simples .....	5
II.1.1.1. Phénols simples.....	6
II.1.1.2. Acides phénoliques .....	7
II.1.1.3. Coumarines .....	7
II.1.1.4. Quinones .....	8
II.1.1.5. Stilbènes.....	8
II.1.1.6. Flavonoïdes .....	8
II.1.1.7. Alcools phénoliques.....	8

II.1.2. Polyphénols complexes .....	9
II.1.2.1. Tannins.....	9
II.1.2.2. Lignines .....	11
II.2. Biosynthèse des composés phénoliques .....	12
II.3. Extraction des composés phénoliques .....	13
II.3.1. Méthodes conventionnelles .....	14
II.3.1.1. Macération .....	14
II.3.1.2. Infusion .....	14
II.3.1.3. Extraction par Soxhlet .....	14
II.3.2. Méthodes modernes.....	15
II.3.2.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU) .....	15
II.3.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (EAM) .....	16
II.3.2.2.1. Mécanisme d'action .....	16
II.3.2.2.2. Instrumentation du four à micro-ondes .....	17
II.3.2.2.3. Paramètres influençant l'extraction par micro-ondes .....	17
II.3.2.2.4. Avantages et inconvénients de l'EAM.....	18

### **III. Activité antioxydante des polyphénols**

III.1. Radicaux libres .....	19
III.1.1. Types des radicaux libres .....	19
III.1.2. Rôles des radicaux libres.....	19
III.1.2.1. Rôles physiologiques .....	19
III.1.2.2. Rôles néfastes des radicaux libres .....	20
III.2. Stress oxydatif .....	21
III.2.1. Définition .....	21
III.2.2. Origines du stress oxydatif.....	21
III.3. Antioxydants .....	21
III.3.1. Types des antioxydants .....	22
III.3.1.1. Antioxydants endogènes.....	22
III.3.1.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	22

III.3.1.1.2. Antioxydants non enzymatiques .....	22
III.3.1.2. Antioxydants exogènes.....	23
<b>IV. Etudes antérieures sur <i>Asphodelus microcarpus</i></b>	
IV.1. Extraction et dosage des polyphénols .....	26
IV.2. Composés phénoliques identifiés.....	27
IV.3. Activité antioxydante .....	29
IV.4. Activité anticancéreuse .....	29
IV.5. Activité antibactérienne .....	30
IV.6. Activité antifongique.....	30
IV.7. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	30
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>32</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>33</b>

# **Introduction générale**

La phytothérapie occupait une place importante dans la médecine traditionnelle, elle exploite les propriétés curatives et apaisantes des plantes pour soulager et calmer les douleurs. De nos jours, cette thérapie connaît un regain d'intérêt en raison des effets indésirables de certains médicaments et l'émergence du phénomène de résistance aux antibiotiques.

Les végétaux produisent une multitude de molécules capables de lutter contre les différentes réactions radicalaires des oxydants et de remédier aux dommages oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces ERO sont dérivées principalement de la molécule de l'oxygène avec une toxicité plus significative. Suite à leur accumulation dans les systèmes vivants et leurs attaques radicalaires aux molécules biologiques vitales (ADN, protéines et lipides), elles sont incriminées dans plusieurs pathologies comme le cancer et les maladies cardiovasculaires (Migdal et Serres, 2011).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les céréales et le thé) (Zhang et Tsao, 2006). Ils interviennent dans les processus de lignification, la résistance aux UV et aux insectes ravageurs mais ils participent également dans les critères organoleptiques des aliments (Macheix *et al.*, 2005). De plus, les composés phénoliques et principalement les flavonoïdes possèdent un impact positif indéniable sur la santé humaine due à leur fort pouvoir antioxydant, anti inflammatoire, antiallergique et anticancéreux (Mghezzi Habellah *et al.*, 2016).

Parmi les plantes médicinales répandues en Algérie figure *Asphodelus microcarpus*. Sa composition variée au niveau de ses différentes parties (feuilles, racines, tiges...), permet son emploi dans les secteurs industriels et pharmaceutiques. Les extraits de cette plante sont reconnus pour leurs activités antimicrobiennes, antifongiques, antivirales (El - Ghaly, 2017) en plus de leurs activités antioxydantes en raison de sa contenance en composés phénoliques (Di Petrillo *et al.*, 2016 ; Kitaz, 2017).

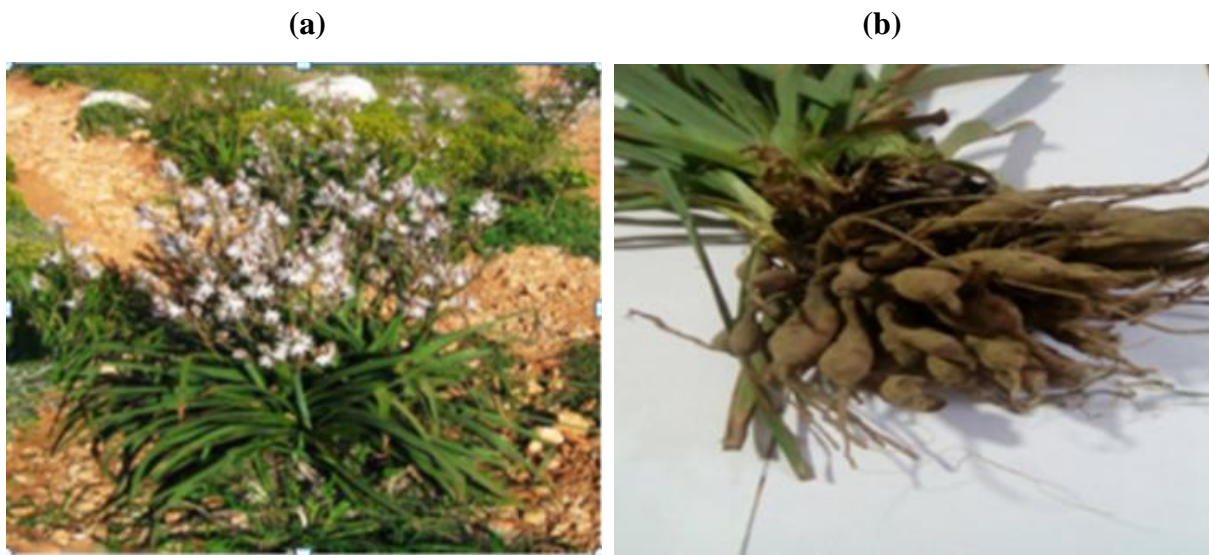
Ce manuscrit est une synthèse bibliographique sur la plante *A. microcarpus*. Elle est scindée en deux parties : la première porte sur des généralités sur la plante, les composés phénoliques, leur classification, les différentes techniques de leur extraction ainsi que leur activité antioxydante. La deuxième partie met en relief l'ensemble des travaux antérieurs relatifs aux propriétés biologiques de la plante.

# Revue bibliographique

## I. *Asphodelus microcarpus*.

### I.1. Description botanique

*Asphodelus microcarpus* est une espèce de plante herbacée et vivace dont la hauteur peut atteindre environ un mètre. Avec ses feuilles étroites, carénées en pointe comme une sorte d'épée, elle forme une touffe. Sa floraison blanche est constituée de 6 pétales striés en partie centrale et 06 étamines longues à filament blanc et anthère orange (Mayouf, 2019). Selon Rizk et Hammouda (1970), elle possède un appareil souterrain sous forme de tubercules fusiformes (figure 1). Elle pousse aisément dans le bassin méditerranéen (Rizk et Hammouda, 1970) et habite les sols calcaires, dans les pâturages et les prairies (El Bouhissi *et al.*, 2014).



**Figure 1** : La Plante d'*A. microcarpus* (a) : la partie aérienne de la plante (Zaoui, 2014) ; (b) : la partie souterraine de la plante.

### I.2. Classification scientifique

La taxonomie d'*A. microcapus* selon Ghileb (1987) in Mayouf (2019) est la suivante :

- **embranchement** : Spermaphytes ;
- **sous - embranchement** : Angiospermes ;
- **classe** : Monocotylédones ;
- **ordre** : Liliiflorae ;
- **famille** : Liliaceae ;
- **genre** : *Asphodelus* ;

- **espèce** : *Asphodelus microcapus* salzm and viv ;
- **synonymie** : *Asphodelus aestivus* brot ;
- **nom commun** : Asphodèle ;
- **noms vernaculaires** : Barouag (dans l'Est Algérien), Balouaz (dans le centre Algérien) ; et Ighri (chez les berbères).

### I.3. Composition chimique

Des études phytochimiques réalisées sur les racines d'*A. microcarpus* ont révélé leur contenance en anthraquinones et dérivés du naphtalène (Ghoneim *et al.*, 2013) en arylcoumarines (El- Seedi, 2007) en triterpénoïdes, carbohydrates (raffinose, sucrose, glucose et fructose) et en mucilages qui sont constitués essentiellement du glucose, galactose et arabinose (Rizk et Hammouda, 1970).

Une fraction d'acides gras tels que l'acide myristique, palmitique, oléique, linoléique et stéarique a été identifiée au niveau des graines mais aussi au niveau des racines de la plante d'*Asphodelus* (Malmir *et al.*, 2018).

Des travaux réalisés par Hosni *et al.* (2019) ont prouvé que les feuilles sont riches en anthracénosides, tannins flavaniques, polyphénols, flavonoïdes et quelques traces d'alcaloïdes. Au niveau des fleurs, les huiles essentielles sont riches en Germacrene D, Germacrene B, á-Elemene et caryophyllene (Zellagui *et al.*, 2013).

### I.4. Activités biologiques

Di Petrillo et ses collaborateurs (2017) ont identifié une importante activité antibactérienne de l'extrait d'*A. microcapus* contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Bacillus clausii*. Elle présente également une activité antivirale (El-Ghaly, 2017) et un fort pouvoir antioxydant (Di-Petrillo *et al.*, 2016 ; Kitaz, 2017).

### I.5. Usages traditionnels

Connue pour ses multiples vertus, *A. microcarpus* est utilisée par les populations latines et grecques aussi bien dans leurs activités industrielles que dans leurs préparations médicinales.

Dans le domaine industriel, l'extrait des racines peut servir comme colle utilisable en cordonnerie (Hammouda *et al.*, 1972).

Autrefois, *A. microcarpus* était largement utilisée en pharmacopée traditionnelle et représentait un remède précieux. Elle est employée comme émoullients cutané, adoucissant et

dans le traitement des maladies pulmonaire (Loi *et al.*, 2005). Les racines sont employées pour traiter l'anémie et le diabète (El Alami *et al.*, 2016).

En phytothérapie Algérienne, elle parvient dans le traitement des otites, comme calmants dentaires, diurétique et dans le traitement du rhumatisme (Sarri *et al.*, 2014). De plus, les tubercules souterrains sont utilisés dans le soin des tâches blanches au niveau de la peau et leur extraits méthanoliques convient au traitement des ulcères (Razik *et al.*, 2016).

## II. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, produits à côté des métabolites primaires (glucides, lipides, protides et les acides nucléiques). Ils possèdent au moins un noyau aromatique à 6 carbones portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (OH) (Macheix *et al.*, 2006) (figure 2).



**Figure2:** Structure du groupement phénol (Hecini et Achour, 2008).

Les composés phénoliques sont présents dans les différentes parties des plantes (Achat, 2013), leur répartition varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement (Macheix *et al.*, 2006). Ils interviennent dans la défense des végétaux contre les virus, les bactéries, les champignons et les herbivores (Papuc *et al.*, 2017).


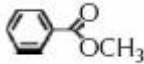
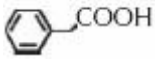
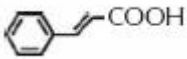
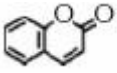
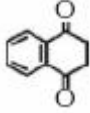
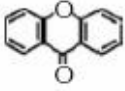
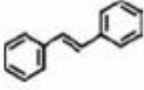
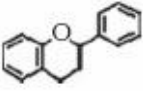
### II.1. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont regroupés en de nombreuses classes dont les polyphénols simples et les polyphénols complexes.

#### II.1.1. Polyphénols simples

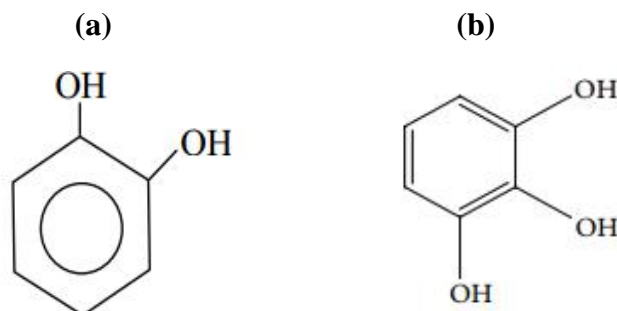
Ils contiennent les formes phénoliques les plus simples présentant des structures chimiques allant du simple phénol C<sub>6</sub> (absent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes C<sub>15</sub> (Macheix *et al.*, 2006) (tableau I).

**Tableau I:** Représentation des formes simples des composés phénoliques (Crozier *et al.*, 2006).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C6-C1	Acide hydroxybenzoïque	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide <i>p</i> -Hydroxyphénylacétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide <i>p</i> -Coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

### II.1.1.1. Phénols simples

Ils possèdent 6 atomes de carbone, ils ont une action toxique vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999). Exemple : de catéchol et de pyrogallol (figure 3).



**Figure 3 :** Structure de catéchol (a) (Hecini et Achour, 2008) et de pyrogallol (b) (Hossain *et al.*, 2017).

### II.1.1.2. Acides phénoliques

Il existe deux catégories d'acides phénoliques : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Lafay et Gil-Izquierdo, 2008).

#### - Acides hydroxybenzoïques

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure chimique de type (C6-C1). Ils sont présents sous forme d'esters ou de glucosides et sont libérés suite à une hydrolyse basique de la lignine et de certains tannins (Macheix *et al.*, 2005).

Les acides hydroxybenzoïques sont répandus dans les aliments tels que le thé, le vin rouge, pomme de terre et certains fruits comme la fraise (Chanforan, 2010).

#### - Acides hydroxycinnamiques

Ils dérivent de l'acide cinnamique de la formule (C6-C3). Ils sont souvent estérifiés et peuvent être aussi amidifiés ou combinés avec des sucres. Leur réactivité chimique est déterminée par le degré d'hydroxylation et la modification du cycle benzénique par des réactions secondaires (Macheix *et al.*, 2005).

La forme libre des acides hydroxycinnamiques est généralement rare, elle est abondante dans le café, la pomme, les épinards et le chou (Chanforan, 2010).

### II.1.1.3. Coumarines

Elles sont dérivées de l'acide hydroxycinnamique avec une structure de base (C6-C3). Les coumarines sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999). Elles sont connues pour leurs propriétés antitumorale et bactériostatique (Jain et Joshi, 2012).

#### II.1.1.4. Quinones

Ce sont des composés omniprésents et très réactifs qui résultent de l'oxydation des dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques, elles sont connues par leur effet antimicrobien (Cowan, 1999). On distingue les para-quinones caractérisés par le motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diénique et les ortho-quinones caractérisés par le motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diénique (Bruneton, 1993).

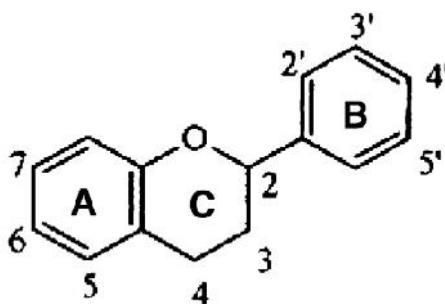
#### II.1.1.5. Stilbènes

Les stilbènes sont dérivés également de l'acide hydroxycinnamique présentant une structure de base de type (C6-C2-C6). Ils sont produits par les plantes vis-à-vis les attaques fongiques, bactériennes et virales (Crozier *et al.*, 2006).

#### II.1.1.6. Flavonoïdes

Caractérisés par un squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration de type (C6-C3-C6). Les flavonoïdes sont constitués d'un squelette formé de 2 cycles aromatiques (A et B) et un hétérocycle (C) à oxygène (Erdman *et al.*, 2007) (figure 4).

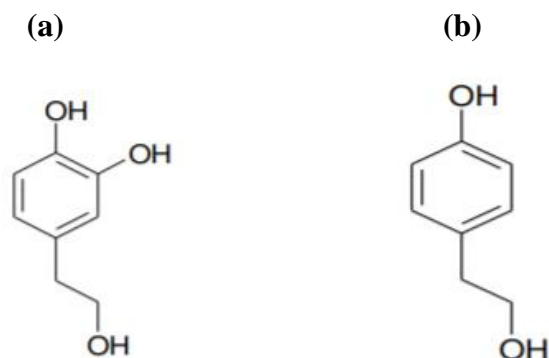
La distinction entre les différentes classes des flavonoïdes repose sur la structure et le degré d'oxydation de l'hétérocycle central (Macheix *et al.*, 2005). Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments naturels des plantes. Ils préviennent les risques de maladies cardio-vasculaires (Erdman *et al.*, 2007).



**Figure 4 :** Structure de base des flavonoïdes (Erdman *et al.*, 2007).

#### II. 1. 1. 7. Alcools phénoliques

Les alcools phénoliques sont des composés qui possèdent une fonction alcool et une fonction phénol. Les principaux alcools phénoliques sont : le tyrosol et hydroxytyrosol (Achat, 2013) (figure 5).



**Figure 5 :** Structure de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b) (Long *et al.*, 2010).

### II.1.2. Polyphénols complexes

Ces composés résultent de la condensation des certaines formes simples et selon la nature et le type de condensation, on obtient des composés plus ou moins complexes (tableau II).

**Tableau II:** Représentation des formes complexes (Bruneton, 2009).

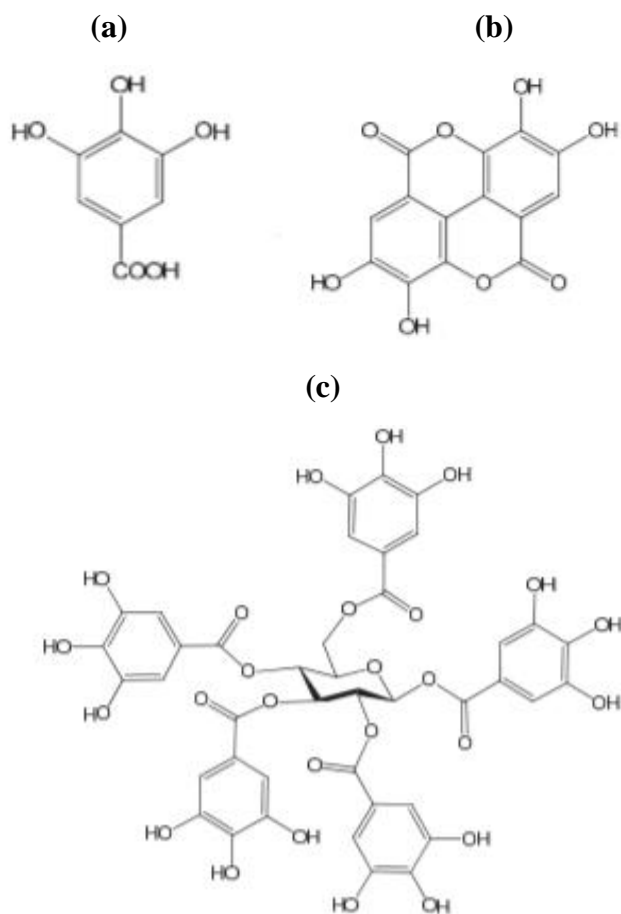
18	(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Matairésinol	
30	(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, hinokiflavone	/
N	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tannins condensés proanthocyanidols	Aesculitanins	/

#### II.1.2.1. Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques polymérisés avec un poids moléculaire situé entre 500 et 3000 kDa (Kamra *et al.*, 2006). Ils sont à l'origine de la saveur astringente des fruits et légumes induite par leur complexation avec les protéines salivaires (Chanforan, 2010). Ils sont classés en deux groupes : tannins hydrolysables et tannins condensés (Cowan, 1999).

- **Tannins hydrolysables**

Ils sont formés à partir d'esters du D-glucose et de l'acide gallique et ses dérivés notamment l'acide ellagique. Ce sont des composés qui peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique libérant une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit de l'acide ellagique (Macheix *et al.*, 2006) (figure 6).

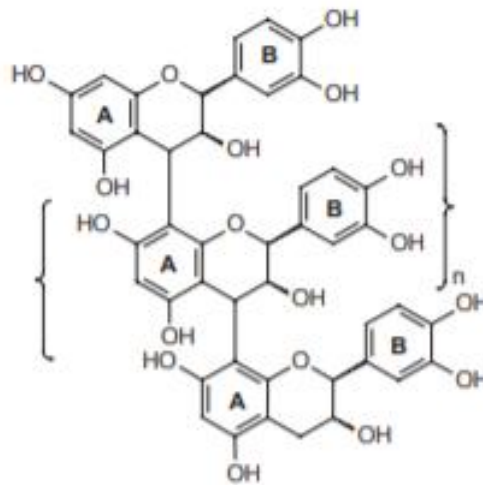


**Figure 6:** Caractéristiques structurales des tannins hydrolysables (a) : acide gallique ; (b) : acide ellagique ; (c) : pentagalloylglucose, précurseur des tannins hydrolysables (Macáková *et al.*, 2014).

- **Tannins condensés**

Ce sont des polymères de flavane-3-ols présentant une structure proche de celle des flavonoïdes (figure 7). Ce groupe de tannins est non hydrolysable, seules les attaques

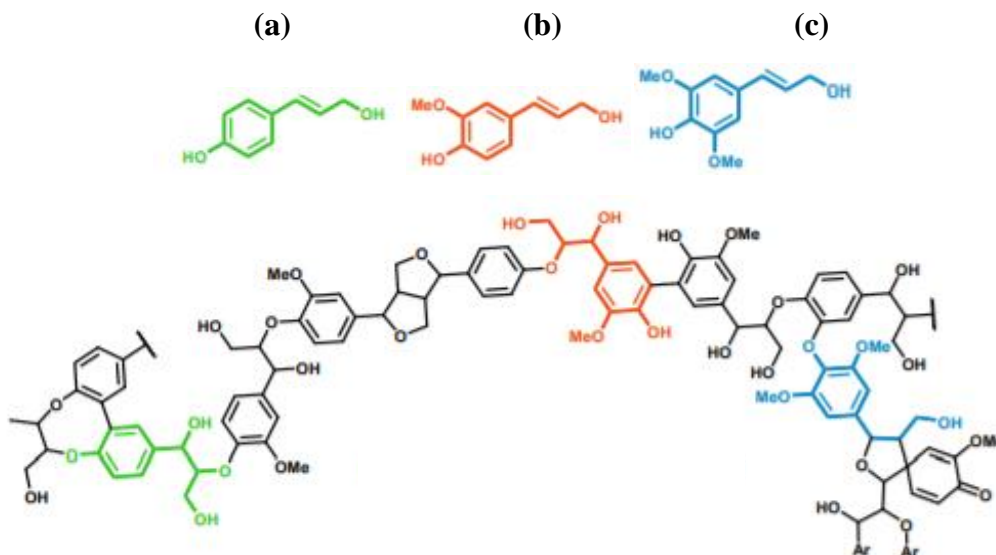
chimiques fortes sous l'effet d'un traitement acide à chaud qui peuvent les dégrader (Macheix *et al.*, 2005).



**Figure 7 :** Structure de tannins condensés (Li *et al.*, 2004).

### II.1.2.2. Lignines

Ce sont des polymères constitués de 3 molécules phénoliques appelées monolignols (les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique) (figure 8). Elles sont de caractère hydrophobique et s'accumulent au niveau des parois des cellules, systèmes conducteurs de la sève brute et le noyau des fruits pour lesquels elles confèrent de la rigidité et de la résistance mécanique (Macheix *et al.*, 2006).

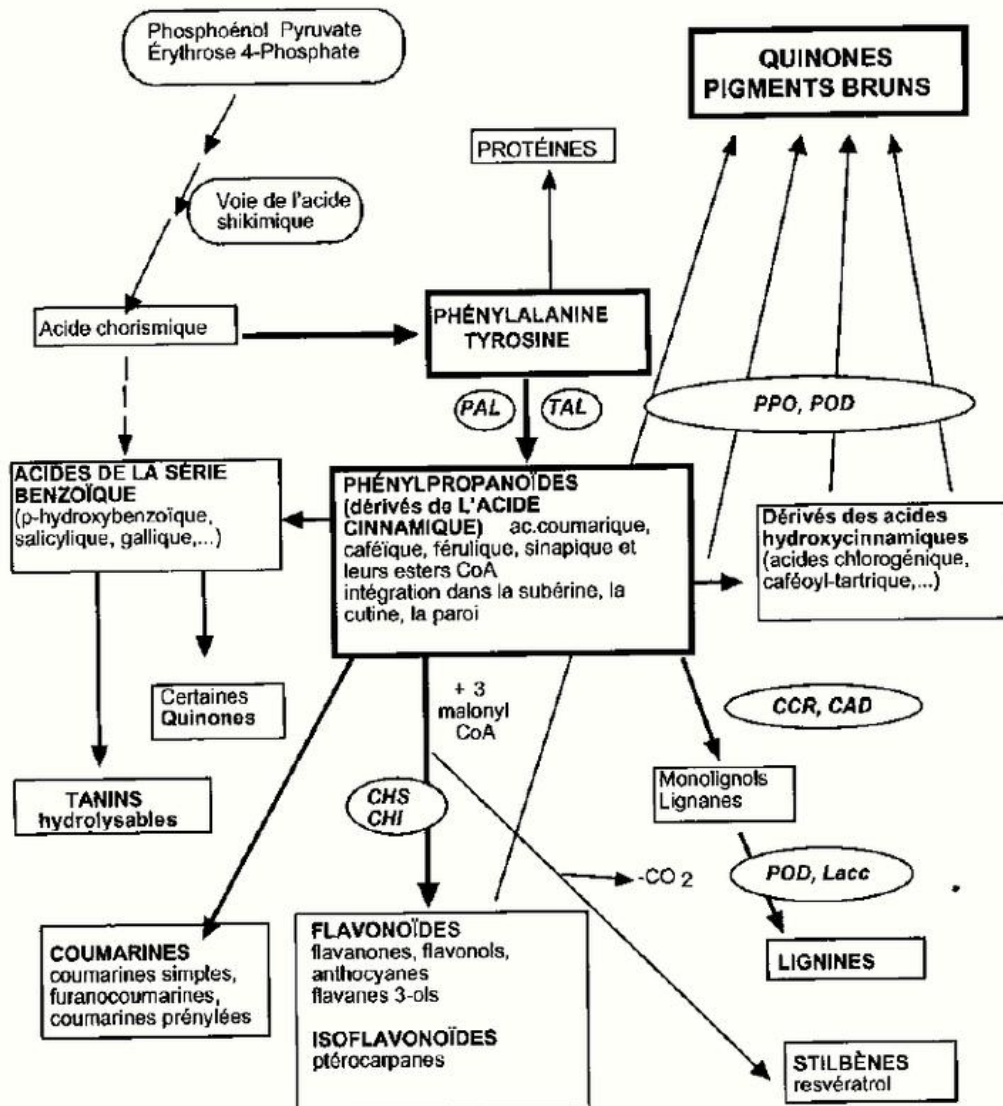


**Figure 8 :** Structure de la lignine : (a) : alcool coumarylique ; (b) : alcool coniférylique ; (c) : alcool sinapylique) (Kärkäs *et al.*, 2016).

### II.2. Biosynthèse des composés phénoliques

La voie biosynthétique des composés phénoliques est similaire, ils dérivent de l'acide shikimique et donne naissance aux acides aminés aromatiques (Phénylalanine et Tyrosine). La désamination de ces derniers conduit à la formation de l'acide cinnamique et à leurs nombreux dérivés : acides coumarique, caféique, férulique et sinapique (figure 9). Leur forme ester avec le coenzyme A donne lieu aux:

- acides hydroxybenzoïques (acide gallique, salicylique...) par une -oxydation et aux tannins hydrolysables par combinaison des sucres avec l'acide gallique ;
- esters hydroxycinnamiques par estérification avec un acide alcool exemple d'acide quinique ;
- coumarines, par cyclisation interne des molécules suivie par leur modification (glycosylations...);
- lignines, par une réduction conduisant aux monolignols suivie d'une polymérisation oxydative en présence des peroxydases et les laccases ;
- flavonoïdes, par la condensation chimique des chalcones, qui par polymérisation aboutit aux tannins condensés (Macheix *et al.*, 2006).



**Figure 9 :** L'origine biosynthétique des composés phénoliques par la voie de shikimate (Macheix *et al.*, 2006). PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : cinnamate CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool désydogénase ; CHS : chalcone synthase ; CHI : chalcone flavone isomérase ; PPO : polphénoxydases ; POD : peroxydases ; Lacc : laccases.

### II.3. Extraction des composés phénoliques

La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile l'établissement d'une présentation globale des méthodes de leurs extraction et de purification. A cet effet, il existe plusieurs méthodes d'extraction des composés phénoliques appropriées à leur nature chimique, leur solubilité et leur degré de liaisons avec d'autres constituants végétaux (Macheix *et al.*, 2005).

### II.3.1. Méthodes conventionnelles

#### II.3.1.1. Macération

C'est un procédé qui consiste à laisser séjourner la matrice végétale dans un solvant d'extraction à température ambiante, avec ou sans agitation (Pradal, 2016). Elle est appropriée pour les molécules thermosensibles et parmi ses inconvénients le faible rendement, la lenteur de la procédure et le risque de contamination bactérienne en cas d'emploi de l'eau comme solvant.

#### II.3.1.2. Infusion

Cette technique consiste à mettre en suspension des parties de la plante dans l'eau bouillante puis laisser reposer le mélange pour une durée de 10 à 15 minutes (Sofowora, 2010).

#### II.3.1.3. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une technique qui repose sur la circulation continue du solvant à travers la matière végétale jusqu'à l'épuisement total du contenu végétal (Wang et Weller, 2006). Etant donné que l'extraction est effectuée à l'aide d'un solvant chaud cela améliore la dissolution des composés d'intérêts (Pradal, 2016). La figure 10 représente l'appareil dans lequel s'effectue cette extraction. Parmi ses points indésirables: le temps d'extraction relativement important et la nécessité des grandes quantités de solvants, en plus du risque de thermodestruction des composés ciblés (Wang et Weller, 2006).

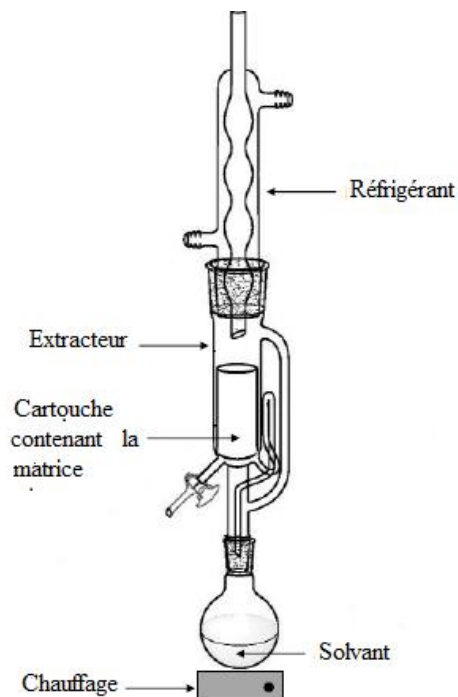


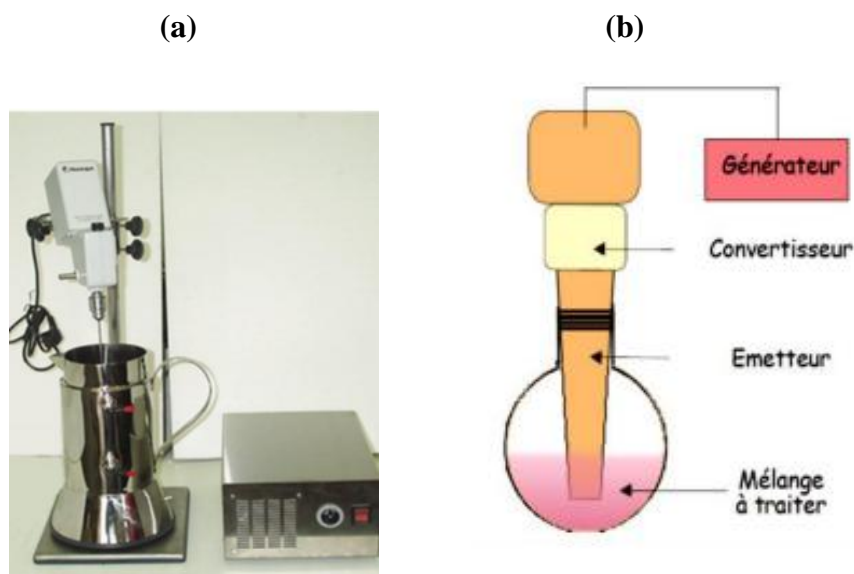
Figure 10 : Structure d'un extracteur Soxhlet (Pradal, 2016).

### II.3.2. Méthodes modernes

#### II.3.2.1. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles et mécaniques, caractérisées par des hautes fréquences pour être audibles par l'oreille humaine et situant entre 20 kHz à 10 MHz (Pradal, 2016). L'EAU s'effectue dans l'extracteur représenté dans la figure 11. La propagation des ondes sonores dans le milieu d'extraction induisent une succession de cycles d'expansion et de compression. Les bulles formées par l'expansion vont se développer et finissent par s'effondrer dans le milieu liquide, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapide, responsables de la libération des composés d'intérêts après la perforation des parois végétales (Luque-Garcia et Luque de Castro, 2003). Ce mécanisme est influencé par plusieurs paramètres à savoir le taux d'humidité, la taille des particules, la nature du solvant, la fréquence, la pression, la température et le temps d'application des ultrasons (Wang et Weller, 2006).

L'extraction aux ultrasons est une méthode peu couteuse et facile à mettre en œuvre permettant d'utiliser une large gamme de solvants tout en diminuant leur consommation (Michel, 2011). Elle augmente le rendement et permet d'éviter la thermodestruction des molécules actives puisqu'elle ne nécessite pas de hautes températures. En revanche, une dispersion non homogène de la phase solide induit la restriction de la zone qui va subir les ultrasons en engendrant ainsi la diminution du rendement (Wang et Weller, 2006).



**Figure 11** : Réacteur de l'Extraction assistée par ultrasons (a) : photo (Pingret, 2012) ; (b) : schéma (Achat, 2013).

### II.3.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (EAM)

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques situées dans la gamme de fréquence de 300 MHz à 300 GHz (généralement 2.45 GHz pour les micro-ondes industrielles) (Camel, 2000). Elles sont situées entre les infrarouges et les radiofréquences à des longueurs d'ondes comprises entre 1m et 1mm (Garagalza, 2013).

En contraste au chauffage conventionnel qui chauffe en premier la paroi du réacteur avant la matière végétale, le chauffage par micro-onde permet de chauffer le milieu réactionnel directement sans contact avec le milieu extérieur ce qui permet la réduction du temps d'extraction (Garagalza, 2013).

#### II.3.2.2.1. Mécanisme d'action

Cette méthode repose sur une interaction directe entre le rayonnement électromagnétique et la matière concernée. Les matrices végétales sont homogénéisées avec le solvant d'extraction (Pradal, 2016). Le solvant utilise l'énergie émise par les micro-ondes pour s'échauffer, ce chauffage entraîne la rupture des cellules végétales provoquant ainsi l'élévation de la température et de la pression interne de celles-ci (Jawad et Langrich, 2012) ce qui facilite par conséquent la pénétration du solvant à l'intérieur de la matrice végétale et la libération de son contenu (Khoddami *et al.*, 2013) (figure 12).

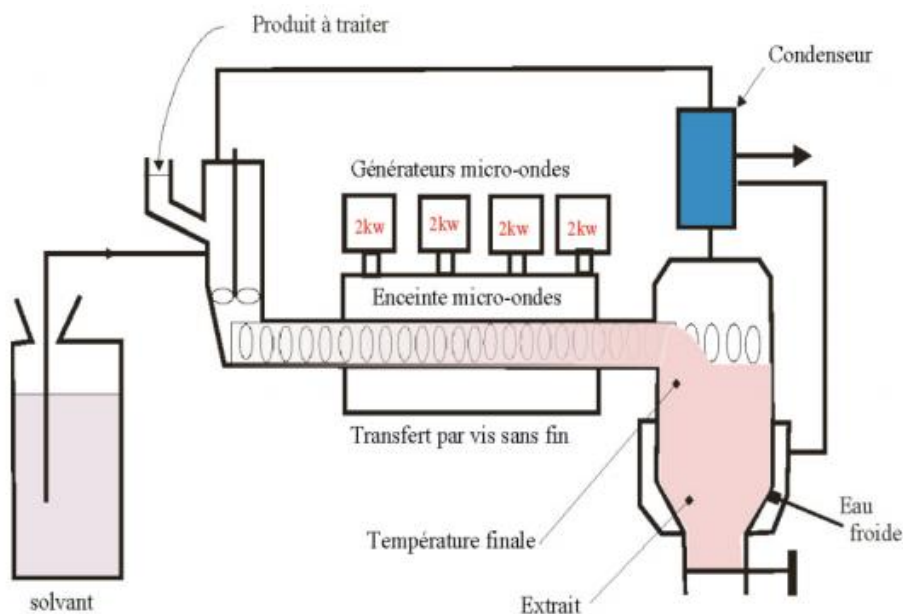


Figure 12 : Mécanisme de l'EAM (Chemat et Lucchesi, 2005).

### II.3.2.2.2. Instrumentation du four à micro-ondes

D'après Cendres(2010), un four micro-onde est composé fondamentalement d'un magnétron, d'un guide d'ondes et d'un applicateur :

- **magnétron** : c'est un générateur des micro-ondes à partir d'énergie électrique, il s'agit d'une diode électrique composée d'une cathode et d'une anode ;
- **guide d'ondes** : il se présente sous forme d'une pièce métallique jouant le rôle d'un conducteur d'ondes en vue de leur propagation dans l'applicateur ;
- **aplicateur** : c'est une cavité fermée qui doit assurer le transfert de l'énergie électromagnétique provenant du magnétron à l'échantillon. Il existe deux types d'applicateurs : les applicateurs monomodes et les applicateurs multimodes :
  - cavité mono-mode : elle présente un seul mode de propagation et permet le contrôle précis du champ électrique. Elle est réservée au traitement des petites quantités et volumes de produits ;
  - cavité multi-modes : dans ce cas la cavité est suffisamment grande et l'échantillon à traiter reçoit plusieurs ondes. A la différence de la cavité mono-mode, elle permet le traitement des volumes et quantités variables des échantillons.

### II.3.2.2.3. Paramètres influençant l'extraction par micro-ondes

Afin de maîtriser une EAM cinq facteurs importants doivent être pris en considération dont la puissance des micro-ondes, la nature et le volume du solvant, le temps d'extraction, la température d'extraction et la nature de la matrice (Mandal *et al.*, 2007) :

#### - **Puissance des micro-ondes**

Cette puissance contrôle la quantité d'énergie fournie à l'échantillon. Elle est influencée par deux paramètres : la température et le temps d'extraction. Cependant, la puissance est généralement minimisée afin d'éviter d'atteindre des hautes températures pouvant détruire les composés d'intérêts et elle est augmentée afin de diminuer le temps d'extraction (Mandal *et al.*, 2007).

#### - **Nature et volume du solvant**

La sélection du solvant est déterminée par la solubilité des molécules d'intérêts, la capacité des solvants à interagir avec la matrice et absorber les micro-ondes (Wang et Weller, 2006).

Le volume du solvant doit être suffisant pour que la matrice soit totalement émergée dans le solvant. Selon Sparr Eskilsson et Bjorklund (2000) le volume nécessaire par un échantillon se situe entre 10 à 30 ml.

### - Temps d'extraction

Le temps d'extraction est généralement court ne dépassant pas 30 minutes (Sparr Eskilsson et Bjorklund, 2000). Le recours à des temps prolongés n'améliore pas forcément le rendement. Toutefois, une durée prolongée pourrait dégrader les composés thermolabiles (Mandal *et al.*, 2007).

### - Température d'extraction

L'augmentation de la température d'extraction provoque une diminution de la viscosité des solvants et par cela elle améliore leur diffusion à l'intérieur de la matrice végétale entraînant ainsi l'augmentation du rendement (Sparr Eskilsson et Bjorklund, 2000).

### - - Nature de la matrice

L'eau joue un rôle primordial dans le processus d'échauffement le fait qu'elle est susceptible d'absorber les micro-ondes. Cependant le contrôle des molécules d'eau dans la matrice est très important du fait qu'il permet la reproductibilité des résultats (Camel, 2000).

## II.3.2.2.4. Avantages et inconvénients de l'EAM

### - Avantages

L'extraction par micro-ondes permet une rapidité d'action tout en augmentant le rendement et en diminuant la quantité de solvants utilisés, elle est facile à mettre en œuvre et peu coûteuse (Michel, 2011).

### - Inconvénients

L'emploi des solvants apolaires ou volatiles peut produire des rendements d'extraction faibles (Wang et Weller, 2006). L'EAM est une méthode qui n'est pas appropriée à l'extraction des composés thermosensibles tels que les vitamines et les protéines et exige la maîtrise de deux facteurs dont le temps de chauffage et l'inhomogénéité du chauffage par micro-ondes (Pradal, 2016).

## Chapitre III. Activité antioxydante des polyphénols.

### III.1. Radicaux libres

Un radical libre est une entité chimique qui peut être soit un atome ou une molécule ayant un ou plusieurs électrons célibataires sur leur couche externe, et capable de s'attaquer aux autres molécules en vue de se stabiliser entraînant ainsi des dommages moléculaires et cellulaires (Fontaine, 2007). L'ensemble des radicaux libres est souvent appelé espèces réactives d'oxygène (ERO) (Favier, 2003).

#### III.1.1. Types des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent dériver de l'oxygène (Espèce réactives de l'oxygène ERO), de l'azote (Espèce réactive de l'azote) ou d'autres atomes comme le chlore (Espèce réactive de chlore) qui peuvent être radicalaires ou non radicalaires (Halliwell et Whiteman, 2004) :

- **les espèces radicalaires** : anion superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ), radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), radical peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ), radical alkoxyde ( $RO^{\bullet}$ ) et monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) ;
- **les espèces non radicalaires**: peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), peroxyde organique ( $ROOH$ ), oxygène singulet ( $^1O_2$ ), peroxyde d'azote ( $ONOO^{\bullet}$ ) et l'acide hypochlorique ( $HOCl$ ).

#### III.1.2. Rôles des radicaux libres

Les études concernant les rôles des radicaux libres indiquent que ces espèces peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique selon leurs concentrations dans les systèmes biologiques.

##### III.1.2.1. Rôles physiologiques des radicaux libres

La production contrôlée des espèces radicalaires est tolérée par les organismes vivants et joue un rôle important dans la régulation de l'apoptose et l'activation des facteurs de transcription (Haleng *et al.*, 2007).

##### - Défense antimicrobienne

Lors d'une réponse immunitaire, la sécrétion du myéloperoxydase et la production du  $H_2O_2$  par les leucocytes participent à la formation du  $HOCl$  (Llyod *et al.*, 2013). Ce dernier forme spontanément le  $OH^{\bullet}$ , ces deux espèces hyper-réactives sont dotées d'un caractère extrêmement nocif pour tuer les bactéries cibles (Kada, 2018).

### - **Transduction des signaux et régulation de la prolifération cellulaire**

Les ERO sont responsables de l'activation de la famille des MAPK (Protéine Kinase Activée par un Mitogène) qui inclut un grand nombre de molécules de transduction du signal. Leur activation a pour principal rôle la régulation de la prolifération cellulaire et l'induction de cascades de signalisation (Seifried *et al.*, 2007).

Au cours de la fécondation, les spermatozoïdes produisent des ERO dans le but de franchir la paroi membranaire de l'ovule (Haleng *et al.*, 2007).

### **III.1.2.2. Rôles néfastes des radicaux libres**

L'accumulation des ERO dans les tissus biologiques entraîne des dommages irréversibles altérant les molécules biologiques qui sont :

#### - **Acides nucléiques**

Les effets nuisibles causés par les radicaux libres possèdent des implications dans les phénomènes de mutagenèse. Le  $H_2O_2$  et  $O_2^{\cdot -}$  interagissent pour former le  $OH^{\cdot}$  qui provoque l'oxydation de bases et les résidus du sucre, les cassures de brins et le pontage ADN-protéines (Bensakhria, 2018).

#### - **Protéines**

Les radicaux libres ont la capacité d'altérer certaines protéines particulièrement celles qui renferment un groupement sulfhydrile (SH) (Favier, 2003). Cependant, même les acides aminés aromatiques et basiques sont sensibles à l'attaque radicalaire qui engendre l'oxydation de leurs chaînes latérales (Migdal et Serres, 2011). Par conséquent, les protéines altérées par l'oxydation deviennent plus hydrophobes et s'agrègent au niveau des compartiments cellulaires (Favier, 2003).

#### - **Lipides**

Les lipides constituent la cible majeure des radicaux libres spécifiquement les acides gras polyinsaturés (Kada, 2018). L'oxydation des lipides par les radicaux libres et particulièrement le  $OH^{\cdot}$  s'effectue en arrachant un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, cette oxydation entraîne la modification de la fluidité membranaires (Favier, 2003).

#### - **Glucides**

Les ERO ont une prédilection pour le glucose et les protéoglycanes du cartilage. L'attaque radicalaire du glucose donne lieu aux dérivés carbonyles qui peuvent réagir avec certains groupements aminés libres des protéines contribuant à la formation de produits finaux

de glycosylation (PFG) (Kada, 2018). Ce phénomène est à l'origine de la fragilité des parois vasculaires et de la rétine chez les personnes diabétiques (Favier, 2003).

### **III.2. Stress oxydatif**

#### **III.2.1. Définition**

Le stress oxydatif est défini par Zbadi *et al.* (2018) comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance de production d'ERO et les systèmes antioxydants. C'est un phénomène physiopathologique conduisant à un excès de radicaux oxygénés toxiques non maîtrisés par les systèmes de défense de l'organisme. Cet excès est un facteur clé favorisant l'apparition de nombreuses pathologies chroniques tels que le cancer, des pathologies oculaires, des maladies neuro-dégénératives (maladie d'Alzheimer, sclérose latérale), les maladies cardio- vasculaires, diabète et vieillissement accéléré (Zbadi *et al.*, 2018).

#### **III.2.2. Origine du stress oxydatif**

Les mitochondries sont à l'origine de la production des ERO. En effet, au niveau de la chaîne mitochondriale, la fuite d'électrons conduit à la formation de radicaux superoxydes par liaisons de ces électrons aux molécules d'oxygène (Guillouty, 2016). Les mitochondries régulent le manque d'apport d'oxygène au niveau tissulaire par la libération d'ERO (Dupic *et al.*, 2010).

Selon Guillouty (2016), d'autres facteurs tels que les rayons UV, l'ozone (O<sub>3</sub>), le tabac et les herbicides sont également à l'origine de la formation des ERO. En effet, les UV (320-400nm) réduisent l'O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub><sup>-</sup>. L'O<sub>3</sub> contribue aussi à la formation d'ERO et ceci en favorisant la migration des polynucléaires neutrophiles (PNN) à la surface de l'épithélium respiratoire. Quant à la fumée du tabac, les ERO qui renferment seront à l'origine de la peroxydation lipidique et l'activation des molécules pro-inflammatoires. Concernant les herbicides, la toxicité du paraquat est induite par la formation des radicaux libres qui provoquent la saturation des voies de détoxification enzymatiques favorisant ainsi l'apparition du stress oxydatif.

### **III.3. Antioxydants**

Un antioxydant est défini comme toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques, capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres et maintenir des concentrations non cytotoxiques d'ERO dans les cellules (Rahman, 2007).

### III.3.1. Types des antioxydants

On distingue deux sources importantes d'antioxydants, l'une est exogène apportée par l'ensemble des fruits et légumes et l'autre source est endogène qui peut être enzymatique ou non enzymatique.

#### III.3.1.1. Antioxydants endogènes

##### III.3.1.1.1. Antioxydants enzymatiques

###### - Superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation de  $O_2^{\bullet -}$  en  $H_2O_2$  et  $O_2$ , elle représente par ce fait un système de défense important contre les radicaux libres (Haleng *et al.*, 2007).

###### - Catalase

La catalase est présente dans les peroxysomes (Valko *et al.*, 2006). Elle catalyse la conversion de l' $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$  (Stocker et Keaney, 2004).

###### - Glutathion peroxydase

La GPx est une sélénoprotéine formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium, elle permet d'éliminer les radicaux libres qui peuvent oxyder la molécule d'ADN (Belkheiri, 2010) et les peroxydes lipidiques (Haleng *et al.*, 2007).

##### III.3.1.1.2. Antioxydants non enzymatiques

###### - Bilirubine

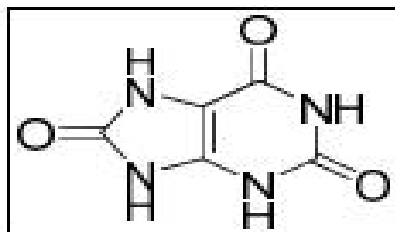
La bilirubine est un composé hydrophobe résultant de la dégradation de l'hème, elle est susceptible de piéger ROO et  $l^1O_2$  et protéger l'albumine en établissant des liaisons avec cette dernière (Haleng *et al.*, 2007).

###### - Ubiquinone

Il est qualifié d'un caractère lipophile associé à sa grande chaîne latérale qui lui permet de s'insérer au niveau des lipoprotéines et les membranes essentiellement mitochondriales où il empêche la peroxydation des lipides en synergie avec la vitamine E (Haleng *et al.*, 2007).

- **Acide urique**

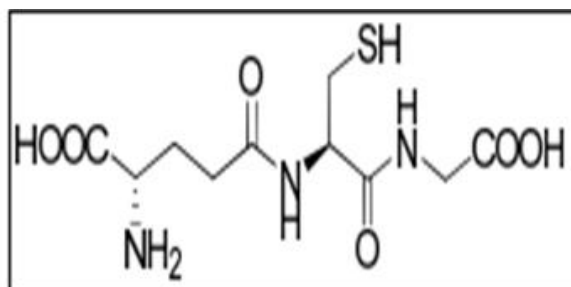
L'acide urique (figure 13) est le produit final du métabolisme des purines chez l'Homme (Haleng *et al.*, 2007). C'est un piègeur puissant d' $^1\text{O}_2$ , de  $\text{OH}^\cdot$ , de  $\text{ROO}^\cdot$ , de  $\text{O}_3$ , et de  $\text{HOCl}$  (Belkheiri, 2010).



**Figure 13:** Structure de l'acide urique (Belkheiri, 2010).

- **Glutathion**

GSH (figure 14) est un tripeptide composé d'acide glutamique - cystéine - glycine. Son grand pouvoir réducteur lui confère la propriété d'être le cofacteur de la  $\text{GP}_x$ , le chélateur des métaux de transition et le régénérateur final des vitamines E et C (Haleng *et al.*, 2007).

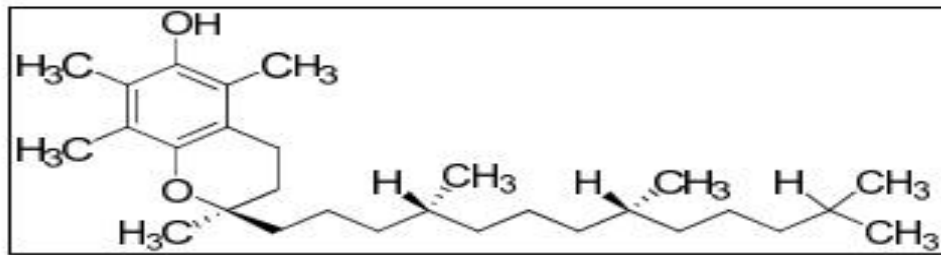


**Figure 14 :** Structure du glutathion (Belkheiri, 2010).

**III.3.1.2. Antioxydants exogènes**

- **Vitamine E (les tocophérols)**

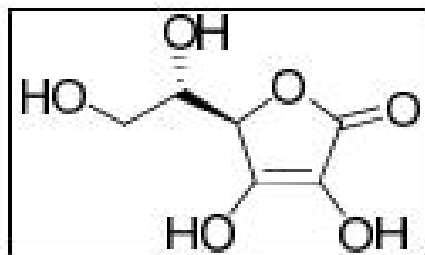
La vitamine E est une molécule antioxydante liposoluble qui joue un rôle protecteur des membranes biologiques en limitant la lipopéroxydation par la production d'un radical tocophéryle (Haleng *et al.*, 2007). La vitamine E possède quatre isomères dont la forme la plus active est l' $\alpha$ -tocophérol (Gulcin, 2012) (figure 15). Elle agit de deux manières dont l'une est directe en piégeant les ERO et l'autre étant indirecte en régulant les enzymes antioxydantes (Vertuani *et al.*, 2004).



**Figure 15:** Structure de la vitamine E (ou  $\alpha$ -tocophérol) (Belkheiri, 2010).

#### - Vitamine C (acide ascorbique)

C'est une molécule hydrosoluble présente dans les fluides physiologiques (Vertuani *et al.*, 2004). Cette vitamine agit en piégeant directement les ERO principalement le  $O_2^{\cdot -}$  et le  $OH^{\cdot}$ , ainsi elle permet de recycler  $\alpha$ -tocophérol dans le but de travailler en synergie avec la vitamine E dans la prévention de la peroxydation des lipides (Haleng *et al.*, 2007). La figure 16 illustre la structure de la Vitamine C.



**Figure 16 :** Structure de la vitamine C (Belkheiri, 2010).

#### - Caroténoïdes

Ils sont répandus dans les fruits et les légumes (Haleng *et al.*, 2007). Les caroténoïdes dont le  $\beta$ -carotène exerce un rôle efficace comme piègeur des  $OH^{\cdot}$ ,  $O_2^{\cdot -}$  et  $ROO^{\cdot}$  et en neutralisant  $1^1O_2$  (Valko *et al.*, 2006). L'activité antioxydante des caroténoïdes est liée à leur longue chaîne carbonée riche en double liaisons (Hadj Salem, 2009).

#### - Sélénium

C'est un oligo-élément qui joue un rôle important dans la protection de l'organisme des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. Le sélénium entre dans la structure de

plusieurs enzymes antioxydantes telles que la GPx (Bettger, 1993) permettant ainsi de préserver les cellules de l'oxydation par les radicaux libres.

### - **Zinc**

Le zinc est un oligo-élément qui rentre dans la structure du superoxyde dismutase et présente par ce fait une action antioxydante. Il permet de protéger l'oxydation des groupements SH des protéines et il intervient également dans la protection contre les altérations peroxydative et oxydatives, ajoutant à ça, en entrant en compétition avec le fer et le cuivre, il présente un effet antioxydant (Bettger, 1993).

### - **Antioxydants phénoliques**

La capacité antioxydante des polyphénols est associée à leurs caractéristiques structurales principalement le nombre et la position des groupements hydroxyles à cet effet, les flavonoïdes sont des puissants antioxydants (Zhang et Tsao, 2006). Les polyphénols préviennent les dommages oxydatifs par différents mécanismes basés sur un transfert d'électron et/ou de proton et la chélation des métaux de transition (Leopoldini *et al.*, 2011).

Beta et ses collaborateurs (2005) informent que les tannins condensés, les acides phénoliques et les flavonoïdes constituent les composés les plus importants dans les plantes médicinales. Les tannins permettent de piéger les radicaux libres et inactiver les ions pro-oxydants (Mayouf, 2019). Concernant les flavonoïdes, ils agissent sur les chaînes radicalaires par plusieurs mécanismes : par capture directe des radicaux libres, par chélation des métaux de transition indispensables pour la génération des ERO, comme donneurs d'hydrogène, par augmentation de la concentration de l'acide urique ou par inhibition d'enzymes pro-oxydantes telles que les oxydases (Carocho et Ferreira, 2013).

En effet, les flavonoïdes sont capables de restreindre l'oxydation des lipides par la diminution de la fluidité membranaire, limitant ainsi la diffusion des radicaux libres (Vertuani *et al.*, 2004).

#### IV. Etudes antérieures sur *Asphodelus microcarpus*

De nombreux travaux ont été menés sur les métabolites secondaires d'*A. microcarpus*, notamment les composés phénoliques qui sont impliqués dans leur propriétés antioxydante, antifongique, antibactérienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse.

##### IV.1. Extraction et dosage des polyphénols

L'extraction des polyphénols à partir des différentes parties d'*A. microcarpus* a été réalisée par Mayouf (2019) en utilisant deux solvants : le méthanol et l'eau. Les valeurs du rendement d'extraction sont rapportées dans le tableau III.

**Tableau III :** Rendement d'extraction des polyphénols à partir des différentes parties d'*A. microcarpus* (Mayouf, 2019).

Parties étudiées	Rendement (%)	
	Extraits méthanoliques	Extraits aqueux
Partie aérienne	7.49	3.88
Feuilles	13.45	17.32
Tige-fleurs	7.92	14.60
Racines	39.29	37.40

D'après ces résultats, les taux d'extraction les plus élevés ont été enregistrés dans l'extrait méthanolique (39.29 %) et aqueux (37.40%) des racines, suivis par l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles avec des taux de 17.32 et 13.45%, respectivement. Par ailleurs, Hosni et ses collaborateurs (2019) ont obtenu un rendement de l'ordre de 27.3% à partir des feuilles avec le méthanol comme solvant.

L'analyse quantitative des polyphénols exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g) et des flavonoïdes exprimée en mg d'équivalent rutine par g d'extrait (mg ER/g) contenus dans ces extraits est représentée dans le tableau IV.

**Tableau IV :** Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques et aqueux des différentes parties d'*A. microcarpus* (Mayouf, 2019).

Les parties de la plante	Extraits méthanoliques		Extraits aqueux	
	Polyphénols (mg EAG/g)	Flavonoïdes (mg ER/g)	Polyphénols (mg EAG/g)	Flavonoïdes (mg ER/g)
<b>Partie aérienne</b>	616 ± 0,01	35.13± 0,00	388 ±0,03	25.93 ± 0,00
<b>Tige-fleurs</b>	602.33 ± 0,07	29.75 ± 0,01	310± 0,03	7.6 ± 0,01
<b>Feuilles</b>	755.3 ± 0,04	42.2 ± 0,04	704 ± 0,04	13.8 ± 0,02
<b>Racines</b>	377 ± 0,03	15.37 ± 0,01	164 ± 0,02	11.2 ± 0,05

Les résultats ci-dessus indiquent que les extraits méthanoliques sont plus riches en polyphénols et flavonoïdes comparativement aux extraits aqueux, et que les teneurs les plus élevées sont obtenues dans les extraits des feuilles. Quant aux racines, celles-ci renferment les teneurs les plus faibles en ces composés.

Les travaux de Hosni *et al.* (2019) sur l'extrait méthanolique des feuilles ont noté des teneurs en polyphénols et flavonoïdes de l'ordre de 39.7 mg EAG/ g et 45 mg ER/g, respectivement. Di Petrillo et ses collaborateurs (2016) ont enregistré des valeurs de 35.48 ± 0.4 mg EAG/ g et 17.27 ± 1.28 mg ER/g, respectivement.

#### IV.2. Composés phénoliques identifiés

Il ressort de l'étude de Mayouf (2019) que les extraits méthanoliques de toutes les parties de la plante identifiés par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/MS/MS), renferment en commun 13 composés phénoliques dont 8 acides phénoliques (acide chlorogénique, acide caféique, acide férulique, acide hydroxybenzoïque, l'acide *p*-coumarique, acide rosmarinique, acide transinamylaldehyde et acide vanillique) et 5 flavonoïdes (apigénine, quercétine-3-O-galactoside, Myrtilline, lutéoléine et cyanine chloride) comme le montre le tableau V. Notant que l'acide chlorogénique, acide transinamylaldehyde, acide *p*-coumarique, lutéoléine et cyanine chloride sont les composés les plus répandus. Les autres composés (catéchol, acide synergique, quercétine, rutine, acide ellagique et acide gallique) sont, par contre, distribués au niveau des différentes parties de la plante à des teneurs variables.

L'analyse phytochimique réalisée par Hosni *et al.* (2019) a montré que l'extrait méthanolique des feuilles renferme majoritairement des anthracénosides, tannins flavaniques, polyphénols et flavonoïdes avec une faible présence d'alcaloïdes.

**Tableau V :** Concentrations des composés phénoliques identifiés dans les extraits méthanoliques d'*A. microcarpus* (Mayouf, 2019).

Composés phénoliques	Concentration en (µg/ml)			
	Tige-fleur	Racine	Partie aérienne	Feuille
Acide gallique	/	0.101	0.055	0.067
Acide chlorogénique	6.26	2.04	9.14	11.2
Catéchol	0.027	/	/	/
Acide vanilique	0.135	0.222	0.092	0.025
Acide hydroxybenzoïque	0.033	0.061	0.072	0.039
Acide synergique	0.095	/	/	/
Acide caféique	0.030	0.051	0.094	0.122
Rutine	/	0.036	/	0.023
Quercétine-3-O-galactoside	0.052	0.005	0.070	0.079
Myrtilline	0.020	0.004	0.009	0.010
Acide <i>p</i> -coumarique	0.510	0.172	0.569	1.17
Acide férulique	0.272	0.379	0.249	0.575
Acide rosmarinique	0.012	0.013	0.011	0.003
Acide transinamylaldehyde	1.03	0.051	0.759	0.605
Lutéoléine	2.14	0.085	1.73	1.690
Cyanine chloride	3.120	0.136	2.440	2.310
Quercetine	0.003	/	0.002	/
Acide ellagique	0.011	0.003	0.004	/
Apigénine	0.135	0.002	0.066	0.023

### IV.3. Activité antioxydante

Plusieurs études ont porté sur l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits d'*A. microcarpus* par piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). D'après les travaux de Mayouf (2019), le pouvoir le plus puissant est attribué aux extraits aqueux et méthanoliques des feuilles avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 98,66 µg/ml et de 33,33 µg/ml, respectivement. Cette activité inhibitrice pourrait être liée à la contenance de ces extraits en composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes qui sont responsables de l'effet piègeur des radicaux libres (Zhang et Tsao, 2016).

Selon Di Petrillo *et al.* (2016), les extraits éthanoliques des fleurs et feuilles expriment une meilleure activité antioxydante avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 28.4 ± 0.85 µg/ml et 55.9 ± 1.55 µg/ml, respectivement. L'étude menée par Kitaz (2017) a montré que l'extrait méthanolique des racines exprimait une activité antioxydante relativement faible vis-à-vis du DPPH avec une IC<sub>50</sub> de 300 µg/ml et ceci en comparaison à l'hydroxytoluène butylé (BHT) qui exprime une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 17 µg/ml.

D'après les travaux d'Aboul-Enein *et al.* (2012), l'extrait éthanolique d'*A. microcarpus* présente une activité anti-radicalaire plus importante que l'extrait aqueux avec des pourcentages d'inhibition de 60.3% et 49.5%, respectivement. L'extrait méthanolique des feuilles exprime une faible activité inhibitrice vis-à-vis DPPH avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 310 µg/ml (Hosni *et al.*, 2019).

### IV.4. Activité anticancéreuse

La propriété anticancéreuse des extraits bruts d'*A. microcarpus* a suscité beaucoup d'intérêts et parmi les travaux réalisés à cet égard figurent ceux de Hosni *et al.* (2019) rapportant un fort pouvoir anti-tumoral de l'extrait méthanolique des feuilles. En effet, des concentrations de 7.81 µg/ml semblent être efficaces pour inhiber la prolifération des cellules myéloïdes LMA.

Ghoneim *et al.* (2013) ont isolé des composés dont 10-(chrysophanol-7-yl)-10-hydroxychrysophanol-9-anthrone et la ramosine présentant un effet cytotoxique élevé contre les lignées leucémiques HL60 et K562. L'étude réalisée par Di Petrillo et ses collaborateurs (2017) a prouvé que l'extrait éthanolique des feuilles ne présentait aucun effet cytotoxique contre la lignée cellulaire de carcinome pulmonaire (A549) avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> supérieures à 100 µg/ml alors que l'extrait méthanolique exerçait une forte activité avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 29.3 µg/ml (El-Ghaly, 2017). Par ailleurs, selon Aboul-Enein *et al.* (2012), les extraits éthanoliques et aqueux de la plante d'*A. microcarpus* expriment une faible activité anticancéreuse.

### IV.5. Activité antibactérienne

Ghoneim *et al.* (2013) ont isolé 3 molécules majeures à partir de l'extrait éthanolique des tubercules d'*A. microcarpus* dont l'émodine, 10-(chrysophanol-7-yl)-10-hydroxychrysophanol-9-anthrone et aestivine qui sont dotées d'une forte activité contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) avec des teneurs de CMI de 6.6 µg/ml, 9.4 µg/ml et 1.4 µg/ml, respectivement. Tandis que, les composés émodine, aloesaponol-III-8-méthyléther et la ramosine exercent un bon effet inhibiteur vis -à-vis de *Staphylococcus aureus* avec des teneurs de CMI de 3.2 µg/ml, 7.3 µg/ml et 8.5 µg/ml, respectivement.

En outre, les études d'Al-Kayali *et al.* (2016) indiquent que les extraits méthanoliques des racines et des parties aériennes d'*A. mirocarpus* possédaient une activité antibactérienne relativement faible contre les SARM avec une valeur de CMI comprises entre 1250-5000 µg/ml. Les travaux de Di Petrillo et ses collaborateurs (2017) ont montré que l'extrait éthanolique des feuilles présentait une activité antibactérienne de même pouvoir contre *Bacillus clausii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* avec une concentration minimale inhibitrice de l'ordre de 250 µg/ml. Le même extrait exerce une faible activité vis -à-vis d'*Escherichia coli* (CMI=500 µg/ml). L'extrait méthanolique des feuilles exerce un pouvoir inhibiteur contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* SP. et *Escherichia coli* avec des CMI de 78 µg/ml, 156 µg/ml, 313 µg/ml et 125 µg/ml, respectivement (El-Ghaly, 2017).

### IV.6. Activité antifongique

Dans le but de vérifier la propriété antifongique de la plante d'*A. microcarpus*, de nombreux chercheurs ont procédé au fractionnement guidé par bio-essai de l'extrait éthanolique. Ce fractionnement a permis d'isoler un métabolite secondaire présentant une forte activité contre *Cryptococcus neoformans* avec une valeur de CMI= 15 µg/ml : il s'agit de 8-méthoxychrysophanol (Ghoneim *et al.*, 2013).

Aussi, les travaux d'Ali-Shtayeh et Abu Ghdeib (1999) ont montré que l'extrait aqueux des parties aériennes d'*A. microcarpus* possédait une faible activité antifongique contre *Trichophyton violaceum* (CMI = 25 µg/ml) mais aucune activité contre *Microsporum canis* et *Trichophyton mentagrophytes* n'a été constaté. L'extrait méthanolique des feuilles présente un effet contre *Aspergillus flavus* et *Candida albicans* avec des valeurs de CMI de l'ordre de 125 µg/ml et 78 µg/ml, respectivement (El-Ghaly, 2017).

### IV.7. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* par Mayouf (2019) est précédée par l'étude de la toxicité des extraits méthanoliques et aqueux d'*A. microcarpus* par l'administration orale d'une dose de 2000 mg/Kg. La survécu de toutes les souris et l'absence

d'éventuels signes cliniques permettent leur emploi en toute innocuité dans l'étude de deux modèles expérimentaux dont l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat et l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris.

Les résultats de l'étude ont montré que des doses de 100 mg/kg, 300 mg/kg et 500 mg/kg de ces extraits entraînent une atténuation remarquable de l'œdème de la patte dès la deuxième heure qui suit l'injection de la carragénine et persistaient jusqu'à la sixième heure. Selon Bodir u *et al.* (2009) cette propriété anti-inflammatoire est associée aux composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes qui sont susceptibles d'inhiber la libération de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines.

Le traitement des souris avec une dose de 500 mg/Kg de ces extraits obtenus à partir des différentes parties de la plante étudiée (feuilles, partie aérienne, tige-fleurs et racines) induit une réduction plus élevée de l'œdème de l'oreille avec des pourcentages d'inhibition atteignant 99, 98, 96 et 96%, respectivement pour les extraits méthanoliques et de 99, 98, 97 et 96% pour les extraits aqueux et ceci en comparaison avec l'aspirine utilisé comme anti-inflammatoire de référence (88,74%)(Mayouf, 2019).

**Conclusion**

La phytothérapie constitue une alternative aux substances chimiques présentant des effets indésirables. *Asphodelus microcarpus* est une des plantes médicinales qui trouve son application aussi bien dans le domaine industriel que dans le domaine médical.

La présente étude est centrée sur les travaux antérieurs portés sur la plante. En amont, les résultats des études portant sur le dosage des polyphénols et des flavonoïdes ont été enregistrés dans les extraits méthanoliques des feuilles avec les teneurs de (39.7 mg EAG/ g et 45 mg ER/g) (Hosni *et al.*, 2019) et de (755.3±0.04 mg EAG/g et 42, 2± 0.04 mg ER/g) (Mayouf, 2019), respectivement. Un fort pouvoir antioxydant a été mis en évidence dans les extraits éthanoliques des fleurs et feuilles avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 28.4 ± 0.85µg/ml et 55.9 ± 1.55 µg/ml, respectivement (Di Petrillo *et al.*, 2016). En outre, les travaux de Ghoneim *et al.* (2013) attribue à l'extrait éthanolique des tubercules d'*A. microcarpus* une forte activité contre *Staphylococcus aureus* avec des valeurs de CMI allant de 3.2 à 8.5 µg/ml. L'extrait éthanolique des racines présente aussi une bonne activité antifongique vis-à-vis *Cryptococcus neoformans* avec une CMI de 15 µg/ml. En revanche, le pouvoir antibactérien de l'extrait éthanolique des feuilles est restreint vis-à-vis *Bacillus clausii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Escherichia coli* (Di Petrillo *et al.*, 2017).

L'étude *in vivo* de la toxicité aiguë de la plante lui confère un caractère inoffensif à la dose 2 g/kg (Mayouf, 2019). En effet, les extraits aqueux et méthanoliques d'*A. microcarpus* possèdent un effet anti-inflammatoire considérable à partir de la dose 100 mg/kg pour les modèles examinés dont l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat et l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris, d'ailleurs le traitement des souris avec une dose de 500 mg/Kg, induit une réduction remarquable de l'œdème de l'oreille similaire à celle de l'Aspirine, utilisé comme anti-inflammatoire de référence (Mayouf, 2019). Par ailleurs, l'extrait méthanolique des feuilles révèle une importante activité anticancéreuse avec un seuil de 7.81 µg/ml sur les cellules myéloïdes LMA (Hosni *et al.*, 2019).

Ainsi, l'ensemble des études effectuées sur la plante attestent les propriétés biologiques et soutient son usage traditionnel. Toutefois, des études complémentaires sur la toxicité de la plante seraient nécessaires. La conception de nouveaux traitements à base d'*A. microcarpus* permettrait de surmonter les obstacles du domaine médical liés à l'indisponibilité de certains médicaments sur le marché et leur coût élevé qui ne permet pas aux certains gens d'avoir accès aux soins en plus de leurs nombreux effets indésirables qui nuisent la santé humaine.

# Références bibliographiques

### A

**Aboul-Enein A.M., El-Ela F.A., Shalaby E.A. et El-Shemy H.A. (2012).** Traditional medicinal plants research in Egypt: Studies of antioxidant and anticancer activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(5), 689-703.

**Achat S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat. Université Abderrahmane Mira, Bejaia, Algérie.

**Ali-Shtayeh M.S. et Abu Ghdeib S.I. (1999).** Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*, 42(11-12), 665-672.

**Al-Kayali R., Kitaz A. et Haroun M. (2016).** Antibacterial Activity of *Asphodelin lutea* and *Asphodelus microcarpus* Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Reaserch*, 8 (12), 1964-1968.

### B

**Belkheiri N. (2010).** Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse III- Paul Sabatier, Toulouse, France.

**Bensakhria A. (2018).** Le Stress Oxydatif ; in : « Toxicologie Générale ». p 70-86.

**Beta T., Nam S., Dexter J.E. et Sapirstein H.D. (2005).** Phenolics Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller- Milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82(4), 390-393.

**Bettger W.J. (1993).** Zinc and selenium, site-specific versus general antioxidation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 71(9), 721-724.

**Bodîrl u R., Spiridon I., Teac C.A., Anghel N., Ichim M., Colceru S. et Armatu A. (2009).** Anti-inflammatory constituents from different plant species. *Environmental Engineering and Management Journal*, 8 (4), 785-792.

**Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques & Documentation, 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Paris. 915 p.

**Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques & Documentation, 4<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Paris. 1269 p.

### C

**Camel V. (2000).** Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 19(4), 229-248.

**Carocho M. et Ferreira I. C.F.R. (2013).** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.

**Cendre A. (2010).** Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France.

**Chanforan C. (2010).** Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France.

**Chemat F. et Lucchesi M.E. (2005).** Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 20, 77-99.

**Cowan M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiological Reviews*, 12(4), 564 - 582.

**Crozier A., Clifford M.N. et Ashihara H. (2006).** Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview ; in : « Plant Secondary Metabolites : Occurrence, Structure Role in the Human Diet Phenols ». Blackwell Publishing. 1-24 p.

### D

**Di Petrillo A., Fais A., Pintus F., Santos- Buelga C., González- Paramas A.M., Piras V., Orru G., Mameli A., Tramontano E. et Frau A. (2017).** Broad-range potential of *Asphodelus microcarpus* leaves extract for drug development. *BMC Microbiolgy*, 17(1), 159.

**Di Petrillo A., González-Paramás A.M., Era B., Medda R., Pintus F., Santos-Buelga C. et Fais A. (2016).** Tyrosinase inhibition and antioxydant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16 (1), 453.

**Dupic L., Huet O., Harrois A. et Duranteau J. (2010).** Hypoxie et fonction mitochondriale. *Réanimation*, 19(5), 399-405.

### E

**El Alami A., Loubna F. et Chait A. (2016).** Etude ethnobotanique sur les plantes médicinales spontanées poussant dans le versant nord de l'Atlas d'Azilal (Maroc). *Algerian Journal of Natural Products*, 4(2), 271-282.

**El Bouhissi M., Mehdadi Z. et El Zerey W. (2014).** Contribution à l'étude de la biodiversité floristique dans un écosystème montagneux Cas de versant sud de monts de Tessala (Algérie occidentale). *Mediterránea Serie de Estudios Biológicos*, 25, 53- 89.

**El- Seedi H.R. (2007).** Antimicrobial arylcoumarins from *Asphodelus microcarpus*. *Journal of Natural Products*, 70 (1), 118-120.

**El-Ghaly E-S.M. (2017).** Phytochemical and biological activities of *Asphodelus microcarpus* leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (2), 259-264.

**Erdman W.J., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts J., Harnly J., Hollman P., Keen C.L., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J. (2007).** Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC<sup>1-4</sup>. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 718S-737S.

### F

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 270, 108-115.

**Fontaine E. (2007).** Radicaux libres ; in : « Traité De Nutrition Artificielle De L'adulte ». Springer-Verlag France. p 251 - 257.

### G

**Garagalza O. (2013).** Polymérisation radicalaire en continu dans un système millifluidique assistée par micro-ondes. Thèse de Doctorat. Université de PAU et des Pays de l'Adour, France.

**Ghaleb G.M. (1987).** Les plantes dans la médecine traditionnelle Maghrébine. Dip. Etudes Comp. *De phytothérapie, Tunis*. p 8-78.

**Ghoneim M.M., Ma G., El-Hela A.A., Mohammad A.E.I., Kottob S., El-Ghaly S., Cutler S.J. et Ross S.A. (2013).** Biologically Active Secondary Metabolites from *Asphodelus microcarpus*. *Natural Product Communications*, 8(8), 1117-1119.

**Guillouty A. (2016).** Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de Doctorat. Université Toulouse III- Paul Sabatier, Toulouse, France.

**Gulcin I. (2012).** Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.

### H

- Hadj Salem J. (2009).** Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, Nancy, France.
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. et Chapelle J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62 (10), 628- 638.
- Halliwell B. et Whiteman M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231-255.
- Hammouda F.M., Rizk A.M., Ghaleb H. et Abdel-Gawad M.M. (1972).** Chemical and Pharmacological Studies of *Asphodelus microcarpus*. *Planta Medica*, 22(6), 188-195.
- Hecini L. et Achour S. (2008).** Elimination des composés organiques phénoliques par coagulation-floculation au sulfate d'aluminium. *Larhyss Journal*, 7, 47-57.
- Hosni H., Salama A., Abudunia A., Cherrah Y., Ibrahim A. et Alaoui K. (2019).** Toxicité aigüe, cytotoxicité et effet antiradicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles de l'asphodèle, *Asphodelus microcarpus*. *Phytothérapie*, 1-8.
- Hossain M.A., Lee S.J., Park N.H., Mechesso A.F., Birhanu B.T., Kang J.W., Reza M.A., Suh J.W. et Park S.C. (2017).** Impact of phenolic compounds in the acyl homoserine lactone- mediated quorum sensing regulatory pathways. *Scientific Reports*, 7 (1):10618.

### J

- Jain P.K. et Joshi H. (2012).** Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2 (6), 236-240.
- Jawad A. et Langrish T.A.G. (2012).** Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction. *Journal of Food Engineering*, 109(1), 162-174.

### K

- Kada S. (2018).** Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- Kamra D.N., Agarwal N. et Chaudhary L.C. (2006).** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*, 1293, 156-163.

**Kärkäs M.D., Matsuura B.S., Monos T.M., Magallanes G. et Stephenson C.R.J. (2016).** Transition-metal catalyzed valorization of lignin: the key to a sustainable carbon-neutral future. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 14(6), 1853-1914.

**Khoddami A., Wilkes M.A. et Roberts T.H. (2013).** Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.

**Kitaz A. (2017).** Comparison of the Total Phenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Methanolic Roots Extracts of *Asphodelus microcarpus* and *Asphodeline lutea* Growing in Syria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(2), 159-164.

### L

**Lafay S. et Gil-Izquierdo A. (2008).** Bioavailability of phenolic acids. *Pytochemistry Reviews*, 7(2), 301-311.

**Leopoldini M., Russo N. et Toscano M. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.

**Li K., Geng X., Simonsen J. et Karchesy J. (2004).** Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethylenimine. *International Journal of Adhesion & Adhesives*, 24 (4), 327-333.

**Lloyd M.M., Grima M.A., Rayner B.S., Hadfield K.A., Davies M.J. et Hawkins C.L. (2013).** Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants hypochlorous acid and hypothiocyanous acid with human coronary artery endothelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 1352-1362.

**Loi M.C., Maxia L. et Maxia A. (2005).** Ethnobotanical Comparison Between the Villages of Escolca an Lotzorai (Sardinia, Italy). *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 11(3), 67-84.

**Long H.S., Tilney P.M. et Van Wyk B.-E. (2010).** The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). *South African Journal of Botany*, 76 (2), 324-331.

**Luque-Garcia J. L. et Luque de Castro M. D. (2003).** Ultrasound: A powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(1), 41-47.

### M

**Macáková K., Koleká V., Cahlíková L., Chlebek J., Hošálková A., Kušák K., Jun D. et Opletal L. (2014).** Tannins and their Influence on Health. *Recent Advances in Medicinal Chemistry*, 1, 159-208.

**Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay – Allemand C. (2005).** Les Composés Phénoliques des Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires D'importance Economique. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.192 p.

**Macheix J.J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P. (2006).** Composés Phénoliques dans la Plante-Structure, Biosynthèse, Répartition et Rôles ; in : « Les Polyphénols en Agroalimentaire ». Techniques & Documentation, Lavoisier, Paris. 1-27 p.

**Malmir M., Serrano R., Caniça M., Silva-Lima B. et Silva O. (2018).** A Comprehensive Review on the Medicinal Plants from the Genus *Asphodelus*. *Plants*, 7(1), 20.

**Mandal V., Mohan Y. et Hemalatha S. (2007).** Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1), 7-18.

**Mayouf N. (2019).** Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d'*Asphodelus microcarpus*. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.

**Mghezzi Habellah R., Karoune S., Kechebar M.S.A. et Bounab H. (2016).** Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'*Acacia ehrenbergiana* de la région de Tindouf. *Journal Algérien des Régions Arides*, 13, 27-34.

**Michel T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Université d'Orléans, Orléans, France.

**Migdal C. et Serres M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Medecine / sciences*, 27(4), 405-412.

## P

**Papuc C., Goran G.V., Predescu C.N., Nicorescu V. et Stefan G. (2017).** Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (6), 1243 - 1268.

**Pingret D. (2012).** Application of ultrasounds for transformation processes of agroalimentary products. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France.

**Pradal D. (2016).** Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire. Thèse de Doctorat. Université de Lille 1, Lille, France.

### R

**Rahman K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219-236.

**Razik A., Adly F., Lahlou F.A., Hmimid F., Fahde S., Moussaid M., Elamrani A.A., Bourhim N. et Loutfi M. (2016).** Antioxidant anti-inflammatory and antibacterial activities of *Asphodelus microcarpus*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(9), 666-673.

**Rizk A.M. et Hammouda F.M. (1970).** Phytochemical Studies of *Asphodelus microcarpus* (Lipids and Carbohydrates). *Planta Medica*, 18 (2), 168-172.

### S

**Sarri M., Mouyet F.Z., Benziane M. et Cheriet A. (2014).** Traditional use of medicinal plants in a city at steppic character (M'sila, Algeria). *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2(2), 31-35.

**Seifried H.E., Anderson D.E., Fisher E.I. et Milner J.A. (2007).** A review of the interaction among dietary antioxydants and reactive oxygen species. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(9), 567-579.

**Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris. 384 p.

**Sparr Eskilsson C. et Björklund E. (2000).** Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902(1), 227-250.

**Stocker R. et Keaney Jr J.F. (2004).** Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiological Reviews*, 84(4), 1381-1478.

### V

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

**Vertuani S., Angusti A. et Manfredini S. (2004).** The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 10(14), 1677-1694.

### W

**Wang L. et Weller C.L. (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.

### Z

**Zaoui A. (2014).** Contribution à l'étude du genre *Asphodelus* dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master. Université Abou bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

**Zbadi R., Mohti H. et Moussaoui F. (2018).** Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine translationnelle*, 24(2), 134-141.

**Zellagui A., Gherraf N. et Rhouati S. (2013).** A Germacrene –D, characteristic essential oil from *A. microcarpus* Salzm and Viv. flowers growing in Algeria. *Global Journal Of Biodiversity Science And Management*, 3(1), 108-110.

**Zhang H. et Tsao R. (2016).** Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.