

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère d'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel

Faculté des Sciences de Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Biochimie

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des
extraits des fleurs d'*Urginea maritima***

Membres de Jury

Présidente: Dr LAHOUEL Asma
Examinatrice: M^{me} CHERBAL Asma
Encadreur: M^{me} REZZAGUI Abir

Présenté par :

BOUHADJEB Aziza
BOUZAOUT Selma

Années Universitaire : 2017-2018

Numéro d'ordre :

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU tout puissant de nous avoir donnés le courage et la volonté de terminer ce travail.

*Merci infiniment à notre encadreur **M^{me} REZZAGUI Abir** qui nous dirigées avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'elle nous a consacré et sans elle ce mémoire n'aurait jamais vue le jour.*

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche :

*Au Docteur **LAHOUEL Asma**, qui nous fait l'honneur de présider ce jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*A Madame **CHERBAL Asma**, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire. Qu'elle soit assurée de notre respectueuse et très sincère gratitude.*

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire de Biochimie.

Nous tenons à remercier tous les enseignants du département de la biologie moléculaire et cellulaire.

Une pensée particulière pour l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude et à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici notre sincère et profonde gratitude.

Nous tenons aussi à remercier tous nos collègues de la promotion 2017-2018 et nous leur souhaitons beaucoup de réussite.

Dédicace

*Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir accordé la force, la santé et les moyens
de pouvoir accomplir ce modeste travail.*

Je dédie ce travail à toutes les personnes que j'aime :

*Mes très chers parents à qui je dois le mérite d'être arrivée là, qu'ils trouvent ici l'expression
de ma profonde gratitude et mon affection.*

Mon très cher fiancé Bahae Eddine.

Mes très chers frères Mohamed, Ahcene, Fares.

Mes très chères sœurs Karima et Wissam.

Toute ma famille et les amis(es)

Ma binôme, ma copine Selma et toute sa famille

Toute la promotion Biochimie 2017/2018.

Aziza

Dédicace

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'accorder son soutien durant les périodes les plus difficiles.

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude A mes parents qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie qui m'ont apportés leurs appuis durant toutes mes années d'études, pour leurs sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

A mon très cher frère Fathi

A mes très chers sœurs Marwa, Wissam et ses petits-enfants Sara et Mohammed.

A toutes la famille cousins et oncles

A tous mes amis (es)

A ma binôme Aziza et toute sa famille

A toute la promotion Biochimie 2017/2018.

Selma

Liste des abréviations

A : absorbance
AG : acide gallique
ANOVA : analyse de variance
AT: acide tannique
BHT: butylated hydroxy toluene
CAT: catalase
DPPH: 2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyl
EAG: équivalent acide gallique
EAq: extrait aqueux
EAT : équivalent acide tannique
EC₅₀ : concentration effectrice de 50%
EEt : extrait éthanolique
EQ: équivalent quercetine
GPx : glutathions peroxydases
GR : glutathion réductase
GSH : glutathion réduit
GSSG : glutathion oxydé
HM : hémolyse
IC₅₀ : concentration inhibitrice de 50%
mg: milligramme
PBS : phosphate buffer saline
Q: quercetine
RNS: reactive nitrogen species
ROS: reactive oxygen species
RS: reactive species
SOD : superoxyde dismutase
t-BHP : tert-butyl hydroperoxyde
TCA : acide trichloracétique
TCE : teneur en composés extractibles
Vit C : vitamine C

Liste des figures

Figure 01	Les origines du stress oxydant	04
Figure 02	Les origine des différents radicaux libre et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	05
Figure 03	Le mécanisme de détoxification enzymatique	10
Figure 04	Les principales classes des acides phénoliques	14
Figure 05	Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 06	Les principales classes des flavonoïdes	15
Figure 07	Structure chimique d'un tanin hydrolysable	16
Figure 08	Structure chimique d'un tanin condensé	16
Figure 09	Activités biologiques des polyphénols	17
Figure 10	Les différentes parties de l'espèce <i>Urginea maritima</i>	20
Figure 11	Teneur en polyphénols totaux, en tannins et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanolique d' <i>Urginea maritima</i>	34
Figure 12	Effet piègeur des différentes concentrations des extraits ; (A): EAq et (B): EEt des fleurs d' <i>Urginea maritima</i> , d'acide gallique et du BHT envers le radical DPPH	36
Figure 13	Activité anti-radicalaire des extraits d' <i>Urginea maritima</i> , d'acide gallique et du BHT envers le radical DPPH exprimée en IC ₅₀	37
Figure 14	Structure chimique du radical DPPH' et de sa forme réduite.	38
Figure 15	Pouvoir réducteur des différentes concertations des extraits (A) : EAq, (B) : EEt, de la Vit C et du BHT à 700 nm	39
Figure 16	Pouvoir réducteur des extraits EAq et EEt d' <i>Urginea maritima</i> , la Vit C et de BHT, exprimé en concentration effectrice lorsque l'absorbance égale à 0,5.	40
Figure 17	L'activité antioxydante des extraits des fleurs d' <i>Urginea maritima</i> , du BHT et des contrôles négatifs dans le test du blanchissement de β -carotène	41
Figure 18	Pourcentage d'inhibition du blanchissement de β -carotène après 24 heures par les extraits d' <i>Urginea maritima</i> , le BHT et les contrôles négatifs	42
Figure 19	Effet anti-hémolytique des extraits EAq et EEt d' <i>Urginea maritima</i> sur l'hémolyse oxydative induite par le t-BHP (500 μ M) exprimé en pourcentage d'hémolyse	44

Liste des tableaux

Tableau 01	Les principaux ROS et RNS générées dans les systèmes biologiques	06
Tableau 02	Les deux types des espèces réactives (RS)	07
Tableau 03	Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée	08
Tableau 04	Teneur en composés extractibles (TCE), ou rendement d'extraction des fleurs d' <i>Urginea maritima</i> L.	30
Tableau 05	Teneur en polyphénols totaux (TPT) dans les différents extraits des fleurs d' <i>Urginea maritima</i> L.	32
Tableau 06	Teneur en flavonoïdes et en tannins dans les différents extraits des fleurs d' <i>Urginea maritima</i> L.	32
Tableau 07	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse exercé par les extraits EAq et EEt d' <i>Urginea maritima</i> , Vit C induit par t-BHP (500µM).	45

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le stress oxydant	4
1.1. Les espèces réactives (RS).....	4
1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS)	5
1.1.2. Les classes des espèces réactives	6
1.1.3. Les sources des RS	7
1.1.4. Les cibles des ROS : les marqueurs biologiques du stress oxydant.....	7
1.1.5. Le stress oxydant et les pathologies	8
1.2. Les systèmes de défense antioxydante.....	8
1.2.1. Les systèmes enzymatiques	9
1.2.1.1. La superoxyde dismutase (SOD).....	9
1.2.1.2. La catalase (CAT)	9
1.2.1.3. Les Glutathions peroxydases (GPx).....	9
1.2.1.4. La Glutathion réductase (GR)	10
1.2.2. Les systèmes non enzymatiques	10
1.2.2.1. Les antioxydants endogènes.....	10
1.2.2.2. Les antioxydants exogènes.....	11
2. Les composés phénoliques (Polyphénols).....	13
2.1. Définition	13
2.2. Les classes principales des polyphénols	13
2.2.1. Les acides phénoliques.....	13
2.2.2. Les flavonoïdes	14
2.2.3. Les taninns.....	15
2.3. Les propriétés biologiques des polyphénols	17
2.4. Activité antioxydante des polyphénols	17
3. <i>Urginea maritima</i> L. Baker.	18
3.1. Noms vernaculaires.....	18
3.2. Classification systématique.....	19
3.3. Description botanique et distribution.....	19
3.4. Utilisations d' <i>Urginea maritima</i>	20
3.4.1. Utilisations en médecine traditionnelle	20
3.4.2. Utilisations en agriculture	20

3.5. Données phytochimiques	21
3.6. Données pharmacologiques et toxicologiques	21

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel	23
1.1. Matériel végétal	23
1.2. Produits chimiques.....	23
2. Méthodes	23
2.1. Extraction.....	23
2.1.1. Préparation de l'extrait éthanolique	23
2.1.2. Préparation de l'extrait aqueux	24
2.2. Dosage des composés phénoliques	24
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux	24
2.2.2. Dosage des flavonoïdes	25
2.2.3. Dosage des tannins	25
2.3. Évaluation de l'activité antioxydante	26
2.3.1. Test de DPPH	26
2.3.2. Blanchissement du β -carotène.....	27
2.3.4. Inhibition de l'hémolyse oxydative des érythrocytes induite par le t-BHP	27
2.4. Analyses statistiques	28

RESULATS ET DISCUSSION

1. Extraction des fleurs d' <i>Urginea maritima</i>	30
2. Teneur des extraits en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins.....	31
2.1. Teneur en polyphénols	31
2.2. Teneur en flavonoïdes et en tannins	32
3. Activité antioxydante des extraits d' <i>Urginea maritima</i>	34
3.1. Effet piègeur envers le radical DPPH	34
3.2. Pouvoir réducteur.....	38
3.3. Test du blanchissement de β -carotène	40
3.4. Activité anti-hémolytique (<i>in vitro</i>)	42
Conclusion.....	46
Références bibliographiques	48

Introduction

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour les organismes vivant en aérobiose, parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. En fait, une partie de cet oxygène (environ 1 à 2 %) peut capter un électron conduisant à la formation des espèces partiellement réduites appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Baudin, 2006).

Les ROS et les radicaux libres sont impliqués dans des processus physiologiques comme la chaîne respiratoire, la défense immunitaire, etc. mais toujours à des faibles quantités. Cependant, l'excès de la production des ROS peut devenir toxique pour la cellule, et donne lieu au stress oxydatif qui sera impliqué dans diverses pathologies tels que les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, les cancers, les maladies inflammatoires, le vieillissement, etc. (Lehucher-Michel et *al.*, 2001).

L'organisme utilise les antioxydants pour réduire les ROS, mais, sous certaines conditions, ces systèmes antioxydants ne peuvent pas fonctionner efficacement et nécessite donc une supplémentation en antioxydants exogènes alimentaires naturels comme les polyphénols, et vitamines pour équilibrer la balance entre les ROS et les antioxydants et donc prévenir l'apparition des différentes pathologies liées aux stress oxydant.

A nos jours, l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de diverses maladies devient florissante. Ce retour est le seul refuge et la bonne solution *vis-à-vis* la diminution de l'efficacité des médicaments en plus de leurs effets secondaires inquiétants (Kamatou, 2006). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a signalé que les plantes médicinales seraient la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments efficaces et moins nocifs.

De nombreuses études ont été menées pour prouver l'efficacité des ressources naturelles de médication. Un nombre énorme de plantes ont donc été exploitée en raison de leurs propriétés thérapeutiques dus essentiellement à leurs richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, etc. (Tawfeeq et Akrayi, 2012).

Parmi ces métabolites, les composés phénoliques qui sont abondants et distribués dans la majorité des différentes parties des plantes, présentent un large spectre d'activités biologiques; antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, anti-allergène, antithrombotiques, cardio-protectrices et vasodilatatrices (Balasundram et *al.*, 2006). En effet, ces métabolites et grâce à

la mobilité de l'hydrogène phénolique, permettraient à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène et les pathologies associées, ce qui suscite un intérêt grandissant pour la prévention et le traitement des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes (Montagnier et *al.*, 1998), les cancers (Weiguang et *al.*, 2005), les maladies inflammatoires (Aruoma, 1994), cardiovasculaires (Scalbert et Williamson, 2000 ; Leifert et Abeywardena, 2008) et neurodégénératives (Ramassamy, 2006).

La présente étude a été entreprise afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des fleurs d'*Urginea maritima* de la région de Mila et qui est l'un des genres médicinaux les plus importants de la famille des Liliacées.

Donc, notre travail est basé sur les objectifs suivants:

- Préparation des extraits éthanolique et aqueux des fleurs d'*Urginea maritima*.
- Evaluation de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins.
- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Urginea maritima* in vitro par l'utilisation de plusieurs tests complémentaires les uns aux autres : le test de DPPH, le blanchissement du β -carotène, le test du pouvoir réducteur et l'activité anti-hémolytique.

Etude bibliographique

1. Le stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes producteurs des espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène et les systèmes de défense antioxydants, en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels cellulaires irréversibles (Durackova, 2008).

Ce déséquilibre entre oxydants/antioxydants peut avoir diverses origines : mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et habitudes de vie inadéquates (tabagisme, consommation excessive d'alcool,...etc.), comme il peut être à l'origine de certaines maladies (**Figure 01**) (Pincemail et *al.*, 1999).

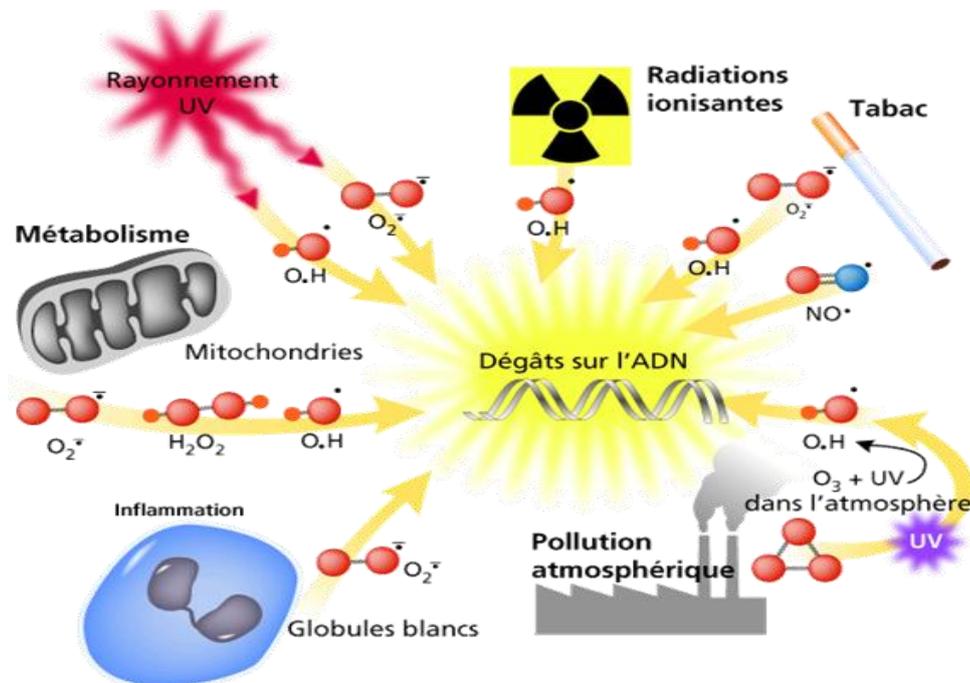


Figure 01. Les origines du stress oxydant (Durackova, 2008).

1.1. Les espèces réactives (RS)

Les espèces réactives (RS) sont souvent des radicaux libres qui sont des espèces moléculaires (atomes, molécules et ions) possédant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataire). Ce caractère chimique confère souvent à ces molécules, une grande instabilité, une durée de vie très courte (10^{-4} à 10^{-6} secondes) et une grande réactivité chimique (Aurousseau, 2002 ; Weidinger et Kozlov, 2015).

Elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés dans un processus le plus souvent non spécifiques et vont alors tenter de récupérer des électrons sur d'autres molécules comme les substrats biologiques, en les oxydant (Halliwell, 2001 ; Halliwell, 2007).

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives: les espèces réactives de l'oxygène ROS (Reactive Oxygen Species) et les espèces réactives d'azote RNS (Reactive Nitrogen Species) (Wu et al., 2013).

1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS)

Les espèces réactives de l'oxygène sont des dérivés de l'oxygène où certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité et très réactionnel (**tableau 01, figure 02**). Ils représentent la classe la plus importante des espèces réactives générées dans les organismes vivants et la cause majeure du stress oxydatif dans ces derniers (Valko et al., 2007).

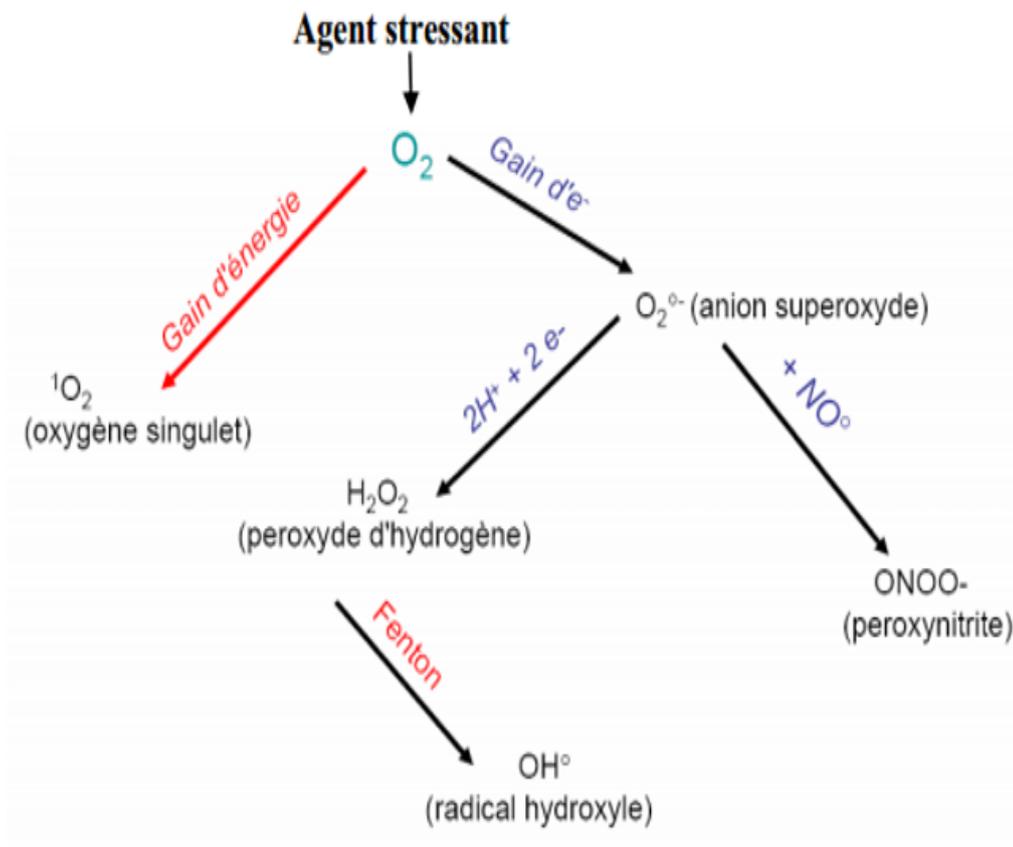


Figure 02. Les origine des différents radicaux libre et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2007).

Tableau 01. Les principaux ROS et RNS générées dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003).

Type	Nom	Symbole
Espèces réactives de l'oxygène (ROS)	Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$
	Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
	Radical alcoxy	RO^{\cdot}
	Peroxyde d'hydrogène	H^2O^2
	Acide hypochlorique	$HOCl$
	Oxygène singulet	${}_1O^2$
	Radical peroxy	ROO^-
Espèces réactives de l'azote (RNS)	Peroxynitrite	$ONOO^-$
	Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}

1.1.2. Les classes des espèces réactives

1.1.2.1 Les espèces radicalaires

Elles sont soit des radicaux libres ou des métaux de transition qui acceptent des électrons uniques. Leur nature radicalaire est perdue quand ils réagissent avec une molécule non radicalaire, mais ils génèrent un substrat radicalaire et une réaction en chaîne peut ainsi être déclenchée. Ces radicaux libres sont de plus en plus impliqués dans les maladies humaines (Rao et *al.*, 2011).

1.1.2.1 Les espèces non radicalaires

Ce sont des espèces non radicalaires qui acceptent deux électrons pour donner des produits non radicalaires. Ils peuvent être convertis en radicaux par réaction avec un métal de transition (Winterbourn, 2015). Les différentes espèces radicalaires et non radicalaires sont regroupées dans le **tableau 02**.

Tableau 02. Les deux types des espèces réactives (RS) (Rao et *al.*, 2011).

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

1.1.3. Les sources des RS

1.1.3.1. Les sources endogènes

Les sources endogènes sont intracellulaires, où les RS sont produites à partir de l'auto-oxydation ou l'inactivation de petites molécules. Les sites de génération des RS englobent tous les constituants cellulaires, y compris les mitochondries, les lysosomes, les peroxysomes, le réticulum endoplasmique, le plasma, la membrane et autres sites dans le cytosol (Machlin et Bendich, 1987).

1.1.3.2. Les sources exogènes

Les sources exogènes des radicaux libres sont la fumée de tabac, certains polluants, les solvants organiques, les produits anesthésiques et les pesticides. En dehors de ça, la transformation de certains médicaments peut générer des radicaux libres intermédiaires provoquant également des dommages oxydatifs dans les tissus cibles. Aussi, l'exposition aux rayonnements (UV) peut engendrer la formation des radicaux libres dans les tissus cibles (Rao et *al.*, 2011).

1.1.4. Les cibles des ROS : les marqueurs biologiques du stress oxydant

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides. La mise en évidence des dérivés de l'oxydation de ces différents substrats seront donc des marqueurs de la présence d'un stress oxydant (Cano, 2007). Les différentes cibles des ROS et leurs produits d'oxydation sont illustrés dans le **tableau 03**.

Tableau 03. Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée (Cano, 2007).

Cible	Produits	Exemples
Protéines	Protéines oxydées	Groupes carbonyle, tyrosine hydroxylée
ADN	ADN oxydé	8-hydroxy-2-déoxyguanosine
Lipides	Lipides peroxydés	Malondialdéhyde (MDA), isoprostanes

1.1.5. Le stress oxydant et les pathologies

Le stress oxydant est potentiellement impliqué dans de nombreuses maladies comme facteur déclenchant, ou associé à des complications lors de leur évolution. Il est impliqué dans le développement des maladies comme le cancer, les maladies neurodégénératives et le vieillissement accéléré. Il est admis que le stress oxydant est un facteur potentialisant de l'apparition des maladies multifactorielles comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, et la maladie d'Alzheimer (Montagnier et *al.*, 1998).

1.2. Les systèmes de défense antioxydante

Les antioxydants représentent un large groupe de composés qui constituent la première ligne de défense contre les dommages induits par les radicaux libres. Un antioxydant est défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher significativement l'oxydation de ces substrats par chélation des radicaux libres (Favier, 1997). Les antioxydants sont des molécules qui peuvent donner des électrons et / ou des atomes d'hydrogène aux oxydants, ainsi arrêter les réactions en chaîne et par ce fait ils vont réduire le stress oxydatif et leur paramètres de dommages cellulaires (Wang et *al.*, 2013 ; Siti et *al.*, 2015).

Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (Favier, 1997).

1.2.1. Les systèmes enzymatiques

L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Parfois ces enzymes nécessitent des oligo-éléments (Cu, Zn, Mn, Se, Fe) comme cofacteurs pour pouvoir exercer leur activité enzymatique (Auberval, 2010). Les enzymes principales sont les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT), les Glutathion peroxydases (GPx) et les Glutathion réductases (GSR) (Vincent et *al.*, 2004).

1.2.1.1. La superoxyde dismutase (SOD)

La SOD est l'une des plus importantes enzymes cellulaires possédant une fonction antioxydante. Cette métallo-enzyme est classée en trois catégories qui se différencient par leur localisation cellulaire et leur cofacteur métallique : la SOD cytosolique (Cu- et Zn-dépendante), la SOD mitochondriale (Mn-dépendante) et la SOD extracellulaire. Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase (Maurya et *al.*, 2016). L'absence de cette enzyme peut être létale (Baudin, 2006). La réaction faisant intervenir la SOD est la suivante :



1.2.1.2. La catalase (CAT)

La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H_2O_2 (généralement produit par la SOD) (Al-Gubory et *al.*, 2010). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie. La réaction de détoxification se déroule comme le suivant :

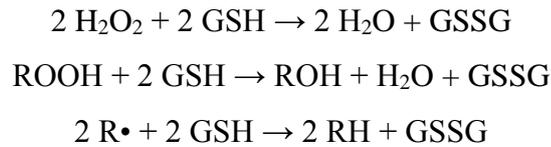


1.2.1.3. Les Glutathions peroxydases (GPx)

Les Glutathions peroxydases (GPx) constituent une famille d'enzymes divisée en deux groupes, GPx sélénium (Se)-indépendantes et GPx (Se)-dépendantes (Al-Gubory et *al.*, 2010). Elles sont présentes dans les liquides extracellulaires (sang) et dans les cellules au niveau du cytoplasme et des membranes.

Les GPx catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O), des hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools (ROH) et des espèces radicalaires en espèces

non radicalaires, grâce à la présence du glutathion réduit (GSH), selon les mécanismes suivants (Auberval, 2010):



1.2.1.4. La Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase, localisée également dans le cytosol et dans les mitochondries est essentiel dans le cycle redox du glutathion, elle catalyse la réduction de la forme oxydée de glutathion (GSSG) en glutathion réduit (GSH) à l'aide du cofacteur NADPH sous forme réduite (NADPH, H⁺). En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est donc nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (Baratli, 2015).

L'ensemble des mécanismes faisant intervenir les enzymes antioxydantes est montré dans la **figure 03**.

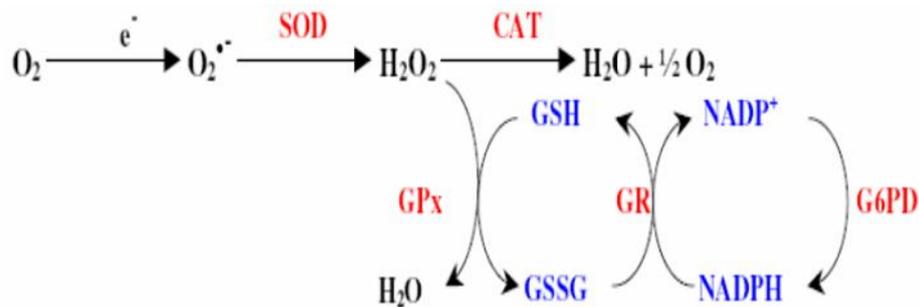


Figure 03. Le mécanisme de détoxification enzymatique (Piquet et Herbuterne, 2007)

1.2.2. Les systèmes non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, ce système fait appel à des molécules non enzymatiques. Il se divise en antioxydants endogènes et exogènes (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

1.2.2.1. Les antioxydants endogènes

a) Le Glutathion réduit (GSH)

Le GSH est le principal antioxydant endogène produit par les cellules; participe directement à la neutralisation des ROS, et au maintien des antioxydants exogènes, tels que les vitamines C

et E, sous leurs formes réduites. Il réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique (Rajendran et *al.*, 2014).

b) L'acide lipoïque

Les deux formes, oxydée et réduite de l'acide lipoïque ; appartenant aux thiols, présentent des propriétés antioxydantes *in vitro* en piégeant les HO[•], RO₂[•], HOCl et ¹O². En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de les désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes (Panfili et *al.*, 2003 ; Smith et *al.*, 2004).

c) L'acide urique

L'acide urique est un piègeur efficace de l'oxygène singulet O₂^{•-}, des radicaux peroxydes et hydroxydes (RO₂[•] et HO[•]), ainsi il protège la membrane érythrocytaire de la peroxydation lipidique. La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO[•] (Bouguerne, 2012).

d) Les protéines de stockage des métaux de transition

Les protéines liant les métaux (transferrine, céruloplasmine, etc.), l'albumine ou l'haptoglobine diminuent le taux des ions métalliques libres en les complexant avec en conséquence, une diminution de leur pouvoir oxydant. A titre d'exemple, la réaction de Fenton entre le fer (ou le cuivre) et l'eau oxygénée ne se fait pas en absence du métal (Baratli, 2015).

1.2.2.2. Les antioxydants exogènes

a) La vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant non enzymatique. Elle neutralise les radicaux libres par le captage des électrons, ensuite empêche la propagation de la chaîne de réactions de peroxydation lipidique grâce à son caractère hydrophobe. Son effet antioxydant s'exprime par la réaction suivante :



Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique (Bationo et *al.*, 2015).

b) La vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) est l'un des antioxydants exogènes hydrosolubles les plus répandus (Spector et Johanson, 2014). Elle est un bon scavenger des RS dans les milieux biologiques et elle empêche la dégradation oxydative des biomolécules essentielles (Sung et *al.*, 2013). Majoritairement, elle capte l'anion superoxyde (O₂^{•-}) et le radical hydroxyl (OH[•]) par la réaction suivante :



Elle peut également régénérer l' α -tocophérol en protégeant donc divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation (Bationo et *al.*, 2015).

c) Les caroténoïdes

Ils sont majoritairement représentés par le β -carotène, appelée aussi « pro-vitamine A ». La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singlet et ainsi empêchent l'oxydation de plusieurs substrats comme les acides gras polyinsaturés (Pisoschi et Pop, 2015).

d) Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant, où ils jouent le rôle d'un cofacteur pour les enzymes antioxydantes qui les nécessitent pour maintenir leur activité catalytique. Cependant, certains oligo-éléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, ils peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton et d'Haber-Weiss) (Baratli, 2015).

e) Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées par les végétaux supérieurs par diverses voies (Makhloufi, 2013). Ils jouent des différents rôles, notamment dans la défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante (Levasseur-Garcia et *al.*, 2013).

Les métabolites secondaires sont très nombreux et d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Les polyphénols, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires dont chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés. Ces derniers possèdent une large gamme d'activité biologique et pharmacologique : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse (Ali *et al.*, 2001; Epifano *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2007).

2. Les composés phénoliques (Polyphénols)

2.1. Définition

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus chez les plantes et forment le groupe des composés phytochimiques le plus important. Ainsi ils contribuent à la couleur et au goût des fruits et végétaux (Manolaraki, 2011).

La structure de base qui les caractérise est la présence d'un ou de plusieurs noyaux aromatiques auxquels sont directement liés un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction (éther, ester). Ils vont de simples molécules phénoliques à des composés hautement polymérisés (Molino *et al.*, 2016).

Les polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories: les acides phénoliques ; les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols; les tannins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes; les coumarines ; les lignanes et d'autres classes en nombres considérables. Ils sont classés selon la présence des différents substituants sur les noyaux et selon leur degré de saturation (Makhloufi 2013). Les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins sont considérés comme les principaux composés phénoliques (Balasundram *et al.*, 2006).

2.2. Les classes principales des polyphénols

2.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement distribués dans les fruits, les tiges et les feuilles des légumes (Andrade *et al.*, 1997). Ils sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénoliques sont divisés en trois classes (**figure 04**) : les acides

phénoliques dérivés de l'acide benzoïque, les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique et les phénols simples (cathécol, guaiacol et phloroglucinol) (Bouchouka 2016).

2.2.2. Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait du terme Latin *flavus* ; (*flavus* = jaune) (Malešev et Kuntić, 2007). Les flavonoïdes sont une classe importante de polyphénols. Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées chez les plantes. Ils peuvent être présents dans toutes les parties des plantes : racines, tiges, bois, écorce, feuilles, graines, fleurs et fruits où ils sont responsables de la couleur de ces derniers (généralement jaune) (Rice-Evans et al, 1997). La structure de base de ces composés (Figure 05) est le diphényle propane à 15 atomes de carbones (C6-C3-C6). Essentiellement, la structure se compose de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont de 3-carbones, habituellement sous la forme d'un noyau hétérocyclique, C (Bouhcouka 2016).

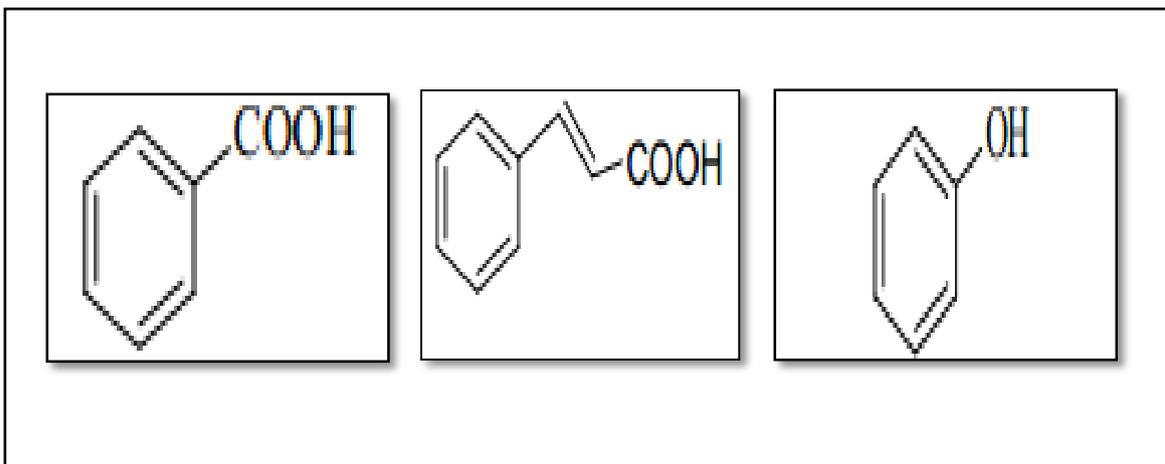


Figure 04. Les principaux précurseurs des acides phénoliques (Bouchouka, 2016).

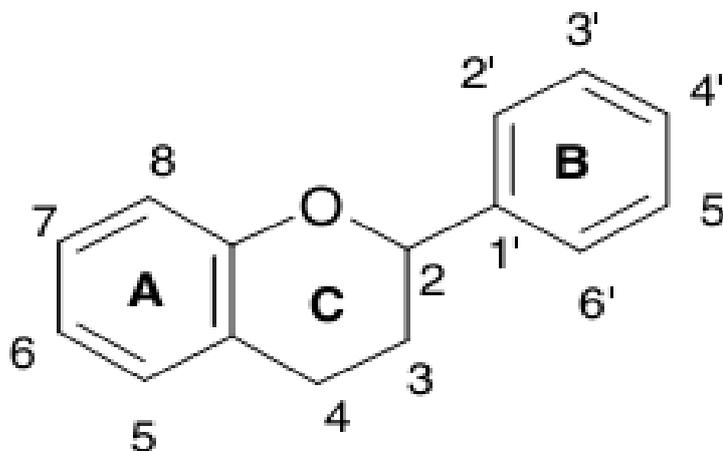


Figure 05. Structure de base des flavonoïdes (Kumar et Pandey, 2013).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en sept classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavonols, flavones, flavanes, flavanones, chalcones, isoflavones et anthocyanidines. Les flavonoïdes les plus étudiés appartiennent aux groupes des flavones et des flavonols, en particulier, la quercétine et son hétéroside la rutine, mais aussi à ceux des flavanes, flavanones et chalcones.

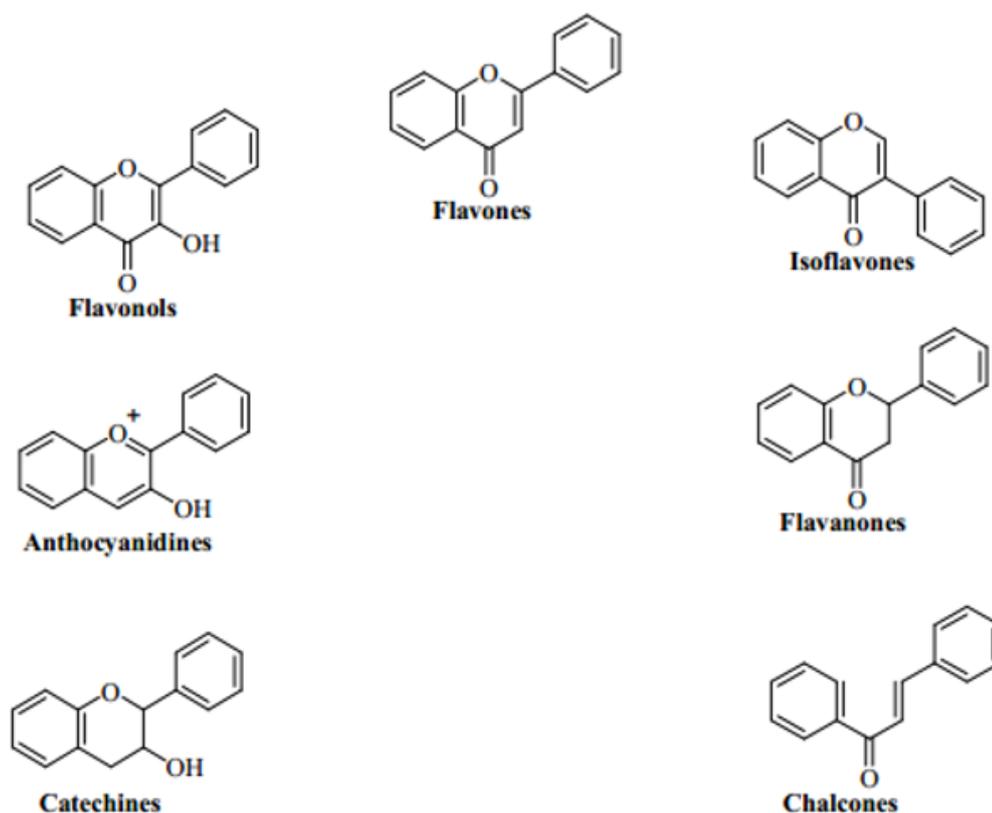


Figure 06. Les principales classes des flavonoïdes (Bouchouka, 2016).

2.2.3. Les taninns

Les tanins représentent un groupe hétérogène de composés phénoliques de haut poids moléculaire qui compris entre 500 et 3000 Da (Kamra et *al.*, 2006). Ils ont la capacité de se combiner et former des complexes réversibles et irréversibles avec des macromolécules; protéines (principalement), des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, pectine, etc.), des alcaloïdes, des acides nucléiques et des minéraux (Schofield et *al.*, 2001 ; Gazengel et Orecchioni, 2013).

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique: tanins hydrolysables et condensés (cathéchiqes) (Charnay et Tourmeau, 2007).

2.2.3.1. Les tanins hydrolysables

Ils sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyl. Ils comprennent l'acide gallique (tanins galliques) et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique (tanins éllagiques) (Conrad *et al.*, 1998 ; Mueller-Harvey, 2001).

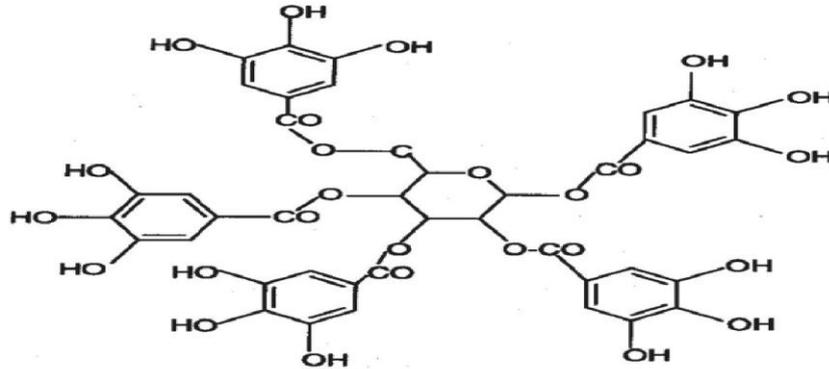


Figure 07. Structure chimique d'un tanin hydrolysable (Magalhães *et al.*, 2014).

2.2.3.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés (proanthocyanidines ou procyanidines) sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidine) liés entre eux par des liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse (Khababae *et al.*, 2001 ; Schofield *et al.*, 2001).

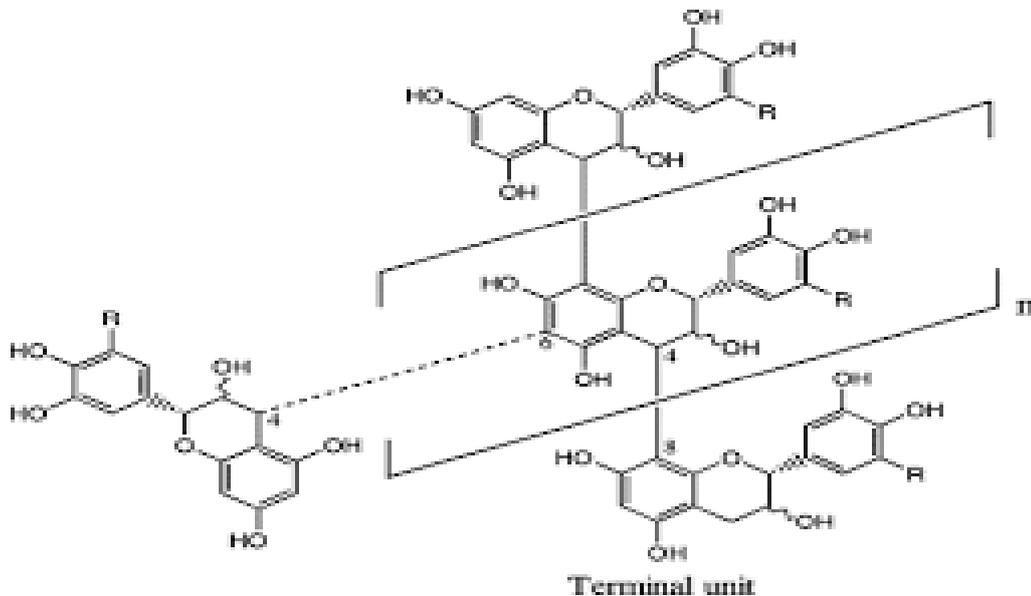


Figure 08. Structure chimique d'un tannin condensé (Royer *et al.*, 2012).

2.3. Les propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les polyphénols en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques. Ils sont doués d'activité antiallergique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anti-carcinogénique, antimutagènes, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (Bruneton, 1999 ; Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007) , et notamment une activité antioxydante importante par la neutralisation et le piégeage des radicaux libres (Halliwell, 2008 ; Perron *et al.*, 2011).

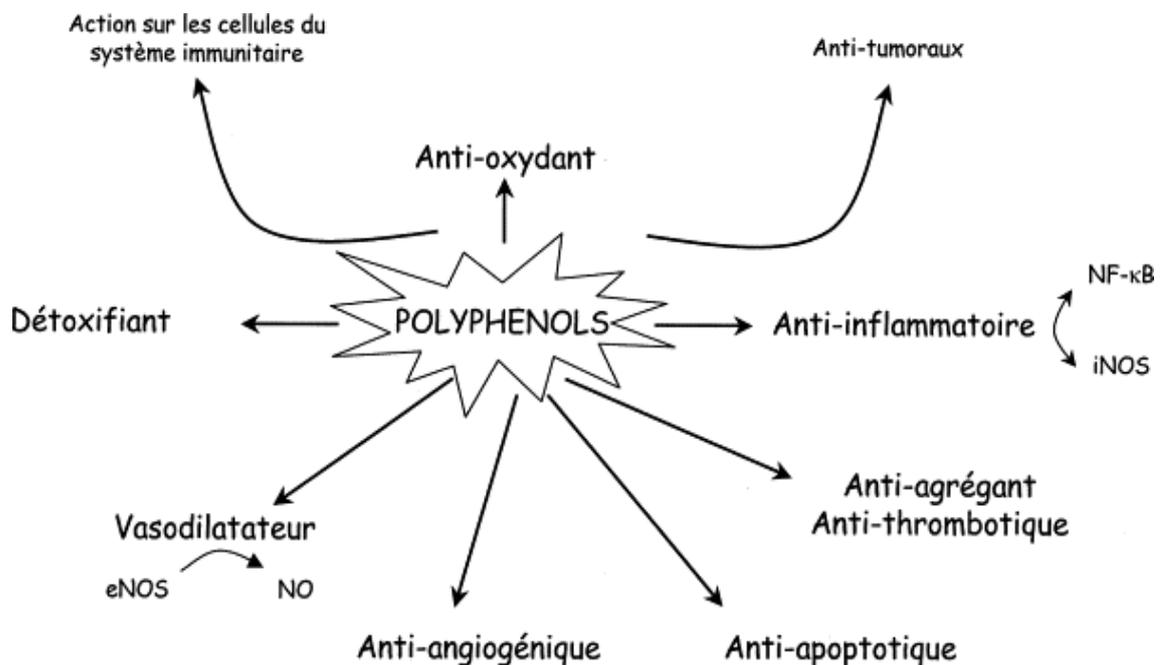


Figure 09. Activités biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

2.4. Activité antioxydante des polyphénols

Les composés phénoliques occupent une grande place dans la recherche scientifique grâce à leurs propriétés antioxydantes efficaces, et leurs effets bénéfiques. Ces antioxydants naturels ont la capacité d'améliorer la qualité et la stabilité des aliments et peuvent également agir comme nutraceutiques de mettre fin à des réactions en chaîne des radicaux libres dans les systèmes biologiques (Zhao *et al.*, 2014).

Les mécanismes d'action antioxydante des polyphénols peuvent comprendre la suppression de la formation des ROS; le piégeage des ROS; et la surexpression ou la protection des systèmes de défenses antioxydantes (Kumar et Pandey, 2013).

La relation structure-activité antioxydante des polyphénols

L'activité antioxydante des composés phénoliques est due principalement à leur capacité à piéger les radicaux libres, à donner des atomes d'hydrogène ou des électrons, ou à chélater des cations métalliques. Cette activité est déterminée essentiellement par la structure des composés phénoliques, ce qui est appelé des relations structure-activité (Kumar et Pandey, 2013). Dans le cas des acides phénoliques, l'activité antioxydante dépend du nombre et des positions des groupements hydroxyle (-OH) reliés au groupe fonctionnel carboxylique.

Chez les flavonoïdes la configuration, la substitution, et le nombre total de groupes hydroxyle influent considérablement sur plusieurs mécanismes d'action antioxydante tels que le piégeage des radicaux libres et la chélation des ions métalliques. Par conséquent l'activité antioxydante augmente avec l'augmentation du degré d'hydroxylation (Kumar et Pandey, 2013).

3. *Urginea maritima* L. Baker.

L'espèce *Urginea maritima* (*U. maritima*) appartient au genre *Urginea* de la famille des Liliacées (Bruneton, 1996). C'est une plante médicinale très anciennement connue, originaire du bassin méditerranéen et bien adapté à son type de climat (Kopp et al., 1996). Son nom botanique provient d'une part de ce qu'elle croit spontanément sur les rivages de la mer méditerranée et d'autre part du nom d'une population algérienne, les beni-urgine (tribu Arabe, Ben Urginea). Il a été inventé pour la première fois par le botaniste allemand Adolphe Steinhilf en 1834, avec l'identification de sept espèces (Steinhilf, 1834).

3.1. Noms vernaculaires

Nom scientifique : *Urginea maritima* L. Baker.

Synonymes : *Urginea indica*, *Drimia maritima*, *Urginea scilla*, *Urginea indica*, *scille maritime*, *Scilla indica*.

Noms communs :

En anglais : Sea Onion, Wild Onion, Indian squill, Red squill.

En français : Urginée maritime, oignon marin, Scille maritime, Scille officinale, Scille européenne, Scille méditerranéenne.

En arabe: Ansal, Bçal al far, Faraoun.

En berbère : Achkil.

3.2. Classification systématique

Classification systématique d'*Urginea maritima* (L.) Baker (Daoudi et al., 2017).

Systematique :

Règne : *Plantae*

Classe : *Monocotyledoneae*

Ordre : *Asparagale*

Famille : *Asparagaceae* (liliacée)

Genre : *Urginea* L.

Espèce : *Urginea maritima* (L.) Baker

3.3. Description botanique et distribution

Urginea maritima L. Baker est une plante bulbeuse (à très gros bulbe) de la région méditerranéenne (Bruneton, 1996). Elle est remarquable par sa tige florifère robuste et dressée qui peut atteindre 1 m d'hauteur. Le bulbe est tunique ovoïde, volumineux formé d'écaillés insérées sur un plateau qui porte des racines charnues. Il peut atteindre 15 à 30 cm de diamètre et son poids peut aller jusqu'à 3 à 4kg.

Les grandes feuilles d'*Urginea maritima* de largeur (3-10cm) et longueur (30-100cm), apparaissent en touffe au printemps, puis disparaissent avant l'été avant la floraison. Elles ont vertes foncées, brillantes, glabres, épaisses, quelquefois ondulées et aiguës au sommet.

Les fleurs blanches, petites, étoilées et nombreuses sont disposées serrées sur la tige en longues grappes, se montrent depuis le mois de juillet jusqu'au mois d'octobre. Elles sont munies de petites bractées très étroites et portées sur des pédoncules plus longs qu'elles (Cuenod et al., 1954 ; Merad, 1991 ; Dafni et al., 1981 ; Truelle 2009 ; Grive 2011).

La plante est distribuée généralement dans les pentes des collines, les terrains sablonneux près de la mer Méditerranée et dans certaines régions de l'Afrique du Nord (Bellakhdar, 1997), le Moyen-Orient, l'Europe et dans les îles Canaries.

Urginea maritima a deux variétés en fonction de leurs bulbes : rouge et blanche. La variété rouge (scille rouge) est prédominante en Tunisie (Cuenod et al., 1954; Makhlof, 1978), Algérie (Battandier, 1893), et la Grèce. La variété blanche est prédominante au Maroc (Bellakhdar, 1997).



Figure 10. Les différentes parties de l'espèce *Urginea maritima* (Truelle, 2009).

3.4. Utilisations d'*Urginea maritima*

Urginea maritima est utilisé comme une plante médicinale et biopesticide et donc on trouve son application dans les produits pharmaceutiques ainsi que dans l'agriculture.

3.4.1. Utilisations en médecine traditionnelle

Urginea maritima a été utilisée comme plante médicinale à travers les siècles dans tout le monde. Les anciens Egyptiens ont découvert son utilisation contre l'œdème, les vomissements et les toux (Blumenthal et *al.*, 1998). La bulbe de cette plante a été utilisée par les herboristes pour le traitement de l'insuffisance cardiaque, la bronchite chronique, l'asthme, la toux, la pneumonie, les blessures, les hémorroïdes, les problèmes de verrues, l'avortement, les piqûres de vipères, l'ictère et comme un diurétique (Sharaf et *al.*, 2006 ; Adamsa et *al.*, 2009). Ainsi, elle est utilisée pour traiter les problèmes dermatologiques, les douleurs de l'oreille (El Hafian et *al.*, 2014), les pathologies digestives (Mehdioui et Kahouadji, 2007) et la coqueluche (Hmamouchi, 1999). Cette plante est recommandée pour traiter aussi l'hépatite (Bellakhdar, 1997 ; Benkhniq et *al.*, 2010). Les femmes l'utilisent comme abortif par voie interne ou en fumigations vaginales (Deepak et *al.*, 2003). La médecine moderne continue à trouver son utilisation comme expectorant, avec préparations commerciales pour le rhume (Shiva kameshwari et *al.*, 2012).

3.4.2. Utilisations en agriculture

En plus de son potentiel magique pour guérir de nombreuses maladies humaines, *U. maritima* trouve également son utilisation comme pesticides contre les champignons, les insectes et les

rats où les études ont montré que l'extrait de bulbe est un insecticide puissant (Pascual-Villalobos et Robledo, 1999).

3.5. Données phytochimiques

Du point de vue phytochimique, il a été signalé que les principaux constituants des bulbes d'*U. maritima* sont des glycosides cardiaques (1-3%) principalement de type bufadienolides (Kopp et al., 1996). Les anthocyanines (Dizaye et Badraddin, 2010), les flavonoïdes (Fernandez et al., 1972), les acides gras, les polysaccharides (Spies et al., 1992) et l'oxalate de calcium sont également présents (Cogne et al., 2001). Cette espèce renferme aussi des tanins, des composés réducteurs, des anthraquinones combinées, du mucilage, des triterpènes et des stéroïdes (Belhaddad et al., 2017). Ce groupe de composants manifestant des activités biologiques pharmacologiques très marquées.

3.6. Données pharmacologiques et toxicologiques

Plusieurs études ont démontré que les extraits de bulbe d'*Urginea maritima* contiennent des antioxydants naturels protégeant les êtres humains contre les effets toxiques et nocifs des radicaux libres. Ils ont une large gamme d'activité antioxydante, antiradicalaire, antimicrobienne (Mammadov et al., 2010 ; Jarjes et al., 2016 ; Belhaddad et al., 2017), et antifongique puissante contre de nombreux champignons pathogènes (Daoudi et al., 2017).

Cette plante est toxique pour l'homme et l'animal, qui se manifeste par des vertiges, des nausées, des vomissements, des diarrhées, de l'hypertension, des douleurs dans le ventre et dans les jambes. Dans des cas graves il peut survenir un coma puis la mort par un arrêt cardiaque (Hmamouchi, 1999). Cette toxicité due principalement à la présence des glycosides toxiques comme le scilliroside qui est le principal glycoside toxique et se trouve dans toutes les parties de la plante, en particulier les racines et le noyau de la partie bulbeuse (Sharaf et al., 2006).

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les fleurs d'*Urginea maritima* ont été récoltées au mois d'Octobre 2017, à partir de la wilaya de Mila (commune de Sidi Khelifa). Elles ont été nettoyées des impuretés, séchées à l'abri de la lumière puis broyées à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine, à partir de laquelle des différents extraits ont été préparés. Le stockage a été fait dans des sachets en papiers et à l'abri de la lumière.

1.2. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans notre étude sont :

- Les solvants : le méthanol, l'éthanol, le chloroforme.
- Les réactifs : trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Folin-Ciocalteu, bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), acide gallique, quercétine, acide tannique, Butylated hydroxy toluen (BHT), 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), vitamine C (acide ascorbique), ferricyanide de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], acide trichloracétique (TCA), chlorure ferrique (FeCl_3), β -carotène, Tween40, acide linoléique, tert-Butyl hydroperoxide (t-BHP), K_2HPO_4 et KH_2PO_4 .

Ces solvants et réactifs sont obtenus auprès de Fluka, Prolabo, Sigma-Aldrich, Organics et Janssen Chemica.

2. Méthodes

2.1. Extraction

2.1.2. Préparation de l'extrait éthanolique

L'extraction éthanolique (EEt) a été effectuée par macération avec l'éthanol 80% (volume/volume avec l'eau distillée) à raison de 10g de la poudre des fleurs pour 100ml. La macération dure 24heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après filtration à travers le papier Wattman N°3, le filtrat est évaporé à l'aide d'un rotavapeur (KIT LAB®) presque à sec et le résidu final a été mis à sécher dans une étuve à 45°C, jusqu'à l'obtention

d'un extrait sous forme de poudre conservée à - 4°C jusqu'à son utilisation (Mbiantcha et *al.*, 2011).

2.1.2. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux (EAq) a été préparé en suivant un mode d'extraction traditionnelle ; l'infusion (Daoudi et *al.*, 2017). Brièvement, 10g de la poudre des fleurs a été mis dans 100ml de l'eau distillée bouillante pendant 15min. Après filtration, la solution obtenue est placée dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec, conservé par la suite à - 4°C jusqu'à son utilisation.

2.2. Dosage des composés phénoliques

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification de ces métabolites est effectuée généralement par plusieurs méthodes analytiques dont la méthode la plus utilisée est celle de Folin-Ciocalteu.

a) Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). L'oxydation en milieu alcalin du réactif Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques conduit à la formation d'un mélange d'oxyde bleu. L'intensité de la coloration produite, qui a une absorbance maximale à 765nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait analysé (Georgé et *al.*, 2005).

b) Protocole

Les polyphénols ont été déterminés en spectrophotométrie (Li et *al.*, 2007). Brièvement, 500µl du réactif Folin-Ciocalteu (dilué à 10% dans de l'eau distillée) sont ajoutés à 100µl d'extrait avec des concentrations bien déterminées. Quatre minutes après, 400µl de la solution de Na_2CO_3 (75mg/ml) sont additionnées au mélange réactionnel. Après une incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765nm par un spectrophotomètre (SPECORD® 50 PLUS).

La droite d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique (0-160µg/ml), en suivant les mêmes étapes de dosage. Les teneurs en polyphénols totaux sont déterminées à partir de la droite de régression de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes dans les extraits d'*Urginea maritima* a été effectuée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3), en suivant le protocole de Bahorun et ses collaborateurs (1996).

a) Principe

La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produit un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430nm (Ababsa, 2009).

b) Protocole

À 1ml d'échantillon, 1ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans de l'méthanol) est ajouté. Après 10min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois.

Dans les mêmes conditions, la gamme d'étalonnage de la quercétine (0-40 $\mu\text{g/ml}$), est établie. La quantité des flavonoïdes est déterminée à partir de la droite de régression de la droite d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

2.2.3. Dosage des tannins

La détermination de la teneur en tannins dans les extraits aqueux et éthanolique d'*Urginea maritima* a été effectuée en suivant la méthode décrite par Batesmith (1973). Ce dosage est basé sur la capacité des tannins à faire précipiter les protéines (hémoglobine du sang bovin frais).

b) Protocole

Brièvement, 1ml de chaque extrait de la plante a été mélangé avec 1 ml du sang bovin hémolysé (absorbance = 1,6). Après 20min, le mélange a été centrifugé à 4000rpm/min par une centrifugeuse (-EBA 20) pendant 10min et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 756nm.

La droite d'étalonnage est réalisée par l'acide tannique (0-700 $\mu\text{g/ml}$), en suivant les mêmes étapes de dosage. Les teneurs des extraits en tannins sont déterminées à partir de la droite de régression de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

2.3. Évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs tests sont utilisés dans la présente étude pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des fleurs d'*Urginea maritima* :

- Activité anti-radicalaire par la méthode au DPPH.
- Effet réducteur des métaux de transition par le test du pouvoir réducteur.
- Inhibition de la peroxydation lipidique par le test du blanchissement de β -carotène.
- Effet hémato-protecteur en utilisant le test d'hémolyse induite par le t-BHP.

2.3.1. Test de DPPH

Dans ce test, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 0,4mg de DPPH dans 100ml du méthanol au jour de la manipulation. Cinq-cents microlitres (500 μ l) des extraits ou des standards (acide gallique et BHT) sont ajoutés à 500 μ l de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel est laissé à l'obscurité pendant 30min et l'absorbance est mesurée à 517nm (Que et *al.*, 2006). L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

La concentration inhibitrice (IC₅₀) est définie comme étant la concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet piègeur du radical DPPH. Elle est déterminée à partir de la droite de régression de la courbe de l'activité anti-radicalaire en fonction de différentes concentrations de l'échantillon.

2.3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux et éthanolique d'*Urginea maritima* est déterminé selon la méthode de Chung et ses collaborateurs (2005). Cent microlitres (100 μ l) de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 100 μ l de ferricyanure de potassium ([K₃Fe(CN)₆], 1%) sont ajoutés à 100 μ l de différentes concentrations d'extraits ou des antioxydants standards (BHT et la vitamine C). Le mélange est incubé pendant 20minutes à 50°C. Après incubation 250 μ l d'acide trichloracétique (TCA, 1%) sont ajoutés, et soumis à une centrifugation à 3000rpm/min pendant 10minutes. Ensuite, 250 μ l du surnageant est prélevé pour ajouter 250 μ l d'eau distillée et 500 μ l de chlorure ferrique (FeCl₃, 0,1%) ; la lecture se fait au spectrophotomètre à 700nm.

La valeur EC₅₀ est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

2.3.3. Blanchissement du β-carotène

La capacité des extraits à prévenir le blanchissement de la β-carotène est déterminé selon la méthode décrite par Miller en 1971 et qui est modifiée par Aslan et ses collaborateurs (2006). Brièvement, une émulsion de β-carotène/acide linoléique a été préparée par la solubilisation de 0,5mg de β-carotène dans 1000μl du chloroforme. Vingt-cinq microlitres (25μl) de l'acide linoléique et 200mg de Tween 40 sont additionnées. Le chloroforme est ensuite évaporé, en utilisant un rotavapeur (KIT LAB®), et 100ml d'eau distillée oxygénée ont été ajoutés avec une agitation vigoureuse de l'émulsion résultante.

Pour la réalisation du test, 2500μl de l'émulsion précédente sont ajoutés à 350μl de l'extrait à analyser (2mg/ml). L'antioxydant standard (BHT) est utilisé comme un contrôle positif, alors que le contrôle négatif est réalisé par le solvant de solubilisation des extraits. La décoloration de β-carotène est suivie à 490nm à des intervalles de temps réguliers pendant les 5 premières heures, puis après 24heures et 48heures. L'inhibition de la dégradation de β-carotène des extraits (% inhibition) est calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = A_t (\text{extrait}) \times 100 / A_t (\text{BHT})$$

A_t (extrait) : absorbance de l'extrait dans un temps déterminé.

A_t (BHT) : absorbance de BHT dans un temps déterminé.

2.3.4. Inhibition de l'hémolyse oxydative des érythrocytes induite par le t-BHP

Afin d'évaluer la résistance des érythrocytes prétraités par les extraits des fleurs d'*Urginea maritima* à une attaque radicalaire on a utilisé la vitamine C comme standard. Brièvement, un prélèvement du sang sur tube EDTA (10ml) a été obtenu à partir d'un volontaire sain. Ensuite, les globules rouges (GR) ont été isolés par centrifugation (centrifugeuse –EBA 20) à 3000rpm pendant 10min et lavées quatre fois avec du tampon PBS (phosphate de sodium 10mM, NaCl 125mM, pH 7,4), puis remis en suspension (2% d'hématocrite) en utilisant le même tampon. Les cellules conservées à 4°C doivent être utilisées dans les 6 heures suivant leur préparation. Afin d'induire l'hémolyse oxydative, la suspension des GR déjà préparée a été traitée par le t-BHP (concentration finale 500μM) dissous dans du PBS (Takebayashi et al., 2010).

Pour tester l'effet antioxydant protecteur sur les globules rouges, les cellules ont été prétraitées pendant 15min, en l'absence ou en présence de 2mg/ml de chaque extrait aqueux et éthanolique, avant l'induction du stress oxydatif. Au bout de 3h d'incubation à 37°C après le traitement oxydatif, l'hémolyse a été déterminée comme décrit ci-dessous. Les échantillons ont été centrifugés à 3000rpm pendant 10min et l'absorption (A) du surnageant (S1) est mesuré à 540nm, en utilisant un spectrophotomètre (SPECORD® 50 PLUS). Les précipités (globules rouges intacts) ont été ensuite hémolysés en ajoutant 40 volumes d'eau distillée glacée. Le mélange est centrifugé à 3000rpm pendant 10min. Le surnageant (S2) a été ensuite ajouté à S1 et l'absorption (B) des deux surnageants combinés (S1 + S2) a été mesuré à 540nm.

Le pourcentage d'hémolyse (HM) a été calculé à partir du rapport des lectures $(A/B) \times 100$, alors que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse (IH) a été calculé à partir de l'équation suivant :

$$\% \text{ IH} = 100 \times [1 - ((\% \text{ HM échantillon} - \% \text{ HM contrôle}) / \% \text{ HM contrôle})]$$

Où:

% HM échantillon : pourcentage d'hémolyse en présence des extraits ou de la vitamine C.

% HM contrôle : pourcentage d'hémolyse en absence de t-BHP, des extraits et de la vitamine C.

2.4. Analyses statistiques

Les résultats des tests réalisés sont exprimés en moyenne \pm SD. Les valeurs EC₅₀ et IC₅₀ sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [Absorbance = f (concentrations)] et [% inhibition = f (concentrations)], respectivement. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA one-way (univarié) suivi du test de Tukey ou de Dunnett pour comparaison multiple, en utilisant le logiciel GraphPad Prism 7®. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

Résultats et discussion

1. Extraction des fleurs d'*Urginea maritima*

L'extraction des fleurs d'*Urginea maritima* a été réalisée par l'éthanol 80% et par l'eau distillée. Après l'extraction et l'élimination de toute trace de solvant, le rendement est calculé selon la formule ci-dessous et les résultats obtenus (teneur en composés extractibles, TCE) sont présentés dans le **tableau 04**.

$$\text{Rendement (TCE)} = \frac{\text{Poids de l'extrait}}{\text{Poids sec de la plante}} \times 100$$

Tableau 04. Teneur en composés extractibles (TCE), ou rendement d'extraction des fleurs d'*Urginea maritima*.

Extrait	Rendement (TCE) % Par rapport au poids des fleurs
EAq	20,4
EEt	24,9

Ces résultats montrent que le rendement de l'extraction éthanolique (24,9%) est supérieur à celui de l'extrait aqueux (20,4%).

Généralement, divers solvants sont utilisés pour l'extraction de ces principes actifs englobant l'eau, l'éthanol, le méthanol et l'acétone. Il a été montré que les solvants hydroalcoolique donnent les meilleurs rendements d'extraction que les solvants alcoolique (Boulekbache *et al.*, 2013 ; Tan *et al.*, 2013). Cela explique l'utilisation de l'éthanol (80%) dans la présente étude.

L'extraction aqueuse et l'extraction éthanolique ont été faites dans la présente étude après avoir sécher la plante à l'ombre et l'avoir rendu en poudre. En fait, l'utilisation d'un matériel sec est recommandée du moment que les flavonoïdes (particulièrement les glycosides) peuvent être soumis à une dégradation enzymatique quand le matériel végétal est frais ou non séché. De plus, les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent être la cause de cette dégradation (Seidel, 2005). Le séchage de la plante à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire (Jones et Kinghorn, 2005). L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.

Le rendement de l'extraction éthanolique (24,9%) est relativement supérieur à celui de l'extraction aqueuse (20,4%). Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2005). Néanmoins, l'extraction aqueuse est faite par infusion à température élevée pendant 15min. En fait, Su et ses collaborateurs (2006) ont rapporté que le rendement des extractions aqueuses augmente avec la température. Cela est expliqué par le fait que l'eau à haute température provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules (Albano et Miguel, 2010). La chaleur peut, cependant, conduire à la dégradation des molécules thermolabiles (Seidel, 2005). C'est la raison pour laquelle, l'infusion a été effectuée pendant un temps réduit.

2. Teneur des extraits en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins

2.1. Teneur en polyphénols

La teneur des extraits aqueux et éthanolique des fleurs d'*Urginea maritima* en polyphénols a été déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu et exprimée en mgEAG/g d'extrait déterminée à partir de l'équation de la droite de régression de droite d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe 01**) et par gramme de fleurs sèches (g FS). Les résultats sont regroupés dans le **tableau 05**.

Tableau 05. Teneur en polyphénols totaux (TPT) dans les différents extraits des fleurs d'*Urginea maritima*.

Extraits	Teneur en polyphénols totaux		TPT/TCE (%)
	mg EAG/g d'extrait	mg EAG/g FS	
EAq	54,73 ± 1,62	11,16 ± 2,57	5,47
EEt	40,91 ± 0,59	10,20 ± 0,37	4,09

Les valeurs représentent la moyenne ± SD (n=3)

D'après ce tableau, les deux extraits aqueux et éthanolique obtenus à partir des fleurs d'*Urginea maritima* contiennent des teneurs considérables en polyphénols. Il est clair que

l'extrait aqueux est le plus riche en polyphénols (54,73mg EAG/g d'extrait) que l'extrait éthanolique (40,91mg EAG/g d'extrait).

En comparant la teneur en polyphénols avec celle des composés extractibles dans les deux extraits, elle semble très faible (**Tableau 05**). Le rapport TPT/TCE est égal à 5,47% pour l'extrait aqueux et 4,09%. De ce fait, d'autres composés que les polyphénols occupent une bonne partie dans l'EAq et EEt avec un pourcentage de 94,53% et 95,91%, respectivement.

2.2. Teneur en flavonoïdes et en tannins

La teneur en flavonoïdes et en tannins des extraits aqueux et éthanolique d'*Urginea maritima* est estimée en utilisant les méthodes de trichlorure d'aluminium et la méthode de précipitation de l'hémoglobine, respectivement. Les teneurs sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression des droites d'étalonnages de la quercétine (**Annexe 02**) pour les flavonoïdes et de l'acide tannique (**Annexe 03**) pour les tannins. Les résultats sont représentés dans le **tableau 06**.

Tableau 06. Teneur en flavonoïdes et en tannins dans les différents extraits des fleurs d'*Urginea maritima*.

Extraits	Teneur en flavonoïdes	Teneur en tannins
	mg EQ/g d'extrait	mg EAT/g d'extrait
EAq	6,06 ± 0,19	37 ± 1,82
EEt	3,38 ± 0,33	35,23 ± 1,46

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n=3).

Le dosage des flavonoïdes et des tannins a révélé que l'EAq est plus riche en flavonoïdes (6,06mg EQ/g) et en tannins (37mg EAT/g) que l'EEt. Un tel résultat est comparable à celui du dosage des polyohénols. Les teneurs en polyphénols totaux ainsi qu'en flavonoïdes et en tannins des deux extraits sont regroupées dans la **figure 14**.

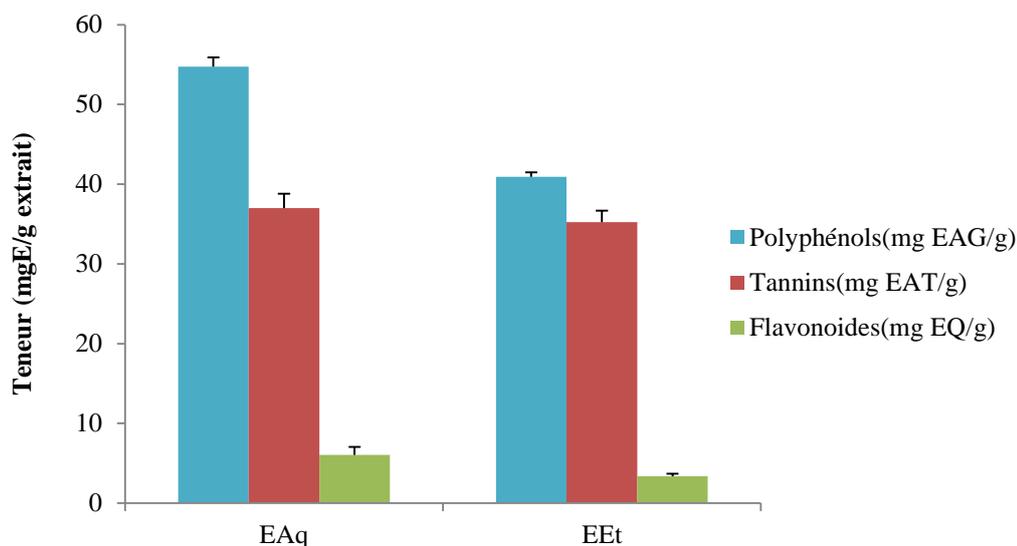


Figure 11. Teneur en polyphénols totaux, en tannins et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanolique d'*Urginea maritima*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3).

La raison principale du dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués (Li et al., 2007).

Nos résultats de la teneur en polyphénols totaux de l'EAq d'*Urginea maritima* sont en accord avec ceux obtenus par Daoudi et ses collaborateurs (2017) qui utilisent l'extrait des feuilles de la même espèce. La présence des polyphénols dans les extraits des feuilles et des bulbes de la plante étudiée est également rapportée par Mammadov et al., en 2010.

L'extrait aqueux est plus riche en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins que l'extrait éthanolique ce qui réfère le plus probable à la solubilité relative des polyphénols présents dans la plante dans l'eau et l'éthanol, respectivement. En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles (Falleh et al., 2008).

Bouguandoura et Bendimerad (2012) ainsi que Ozen et ses collaborateurs (2011) trouvent que l'extrait aqueux de *Satureja calamintha* et de *Thymus praecox* était également plus riche en polyphénols que l'extrait éthanolique et méthanolique. Cela est expliqué par la présence d'un grand nombre de molécules solubles dans l'eau et non solubles dans l'alcool.

3. Activité antioxydante des extraits d'*Urginea maritima*

Le potentiel antioxydant des polyphénols est désormais munis d'un grand intérêt du à son effet chimioprotecteur contre diverses maladies ainsi qu'à son effet inhibiteur de la peroxydation lipidique (Bubonja-Sonje et *al.*, 2011).

Les processus oxydatifs sont très variés et la nature de l'activité antioxydante peut être multiforme et attribuée à différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres (effet scavenger), la chélation des ions métalliques de transition (la réduction) et même la prévention de l'initiation d'une chaîne d'oxydation productrice des ROS (Ozen, 2009). Ainsi, la combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires les uns aux autres est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits des plantes ou de leurs polyphénols (Ksouri et *al.*, 2009).

3.1. Effet piègeur envers le radical DPPH

Les résultats obtenus par le test de DPPH sont présentées dans la **figure 15**. Ils montrent que les deux extraits des fleurs d'*Urginea maritima* ont une activité antiradicalaire concentration-dépendante. Cela a été prouvé par des auteurs ayant travaillé sur les bulbes d'*Urginea indica* (Banani et *al.*, 2015), ou sur les bulbes et les feuilles d'autres espèces de la même famille des Liliacée, comme le genre *Allium* (Demirtas et *al.*, 2013 ; Himed, 2015) et des espèces d'oignons sauvages (Panduranga Murthy et *al.*, 2011).

Un effet antiradicalaire maximal de 90,3% et de 82,48% est exercé par les extraits aqueux et éthanolique à des concentrations de 500µg/ml et 600µg/ml, respectivement. Le BHT, utilisé comme un antioxydant standard a montré un effet maximal de 83,76% envers le radical DPPH à une concentration de 300µg/ml, tandis que l'acide gallique a exercé un effet maximal de 99,03% à une concentration de 20µg/ml.

La concentration inhibitrice IC₅₀ a été calculée par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50% des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, où l'activité la plus forte correspond à l'IC₅₀ la plus faible. Les résultats obtenus sont illustrés dans **la figure 16**.

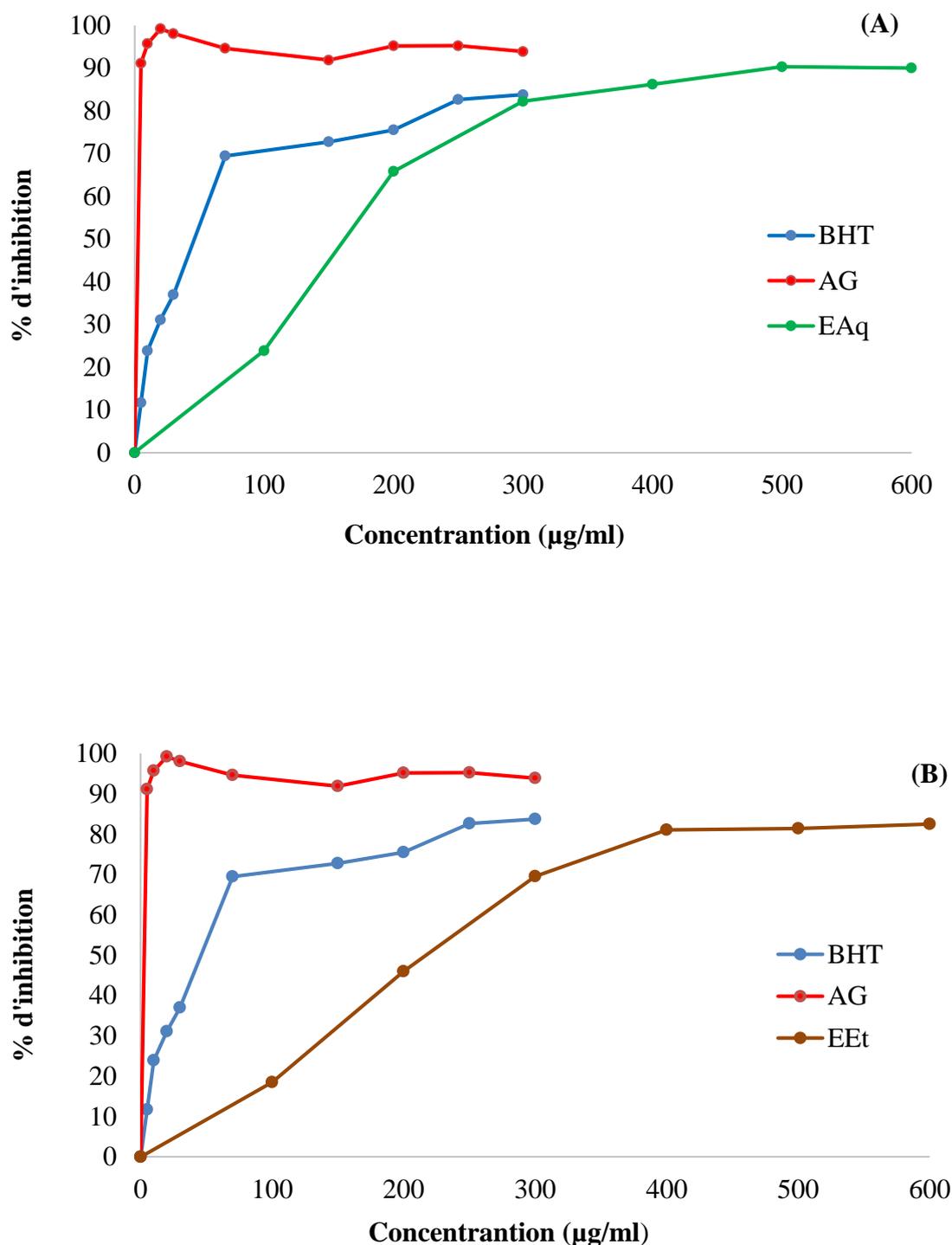


Figure 12. Effet piègeur des différentes concentrations des extraits. (A) : EAq et (B) : EEt des fleurs d'*Urginea maritima*, d'acide gallique et du BHT envers le radical DPPH. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm SD.

Il est clair que les deux extraits des fleurs d'*Urginea maritima* sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré par le piégeage des radicaux DPPH, où l'EAq présente l'effet scavenger le plus puissant du radical DPPH• ($IC_{50} = 163,08 \pm 9,51 \mu\text{g/ml}$), que l'EEt ($IC_{50} = 243,36 \pm$

13,94 μ g/ml). Une activité qui reste toujours, significativement ($p < 0.001$) très inférieure à celles des standards : l'acide gallique (2,63 μ g/ml) et le BHT (65,31 μ g/ml).

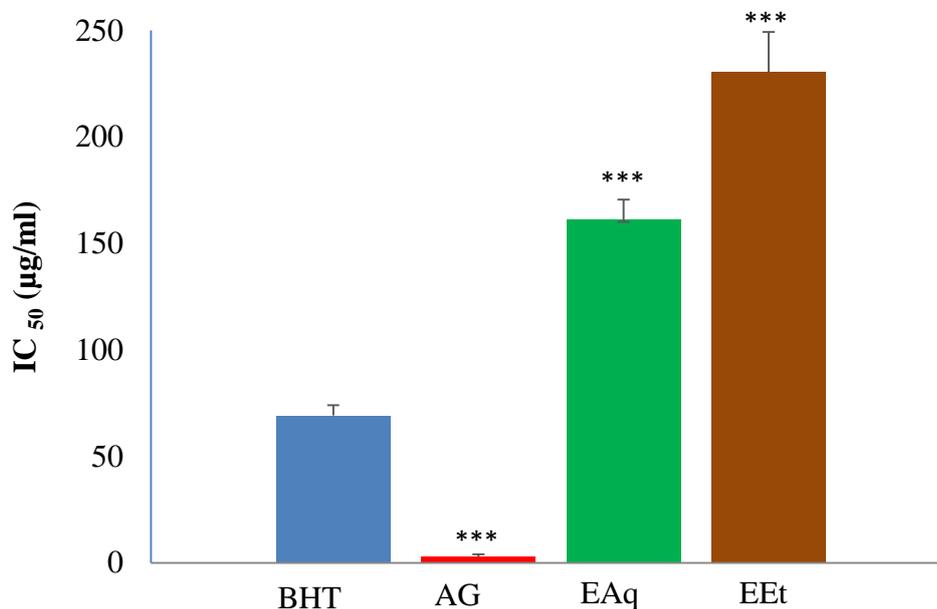


Figure 13. Activité antiradicalaire des extraits des fleurs d'*Urginea maritima*, d'acide gallique et du BHT envers le radical DPPH exprimés en IC₅₀. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3) ; *** $p < 0.001$, comparant avec le BHT (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple du Dunnett).

L'activité anti-radicalaire est très importante de fait du rôle délétère des radicaux libres dans les systèmes biologiques (Gulçin et al., 2010). La méthode du radical DPPH est employée pour le criblage des molécules douées d'activité antioxydante des extraits végétaux. Elle est souvent utilisée à cause de sa simplicité, sa grande sensibilité, la rapidité d'analyse de l'activité antioxydante, ainsi que la bonne reproductibilité des résultats (Gulçin et al., 2010). Dans cette procédure, l'activité antioxydante de l'échantillon est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH dont la réduction de ce radical ayant une couleur violette foncée (DPPH•), par les groupements hydroxyles des antioxydants présents dans les extraits, conduisant à la formation d'un composé stable d'une couleur jaune (DPPH-H) (**Figure 17**). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Majhenic et al., 2007 ; Locatelli et al., 2010).

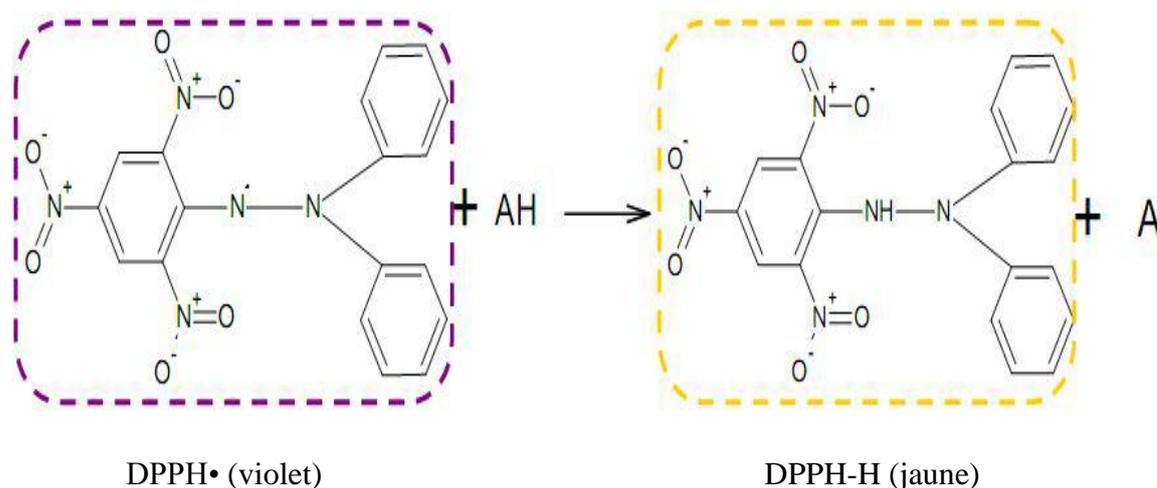


Figure 14. Structure chimique du radical DPPH• et de sa forme réduite (Popovici et al., 2009)

Nos résultats suggèrent que les extraits d'*Urginea maritima* contiennent des agents piègeurs des radicaux libres agissant comme antioxydants primaires réduisent et décolorent le DPPH (De Pooter et Schamp 1986). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (Le et al., 2007). Les polyphénols contenus dans les extraits d'*Urginea maritima* sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits.

L'extrait aqueux d'*Urginea maritima* est plus riche en polyphénols que l'extrait éthanolique et sa capacité de piéger les radicaux DPPH est plus élevée. Cela montre qu'il y a une relation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante des extraits et pourrait indiquer que les polyphénols sont responsables de cette activité. Cette relation a été rapportée par Mammadov et ses collaborateurs (2010) qui montrent l'existence d'une corrélation significative entre la teneur en polyphénols et l'effet scavenger des extraits méthanolique et éthanolique des feuilles d'*Urginea maritima* envers les radicaux DPPH. Banani et son équipe ont trouvé également la même corrélation avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*Urginea indica* (Banani et al., 2015). Il est évident donc que la forte activité antioxydante enregistrée dans nos extraits est attribuée à leur richesse en composés phénoliques.

Ces résultats sont en accord avec ce qui est annoncé dans la littérature par plusieurs auteurs que le potentiel d'activité antioxydante des extraits d'autres plantes médicinales dépend également de sa teneur en composés phénoliques (Stagos et al., 2012 ; Amri et al., 2015 ; Guettaf et al., 2016).

3.2. Pouvoir réducteur

La capacité de donation des électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé. Cette capacité de donation d'électrons est appelée pouvoir réducteur. Les résultats illustrés dans la **figure 18** montrent que les extraits EAq et EEt sont dotés d'un pouvoir réducteur remarquable de manière dose-dépendante et presque stable à partir de 50µg/ml, tandis que la Vit C et le BHT montrent une activité réductrice maximale à 18µg/ml et 36µg/ml, respectivement.

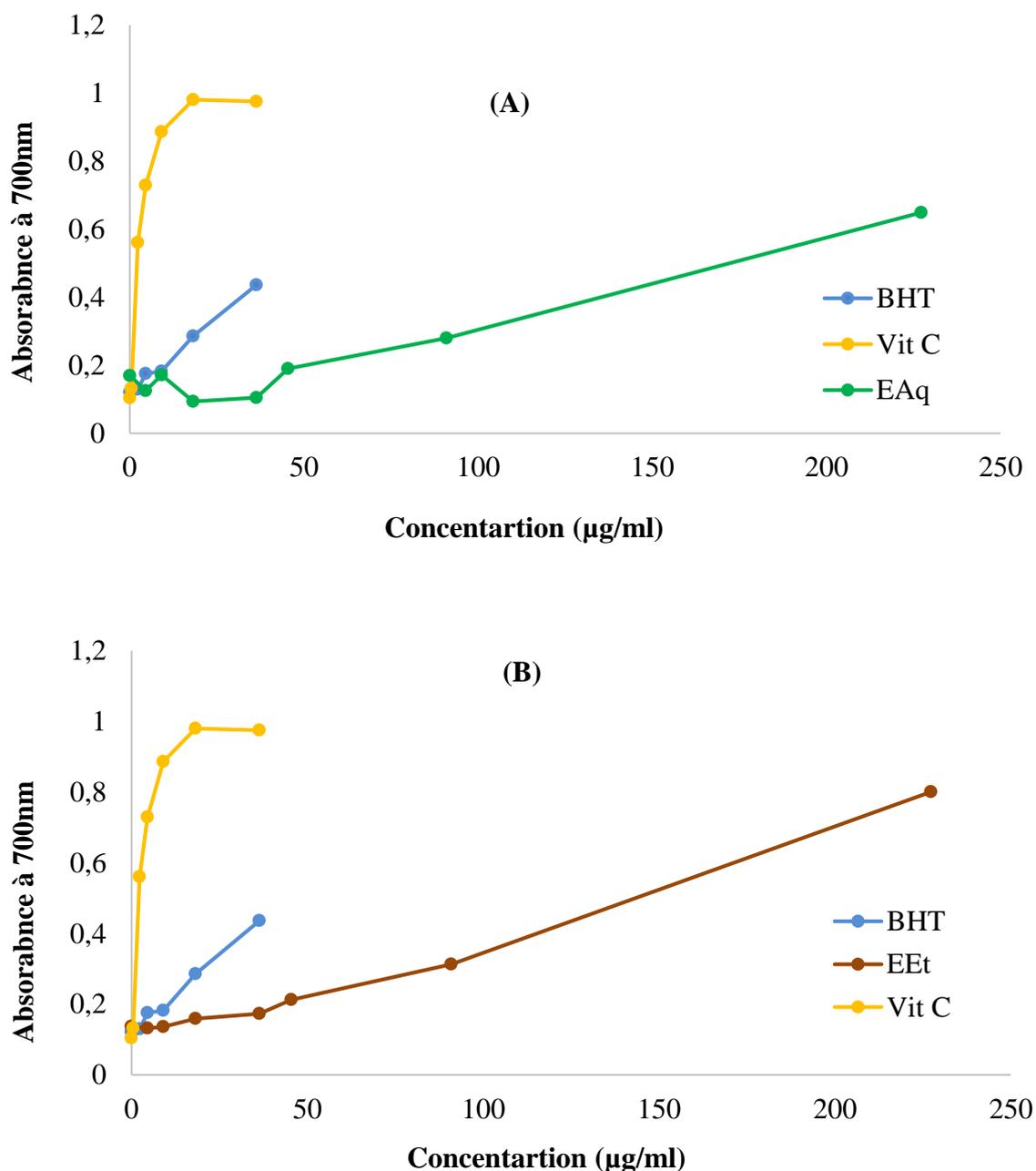


Figure 15. Pouvoir réducteur des différentes concentrations des extraits (A) : EAq, (B) : EEt, de la Vit C et du BHT exprimé en absorbance à 700 nm. Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD.

Le pouvoir réducteur des extraits des fleurs d'*Urginea maritima* est mesuré en suivant la réduction directe du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure ($\text{Fe}^{3+}(\text{CN}^-)_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}) ($\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6$), dans un milieu acidifié par l'acide trichloracétique et qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe $(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6]_3$ ayant une forte absorption à 700nm (Le et al., 2007). Cette réaction se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleu verte avec une augmentation de l'absorbance indiquant une augmentation de la puissance réductrice de l'échantillon étudié (Zou et al., 2004).

Le potentiel réducteur a été également exprimé en concentration effectrice lorsque l'absorbance est égale à 0,5 par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [Absorbance = f (concentrations)], où l' EC_{50} la plus faible correspond à l'extrait le plus actif.

Les valeurs calculées (**Figure 19**) montrent que la capacité réductrice de Vit C est significativement la plus puissante que celle de BHT et des extraits avec la concentration la plus faible ($3,56 \pm 0,56\mu\text{g/ml}$). Les concentrations effectrices obtenues par les extraits EAq et EEt d'*Urginea maritima* ($179,12 \pm 1,31\mu\text{g/ml}$ et $186,81 \pm 3,88\mu\text{g/ml}$, respectivement) montrent qu'ils ont un pouvoir réducteur remarquable dont l'EAq est le plus actif. Une activité qui reste toujours significativement inférieure à celles des standards ($p < 0,001$).

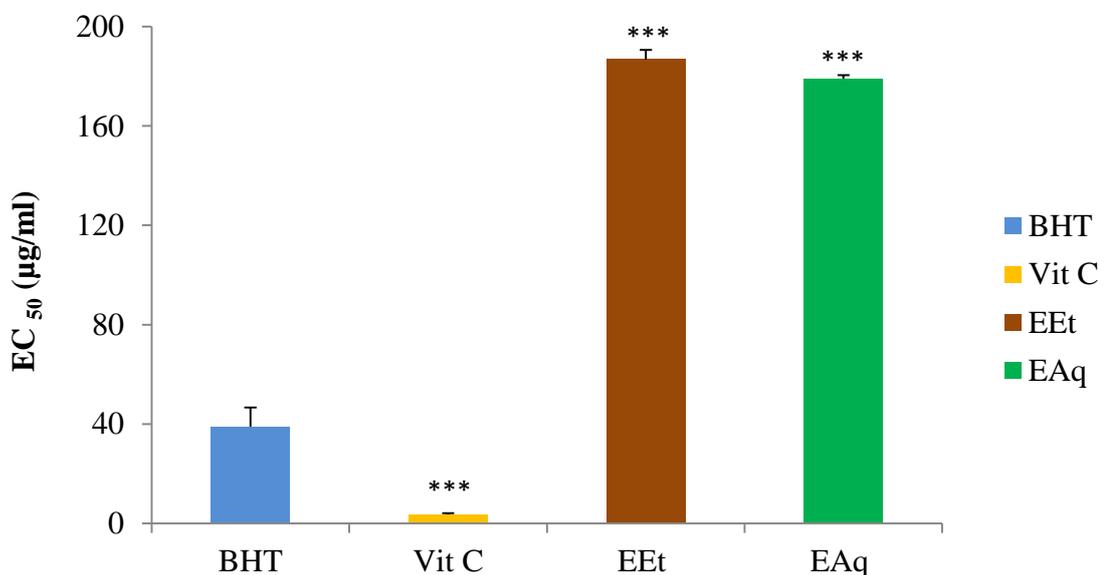


Figure 16. Pouvoir réducteur des extraits EAq et EEt des fleurs d'*Urginea maritima*, la Vit C et de BHT. Les résultats sont représentés sous forme des concentrations effectrice où l'absorbance est égale à 0,5. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n=3$). *** $p < 0,001$ comparant avec le BHT (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple du Dunnett).

Elle existe une bonne relation entre le pouvoir réducteur des extraits EAq et EEt et leurs teneurs en polyphénols où l'EAq le plus riche en composés phénoliques, y compris les flavonoïdes et les tannins, présente l'activité réductrice la plus puissante. Donc, le pouvoir réducteur des deux extraits pourrait être lié à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron.

Kumarappan et *al.*, (2012), ont signalé que les donneurs d'électrons pourraient réagir avec les radicaux libres pour les transformer en produits plus stables et arrêter les chaînes des réactions radicalaires ; c'est ce qu'on appelle pouvoir réducteur. Ils ont rapporté aussi que l'activité antioxydante des composés naturels peuvent avoir une corrélation réciproque avec leur pouvoir réducteur du fer (Kumarappan et *al.*, 2012 ; Guettaf et *al.*, 2016). Ainsi de nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice des extraits comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant potentiel (Li et *al.*, 2009 ; Liu et *al.*, 2013).

3.3. Test du blanchissement de β -carotène

Pour évaluer la puissance des extraits aqueux et éthanolique des fleurs d'*Urginea maritima* à ralentir ou inhiber l'oxydation de β -carotène, un suivi de la réaction d'oxydation a été réalisé en mesurant tout abaissement d'absorbance à 490nm en fonction du temps. Les courbes obtenues, exprimés en pourcentage d'inhibition du blanchissement de β -carotène, sont représentés dans la **figure 20**.

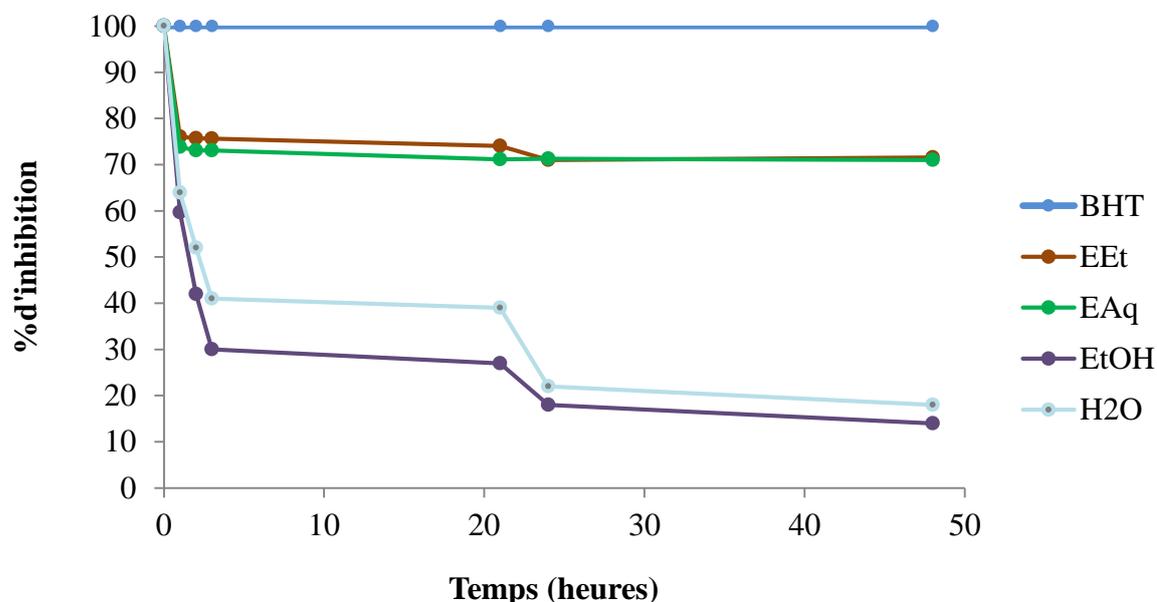


Figure 17. Activité antioxydante des extraits des fleurs d'*Urginea maritima*, du BHT et d'H₂O et de l'éthanol (EtOH) dans le test du blanchissement de β -carotène. Chaque point représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Les résultats ont montré que le pourcentage d'inhibition de chaque extrait diminue progressivement pour atteindre des valeurs plus ou moins basses. Cette diminution est plus rapide par rapport à celle de BHT et moins par rapport aux contrôles négatifs (H₂O et EtOH).

En présence du contrôle positif (BHT), les absorbances de la solution de β-carotène restent stables durant toute la période d'incubation (100% d'activité antioxydante). Alors que les contrôles négatifs ne montrent qu'une très faible activité antioxydante qui ne dépasse pas 22% et 18% pour le H₂O et EtOH, respectivement, après 24 heures d'incubation. Les deux extraits des fleurs d'*Urginea maritima* ont montrés une activité antioxydante remarquable où les pourcentages sont aperçus dans la **figure 21**.

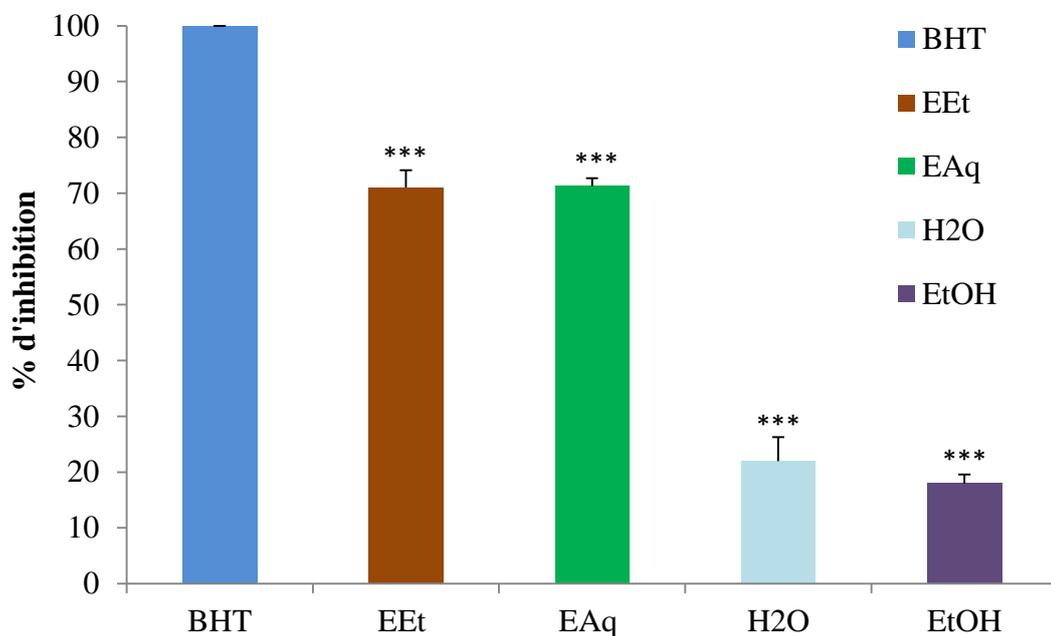


Figure 18. Pourcentage d'inhibition du blanchissement de β-carotène après 24 heures par les extraits d'*Urginea maritima*, le BHT et les contrôles négatifs. Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3) ; *** p < 0.001, comparant avec BHT (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple de Dunnett).

Cette représentation montre que l'oxydation couplée de l'acide linoléique et de β-carotène est efficacement inhibée par extraits d'*Urginea maritima* par rapport aux contrôles négatifs. Ainsi, les résultats montrent que les extraits aqueux et éthanolique ont presque la même activité antioxydante avec 71,26 % et 71,02 % respectivement, une activité qui reste significativement inférieure à celle du BHT (p<0.001).

Le système β -carotène/acide linoléique est très utile comme modèle mimétique de la peroxydation lipidique dans les membranes biologiques (Ferreira et *al.*, 2006). La peroxydation lipidique *in vivo* est une altération oxydative des acides gras polyinsaturés dans les membranes cellulaires catalysée par les radicaux libres (Bougatef et *al.*, 2009). Ainsi, l'acide linoléique pourrait servir comme modèle d'acides gras trouvés dans les membranes biologiques.

Les radicaux peroxydes, provenant de l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir des groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique, attaquent le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi son oxydation et donc la disparition de leur couleur orange (Amarowicz et *al.*, 2010). Cependant, la présence des antioxydants dans le mélange réactionnel pourrait inhiber relativement l'oxydation de β -carotène. Cette inhibition est due probablement, soit à l'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique ou au piégeage des radicaux peroxydes formés durant leur oxydation (Tepe et *al.*, 2005).

Les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux et éthanolique d'*Urginea maritima* exercent un très bon effet sur la peroxydation lipidique. Ces résultats suggèrent que les extraits ont une capacité considérable de réagir avec les radicaux libres pour les convertir en espèces non réactives et interrompre la chaîne de réactions radicalaires. Cela reflète aussi la solubilité des composés antioxydants des deux extraits dans l'huile et l'eau, voire les émulsions

Il a été rapporté que l'échantillon qui inhibe ou retarde le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme antioxydant primaire (Liyana-Pathirana et Shahidi, 2006).

Les résultats enregistrés par l'EET dans l'inhibition d'oxydation du β -carotène sont comparables avec ceux obtenus par Mammadov et *al.* (2010) qui ont testé le même extrait des bulbes d'*U.maritima*. L'activité antioxydante des extraits peut être due à leurs teneurs en polyphénols ou en flavonoïdes. Il a été signalé que les polyphénols jouent un rôle important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique (Baghiani et *al.*, 2010) et que l'activité antioxydante des polyphénols peut être largement prédite en fonction de leur structure chimique (Rastija et Medic-Saric, 2009).

3.4. Activité anti-hémolytique (*in vitro*)

Dans cette étude, la capacité des extraits d'*Urginea maritima* à protéger les globules rouges contre la lyse oxydative induite par le t-BHP (tert-Butyl hydroperoxide) est évaluée en utilisant des érythrocytes humains exposés au t-BHP, en mesurant la résistance de la

membrane érythrocytaire à l'hémolyse induite par les radicaux libres. Les résultats exprimés en pourcentage d'hémolyse sont illustrés dans la **figure 22**.

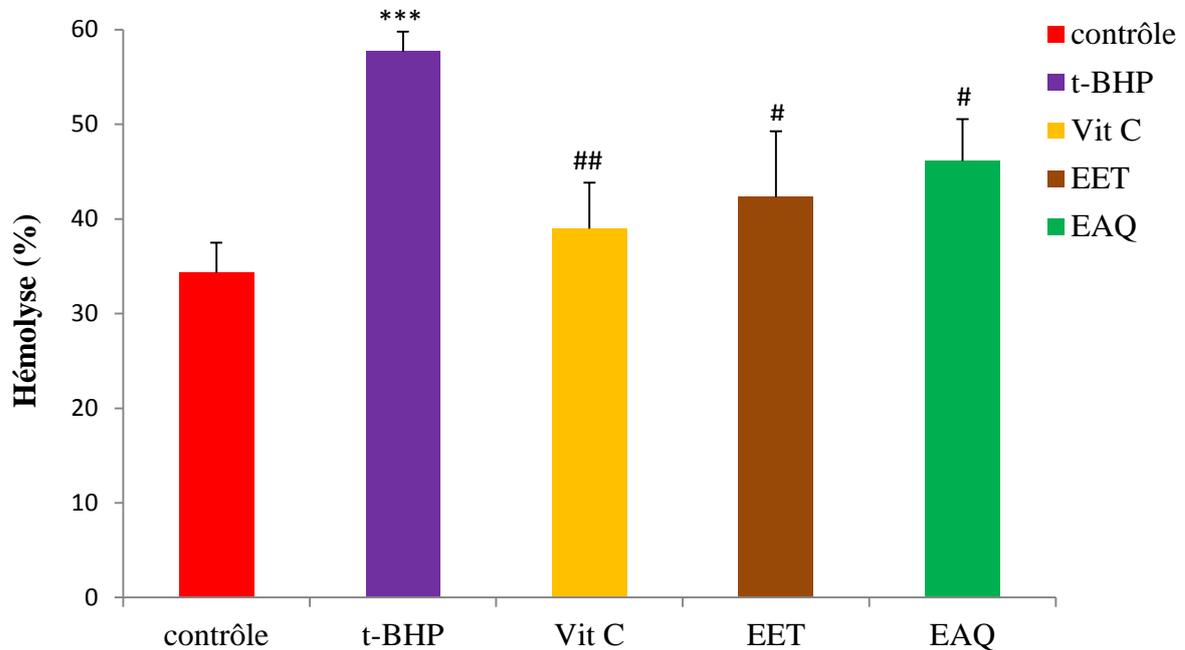


Figure 19. Effet anti-hémolytique des extraits EAq et EEt d'*Urginea maritima* sur l'hémolyse oxydative induite par le t-BHP exprimé en pourcentage d'hémolyse (500µM). * par rapport au contrôle ; # par rapport au t-BHP. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). ***/ ### p<0.001, (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple de Tukey).

En comparaison avec le contrôle, le taux d'hémolyse en présence de t-BHP seul est très élevé (p<0,001), tandis que ce taux est faiblement et non significatif augmenté en présence de Vit C, EAq et EEt couplés avec t-BHP. Une diminution du taux d'hémolyse est marquée en présence de Vit C, EAq et EEt avec le t-BHP. Donc le taux d'hémolyse diminue significativement par rapport au contrôle t-BHP.

Les résultats sont éclaircis par le calcul des pourcentages d'inhibition de l'hémolyse. Les valeurs illustrées dans le **tableau 07** indiquent que la Vit C est le meilleur inhibiteur d'hémolyse avec 76,91% d'inhibition, entraînant un retardement d'hémolyse très significatif (p<0,001) comparant au t-BHP (33,94%). D'autre part, les extraits testés (EAq et EEt) sont dotés d'une activité anti-hémolytique remarquable (71,43% et 69,68%,

respectivement). Statistiquement, il n'existe pas de différence significative entre l'activité anti-hémolytique exercée par les extraits et celle de la Vit C, mais elle est significativement supérieure à celle du t-BHP.

Tableau 07. Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse exercé par les extraits EAq et EEt d'*Urginea maritima*, Vit C induit par t-BHP (500µM).

Echantillon	% d'inhibition d'hémolyse
Contrôle	97,33 ± 6,17
t-BHP	33,94 ± 3,21 ***
Vit C	76,91 ± 12,94 * ###
EAq	71,43 ± 2,92 ** ## ns
EEt	69,68 ± 10,80 ** ## ns

Chaque valeur est la moyenne ± SD (n=3). * en comparaison avec le contrôle, # en comparaison avec le t-BHP, ^{ns} en comparaison avec la Vit C. ***/### p < 0.001, (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple de Tukey).

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant, en raison de leur facilité d'isolement, leur simplicité, la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en hémoglobine. Ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs. Quand les antioxydants seront consommés, les radicaux libres agiront alors sur les parois des érythrocytes entraînant alors leur éclatement. S'il y'a dans le milieu des composés à activité anti-oxydante, l'hémolyse sera logiquement retardée (Arbos et al., 2008).

Le t-BHP est un oxydant utilisé généralement pour l'étude *in vitro* de l'oxydation de la membrane. Dans l'érythrocyte, le t-BHP augmente la perméabilité membranaire aux sucres de faible poids moléculaire et cause la déformabilité cellulaire (Liu et al., 2002). La décomposition thermique du t-BHP produit un radical libre qui attaque les érythrocytes. Cette attaque provoque l'oxydation de la chaîne des lipides polyinsaturés et des protéines ce qui provoque la peroxydation lipidique et donc la perturbation de l'organisation membranaire et finalement l'hémolyse (Abirami et al., 2014 ; Kumar et al., 2015).

La présence d'une substance antioxydante dans le milieu va retarder ce phénomène en protégeant les érythrocytes contre l'agression des radicaux libres. Il existe plusieurs

antioxydants tels que la vitamine E, la vitamine C et les flavonoïdes qui inhibent l'hémolyse (Tabart et *al.*, 2009). Cela explique l'activité anti-hémolytique puissante de la Vit C dans la présente étude qui dû principalement à l'effet scavenger des radicaux libérés par le t-BHP. Ce rôle antioxydant de la vitamine C vient de ses propriétés réductrices.

L'activité anti-hémolytique exercée par les extraits aqueux et éthanolique des fleurs d'*Urginea maritima* est probablement liée avec leurs teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Ces résultats ont été confirmés par de nombreuses études qui ont montré que les composés phénoliques ont la capacité d'améliorer la résistance des globules rouges sanguins au stress oxydatif *in vitro* et elles ont accordé cette activité à leurs groupements hydroxyles aromatiques qui piègent activement les radicaux libres et sont responsables de l'activité antioxydante (Nithiyantham et *al.*, 2013 ; Trabsa et *al.*, 2014 ; Ameni et *al.*, 2015 ; Zerargui et *al.*, 2015).

En effet, Sowndhararajan et ses collaborateurs (2011) ont montré que dans le modèle d'hémolyse *in vitro*, les composés phénoliques présents dans la suspension érythrocytaire et provenant des extraits, vont bloquer la chaîne de propagation des radicaux peroxydes dans la phase aqueuse en piégeant ces radicaux avant qu'ils attaquent les lipides de la membrane érythrocytaire, et par ce fait, ils vont arrêter et inhiber ou retarder l'hémolyse. Ainsi, plusieurs études ont suggéré ainsi que les flavonoïdes protègent les cellules, non seulement par le piégeage des radicaux libres, mais aussi en modifiant les propriétés de la membrane cellulaire (Suwalsky et *al.*, 2007 ; Singh et Rajini, 2008).

Conclusion

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus de l'espèce *Urginea maritima* selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH, de la réduction du fer, du blanchissement du β -carotène et celle de l'activité anti-hémolytique a montré que les deux extraits éthanolique et aqueux possèdent une activité antioxydante plus ou moins importante *in vitro*. Ils exercent une certaine inhibition *vis-à-vis* du radical DPPH, un remarquable pouvoir réducteur et effet inhibiteur de la peroxydation lipidique, en outre, seul l'extrait aqueux a montré une activité anti-hémolytique contre l'hémolyse oxydative induite par le t-BHP.

Par ailleurs, les résultats de notre étude montrent que les deux extraits sont riches en composés phénoliques avec la prédominance de ces derniers dans l'extrait aqueux en raison de leurs solubilités plus élevées dans l'eau. On conclut qu'il y a une forte relation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante. Alors cette corrélation confirme que l'activité antioxydante des extraits étudiés est due principalement à leur composition phénolique, et ça puissants donneuse de proton dans les plantes.

Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier, isoler et purifier ces constituants, aussi pour un bon rendement, il est souhaitable de poursuivre ce travail pour déterminer les conditions idéales de séchage et de conservation des fleurs d'*Urginea maritima*.

D'autres études concernant la confirmation de la capacité antioxydante d'*Urginea maritima* notamment *in vivo* sont nécessaires pour obtenir une vue précise sur l'activité antioxydante de la plante.

Références bibliographiques

- Ababsa Z (2009). Caractérisation pharmacotoxicologique et étude phytochimique de *Centaurea dimorpha*. Thèse de magistère. Université Mentouri (Constantine, Algérie).
- Abirami A, Nagarani G, & Siddhuraju P (2014). In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinaseinhibitorypotential of fresh juice from Citrus hystrix and C. maxima fruits. *Food science and human wellness*, 3: 16-25.
- Adamsa M, Bersata C, Kesslerb M, & Hamburgeram (2009).-Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders - A survey of European herbals from the 16th and 17th century. *Journal of ethnopharmacology*, 121: 343-359.
- Albano SM & Miguel MG (2010). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial crops and products*, 1-6.
- Ali NAA, Julish WD, Kusunick C, & Lindesquist U (2001). Screening of Yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of enthnopharmacology*, 74: 173-179.
- Amarowicz R, Estrella I, Hernández T, Robredo S, TEROzynska A, Kosinska A, & Pegg RB (2010). Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food chemistry*, 121: 705-711.
- Al-Gubory KH, Fowler PA, & Garrel C (2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *International journal of biochemistry and cell biology*, 42: 1634-1650.
- Ameni Dj, Baghiani A, Boumerfeg S, Dahamna S, Khennouf S, Abu Zarga MH, & Arrar L (2015). Phytochemical profiles, antioxidant capacity and protective effect against AAPH-induced mouse erythrocyte damage by *Daphne Gnidium* L. Shoots extracts. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 7: 148-156.
- Amri O, Elguiche R, Tahrouch S, Zekhnini A, & Hatimi A (2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 7: 672-678.
- Andrade P, Ferreres F, Gil M, & Tomás-Barberán F (1997). Determination of phenolic compounds in honeyswithdifferent floral origin by capillary zone electrophoresis. *Food chemistry*, 60: 79-84.
- Arbos KA, Claro LM, Borges L, Santos CAM, & Weffort-Santos AM (2008). Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition research*, 3: 28-36.

- Aruoma OI, (1994). Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and chemical toxicology*, 32: 671-683.
- Aslan A, Güllüce M, Sökmen M, Adigüzel A, Sahin F, & Özkan H (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Everinia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmacological biology*, 44: 247-252.
- Auberval N (2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat, Ecole doctorales des sciences, université de Strasbourg.
- Aurousseau B (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquence sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs production, *Animal product*, 15: 67-82.
- Baghiani A, Ameni Dj, Boumerfeg S, Adjadj M, Djarmouni M, Charef N, Khennouf S, & Arrar L (2012). Studies of antioxidants and xanthine oxidase inhibitory potentials of root and aerial parts of medicinal plant capparid Spinosa L. *American journal of medicine and medical sciences*, 2: 25-32.
- Baghiani A, Boumerfeg S, Belkhiri F, Khennouf S, Charef N, Harzallah D, Arrar L, & Abdel-Wahhab MA (2010). Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata scientiae*, 1: 128-136.
- Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M, & Gazin M (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Drug Research*, 1-6.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S (2006). Nutritional and clinical methods, phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99: 191-203.
- Baratli Y (2015). Etude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe₃O₄) chez le rat : Analyses mitochondriales du stress oxydant. Thèse de doctorat. Spécialité Physiologie animal. Université de Starnsbourg et Univeristé de Cartage.
- Bartosz G (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on toxicology*, 9: 5-21.
- Batesmith EC (1973). *Phytochem*, 12: 907-912.

- Bationo F, Savadogo A, Kabore D, Ouattara L, Ouedraogo H G, Savadogo B & Traore A (2015). Storage influence on beta-carotene and alpha-tocopherol contents of solar-dried *Spirulina platensis* (Spirulina). *African journal of food Science*, 9: 546-554.
- Battandier JA (1893). Trabut: Flore de l'Algerie. Monocotyledones. Typographie Adolphe Jourdan (Alger).
- Baudin B (2006). Oxidative stress and cardiovascular pathology. *Medecine thérapeutique cardio-logie*, 2: 43-52.
- Belhaddad OE, Charef N, Ammamra S, Zerargui F, Baghiani A, Khennouf S, & Arrar L (2017). Chromatographic fractionation, antioxidant and antibacterial activities of *Urginea maritima* methanolic extract. Pakistan. *Journal of pharmaceutical sciences*, 30 : 127-134.
- Bellakhdar J (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Editions Le Fennec, Casablanca. 764 pp: Ibis Press.
- Benkhighe O, Zidane L, Fadli M, Elyacoubi H, Rochdi A, & Douira A (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta botanica barcinonensia*, 53 : 191-216.
- Blumenthal M, Gruewald J, Hall T, Riggins C, & Rister R (1998). The complete German Commission E. Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Austin, TX: *American Botanical Society*.
- Bouchouka E (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Bougandoura N & Bendimerad N (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Revue nature & technologie*.
- Bougatef A, Hajji M, Balti R, Lassoued I, Triki-Ellouz Y, & Nasri M (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry*, 114 : 1198-1205.
- Bouguerne B (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologique vis-à-vis des maladies cardiovasculaire (athérosclérose). Thèse de doctorat. Spécialité Chimie, Biologie & Santé. Université de Toulouse. paulsabatier.

- Boulekbache Makhlof L, Slimani S, & Madani Kh (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial crops and products*, 41: 85-89.
- Bruneton J (1996). Poisonous Plants. In: Plants dangerous to humans and animals .Tec & Doc Lavoisier (Paris), p: 529.
- Bruneton J (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} ed. Tec & Doc (Paris), pp: 575.
- Bubonja-Sonje M, Giacometti J, & Abram M (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food chemistry*, 127: 1821-1827.
- Burits M & Bucar F (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14: 323-328.
- Cano N, Barnoud D, Schneider SM, Vasson MP, Hasselmann M & Leverve X (2007). Traité de nutrition artificielle de l'adulte. 17^{ème} ed, pp : 1189.
- Charnay P, Tourmeau J (2007). Petit Futé Guide pratique de la Dégustation. 1^{ère} ed (PGA). Lavoisier (Paris), pp : 235.
- Chung YC, Chen SJ, Hsu CK, Chang CT, & Chou ST. (2005). Studies on the paraguayense. *Food chemistry*, 91: 419-424.
- Cogne AL, Marston A, Mavi S, & Hostettmann K (2001). Study of two plants used in traditional medicine in Zimbabwe for skin problems and rheumatism: *Dioscora sylvatica* and *Urginea altissima*. *Journal of ethnopharmacology*, 75: 51-53.
- Conrad J, Vogler B, Klaiber I, Roos G, Walter U, & Kraus W (1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry*, 48: 647-650.
- Cuenod A, Pottier-Alapetite G, Labbe A, (1954). Flore de la Tunisie. Cryptogames Vasculaires, Gymnospermes et Monocotyledones. Editeur Stefan, Tunis.
- Dafni A, Shmida A, & Avishai M (1981). Leafless autumnal-flowering geophytes in the Mediterranean region, phytogeographical, ecological and evolutionary aspects. *Plant systematics and evolution*, 137: 181-193.
- Daoudi A, Bammou M, Haloui Z, Ibijbijen J, & Nassiri L (2017). Activité antifongique des extraits aqueux de *Calendula officinalis* L, *Urginea maritima* (L.) Baker et *Chenopodium ambrosioides* L. *European scientific journal*, 13 :1857-7881.

- De-Pooter HL & Schamp N (1986). Comparaison of the volatils composition of some Calamintha satureja species. In : Progress in essential oil research. 1^{ère} ed. J. Brunk, Walter De Gruyter (Berlin), 139-150.
- Deepak A, Thippeswamy G, Shivakameshwari M, & Salimath BP (2003). Isolation and characterization of a 29-kDa glycoprotein with antifungal activity from bulbs of *Urginea indica*. *Biochemical and biophysical research communications*, 311 : 735-742.
- Demirtas I, Erenler R, Elmastas M, & Goktasoglu A (2013). Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. *Foodchemistry*, 136: 34-40.
- Durackova Z, Djrolo F, Hougbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N, & Avimadj M (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In: Mitochondrial medicine. 1^{ère} ed. Gvozdjakova A. pp: 19-4.
- El Hafian M, Benlandini N, Elyacoubi H, Zidane L, & Rochdi A (2014). Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 81: 7198-7213.
- Epifano F, Genovese S, Menghini L, & Curini M (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Review phytochemistry*, 68 : 939- 953.
- Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, & Abdelly C (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*, 331 : 372-379.
- Favier A (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique*, 55 : 9 - 16.
- Fernandez M, Vega FA, Arrupe T, & Renedo J (1972). Flavonoids of squill, *Urginea maritima*. *Phytochemistry*, 11: 1534.
- Ferreira D, Slade D, & Marais JPI (2006). Flavans and Proanthocyanidins In: Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications, *CRC Press, Boca Raton*, 553-616.
- Gardès-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Z, & Jore D (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- Gazengel JM & Orecchioni AM (2013). Le préparateur en pharmacie. Guide théorique et pratique. 2^{ème} ed. Lavoisier (Paris), pp: 374.

- Georgé S, Brat P, Alter P, & Amiot JM (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 1370-1373.
- Grive M (2011). Squill. *A modern Herbal*. (<https://botanical.com>).
- Guettaf S, Abidli N, Kariche S, Bellebcir L, & Bouriche H (2016). Screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur). *Phytochemical pharmacia lettre* 8 : 50-60.
- Gulcin I, Huyut Z, Elmastas M, & Aboul-Enein H Y (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian journal of chemistry*, 3 : 43-53.
- Halliwell B (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for anti oxidant treatment. *Drugs Aging*, 18: 685-716.
- Halliwell B (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions*, 35: 1147-1150.
- Halliwell B (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 476: 107–112.
- Himed H (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune. Thèse de magister. Université Mentouri (Canstantine, Algerie).
- Hmamouchi M (1999). Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions FEDALA (Rabat), p: 389.
- Jarjes Z, Mahmood A, Sallo A, & Ibrahim H (2016). Identification of some chemical constituents and antibacterial activity of *Urigea maritima* (L.) extracts from Kurdistan Region, Bozan area, Alqosh. *The official scientific journal of salahaddin University-Erbil*, 6 : 122-131.
- Jones WP, & Kinghorn AD (2005). Extraction of plant secondary metabolites. *In* : Natural products isolation. Humana Press (Totowa), pp: 323-411.
- Kamatou GPP (2006). Indigenous salvia species – an investigation of their pharmacological activities and Phytochemistry. Thèse doctorat en philosophie. Faculté des sciences de la santé, Université du Witwatersrand, Johannesburg.
- Kamra D, Agarwal N, & Chaudhary L (2006). Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. Elsevier. p 156-163.

- Khababae K & Ree TV (2001). Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep.*, 18: 641–649.
- Kopp B, Krenn L, Draxler M, Hoyer A, Terkola R, Vallaster P, & Robien W (1996). Bufadienolides from *Urginea maritima* from Egypt. *Phytochemistry*, 42: 513-522.
- Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, Trabelsi N, Mhamdi B, Chaieb K, Bakrouf A, Magné C, & Abdelly C (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and chemical toxicology*, 47 : 2083-2091.
- Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh H, Grignon C, & Abdelly C (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*.
- Kumar S & Pandey AK (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Hindawi the scientific world journal*, (ID: 162750): 1-16.
- Kumarappan CT, Thilagam E, & Mandal SC (2012) Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichnocarpus frutescens*. *Saudi journal of biological sciences*, 19: 349-355.
- Le K, Chiu F, & Ng K (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food chemistry*, **105**, 353-363.
- Lehucher M MP, Lesgards JF, Delubac O, Stocker P, Durand P, & Prost M (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse medicale*, 30: 1076- 1081.
- Leifert WR & Abeywardena MY (2008). Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition research*, 28 : 729- 737.
- Levasseur-Garcia C, Kleiber D, & Surel O (2013). Utilisation de la spectroscopie infrarouge comme élément d'aide à la décision pour la gestion du risque fongique et mycotoxique. *Cahiers agricultures*, 22 : 216-227.
- Li H, Wang X, Li Y, Li P, & Wang H (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food chemistry*, 112 : 454-460.
- Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, & Jiang Y (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102: 771-776.

- Liu J, Jia L, Kan J, & Jin CH (2013). In vitro and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and chemical toxicology*, 51: 310-316.
- Liu Z, Han K, Lin Y, & Luo X (2002). Antioxidative or prooxidative effect of 4-hydroxyquinoline derivatives on free-radical-initiated hemolysis of erythrocytes is due to its distributive status. *Biochimica et biophysica acta*, 29 : 1570-1576.
- Liyana-Pathirana CM, & Shahidi F (2006). Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the science of food and agriculture*, 86: 477-485.
- Locatelli M, Travaglia F, Coisson JD, Martelli A, Stevigny C, & Arlorio M (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola Piemonte* PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*, 119: 1647-1655.
- Machlin LJ & Bendich A. (1987) Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB journal*, 1(6): 441-445.
- Magalhães L, Ramos I, Reis S, & Segundo M (2014). Antioxidant profile of commercial oenological tannins determined by multiple chemical assays. *Australian journal of grape and wine research*, 20: 72-79.
- Majhenic L, Kerget MS, & Knez Z (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food chemistry*, 104 :1258–1268.
- Makhlouf M (1978). Quelques monocotylédons et dicotylédones toxiques en Tunisie. Thèse de Doctorat Vet. Toulouse, France.
- Makhloufi A (2013). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah (Ouragla, Algérie).
- Malešev D & Kuntić V (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complex reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72: 921-939.
- Mammadov R, Makasçı-Afacan A, Uysal-Demir D, & Görk Ç (2010). Determination of antioxidant activities of different *Urginea maritima* (L.) Baker plant extracts. *Iranian journal of chemistry and chemical engineering*, 29: 47-53.

- Manolaraki F (2011). Propriétés anthelminthiques du sainfoin (*Onobrychisviciifoliae*): Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Martin S & Andriantsitohaina R (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51: 304-315.
- Maurya PK, Noto C, Rizzo LB, Rios AC, Nunes SOV, Barbosa DS, Sethi S, Zeni M, Mansur RB, Maes M, & Brietzke E (2016). The role of oxidative and nitrosative stress in accelerated aging and major depressive disorder. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 65: 134-144.
- Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou LA, Watcho P, & Nguelefack TB (2011). Analgesic and anti-inflammatory properties of extracts from the bulbils of *dioscorea bulbifera* L. var *sativa* (Dioscoreaceae) in mice and rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 1-9.
- Mehdioui R & Kahouadji A (2007). Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène: cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). *Bulletin de l'Institut scientifique, Rabat, section Sciences de la vie*, 29 :11-20.
- Merad R (1991). *Scilla maritima* L. Baker. (<http://www.inchem.org>).
- Middleton EJr, Kandaswami C, & Theoharides TC (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52: 673-751.
- Miller HE (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of american oil chemists' society*, 48: 91.
- Molino S, Dossena M, Buonocore D, Ferrari F, Venturini L, Ricevuti G, & Verri M (2016). Polyphenols in dementia: From molecular basis to clinical trials. *Life sciences*, 161: 69-77.
- Montagnier L, Olivier R & Pasquier C (1998). Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative diseases. *Free radical biology and medicine*, 22: 359-378.
- Mueller-Harvey I (2001). Analysis of hydrolysable tannins. *Animal feed science .technology*, 91: 3-20.

- Nithiyanantham S, Siddhuraju P, & Francis G (2013). A promising approach to enhance the total phenolic content and antioxidant activity of raw and processed *Jatropha curcas* L. kernel meal extracts. *Industrial crops and products*, 43: 261-269.
- Ozen T (2009). Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts. *Acta poloniae pharmaceutica-drug research*, 66: 187-193.
- Ozen T, Demirtas I, & Aksit H (2011). Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*. *Food chemistry*, 124 : 58-64.
- Panduranga murthy G, Mamtharani DR, Tejas TS, & Nirnjan M (2011). Phytochemical analysis, in vitro ,anti bacterial and antioxidant activities of wild onion sps. *International journal of pharma and bioscience*, 2 : 230-237.
- Pascual-Villalobos MJ & Fernandez M (1999). Insecticidal activity of ethanolic extracts of *Urginea maritima* (L.) Baker bulbs. *Industrial Crops and Products*, 10: 115-120.
- Perron NR, García CR, Pinzón JR, Chaur MN, & Brumaghim JL (2011). Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *Journal of inorganic biochemistry*, 105: 745–753.
- Pincemail J & Defraigne J (1999). Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Presented at Symposium «antioxydants et alimentation». *Institut Danone* (Bruxelles).
- Piquet M A , et Hébuterne X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. 1^{ère}ed, p: 16-20.
- Pisoschi AM & Pop A (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97: 55-74.
- Popovici C, Saykova I, & Tylkowski B (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue du génie industriel*, 4: 26-39.
- Que F, Mao L, & Pan X (2006). Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food research international*, 39 : 581-587.
- Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasiah U, Gopas J, & Nishigaki I (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinical chemical acta*, 436: 332-347.

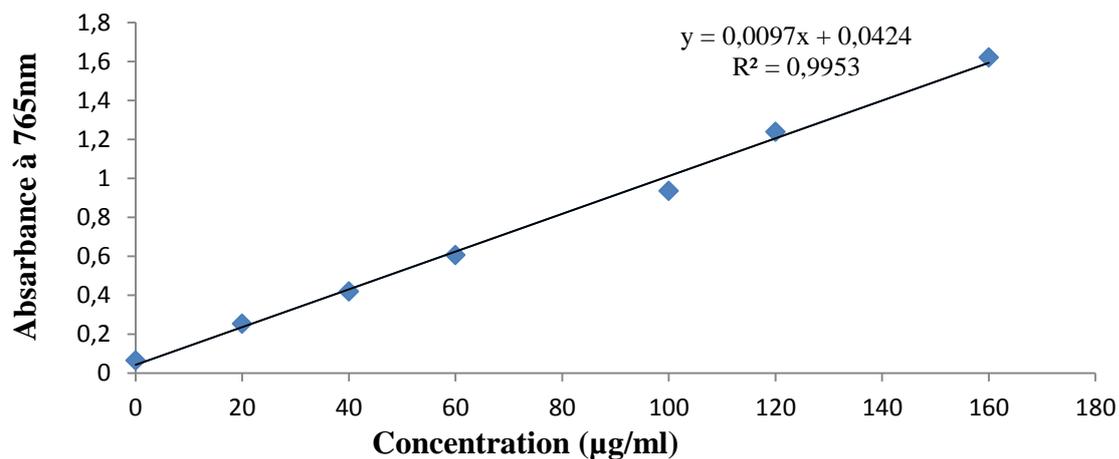
- Ramassamy C (2006). Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *European journal of pharmacology*, 545: 51- 64.
- Rao SP, Kalva S, Yerramilli A, & Mamidi S (2011). Free radicals and tissue damage: role of antioxidants. *Free radicals and antioxidants*, 1: 2-7.
- Rastija V, & Medic-Saric M (2009). QSAR study of antioxidant activity of wine polyphenols. *European journal of medicinal chemistry*, 44: 400-408.
- Rice-Evans C, Miller N & Paganga G (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2: 152-159.
- Royer M, Houde R, Viano Y, & Stevanovic, T (2012). Non-wood forest products based on extractives-a new opportunity for the Canadian forest industry part 1: hardwood forest species. *Journal of food research*, 1: 8.
- Schofield P, Mbugua DM, & Pell AN (2001). Analysis of condensed tannins. *Animal feed science technology*, 91: 21-40.
- Seidel V (2005). Initial and bulk extraction. *In: Natural products isolation*. Humana Press (Totowa), pp: 27-37.
- Sharaf AT, Sawidis T, Diannelidis BE, & Delivopoulos S(2006). Anatomical studies on the adventitious roots of the geophyte *Urginea maritima (L.) Baker*. *Journal of biological research*, 5: 61-70.
- Shiva kameshwari MN, A. Bijul Lakshman A, & Paramasivam G (2012). Biosystematics studies on medicinal plant *Urginea indica* Kunth.liliaceae. *A review international journal of pharmacy & life science*, 3: 1394-1406.
- Singh N & Rajini PS (2008). Antioxidant-mediated protective effect of potato peel extract in erythrocytes against oxidative damage. *Chemico-biological interactions*, 173: 97-104.
- Siti HN, Kamisah Y, & Kamsiah J (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease: a review. *Vascular pharmacology*, 71: 40-56.
- Smith A, Shenvi M, Widlansky J, Suhett T & Hagen (2004). Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 11: 1135-1146.

- Sowndhararajan K, Siddhuraju P, & Manian S (2011). Antioxidant and free radical scavenging capacity of the underutilized legume, *Vigna vexillata* (L.) A. Rich. *Journal of food composition and analysis*, 24: 160-165.
- Spector R & Johanson CE (2014). The nexus of vitamin, homeostasis and DNA synthesis and modification in mammalian brain. *Molecular Brain*, 7: 1-9
- Spies T, Praznik W, Hofinger A, Altmann F, Nitsch E, & Wutka R (1992). The structure of the fructant sinistrin from *Urginea maritima*. *Carbohydrate research*, 235:221-230.
- Stagos D, Portesis N, Spanou C, Mossialos D, Aligiannis N, & Chaita E (2012). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and chemical toxicology*, 50: 4115-4124.
- Steinhill A (1834). Note sur le genre *Urginea* Nouvelle forme dans la famille de Liliaes-ann. *Science naturelle botanique*, 1: 321-332.
- Su X, Duan J, Jian Y, & Shi J Kakuda Y (2006). Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *Journal of food composition and analysis*, 19: 348-353.
- Sung CC, Hsu YC, Chen CC, Lin YF, & Wu CC. (2013) Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease. *Hindawi publishing corporation, oxidative medicine and cellular longevity*, 2013, (ID: 301982) : 1-15.
- Suwalsky M, Orellana P, Avello M, & Villena F (2007). Protective effect of *Ugni molinae* Turcz against oxidative damage of human erythrocytes. *Food and chemical toxicology*, 45: 130-135.
- Tabart J, Kevers C, Pinc J, Defraigne JO, & Dommesa J (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food chemistry*, 113: 113-118.
- Takebayashi J, Chen J, & Tai A (2010). A method for evaluation of antioxidant activity based on inhibition of free radical-induced erythrocyte hemolysis. *Advanced protocols in oxidative stress II*, 594: 287-296.
- Tan MC, Tan CP, & Ho CW (2013). Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International food research journal*, 20: 3117-3123.
- Tawfeeq JD1 Akrayi HF (2012). Antibacterial activity of *Lepidium sativum* and *Allium porrum* extracts and juices against some gram positive and gram negative bacteria. *Medical journal of Islamic world academy of sciences*, 20: 10-16.

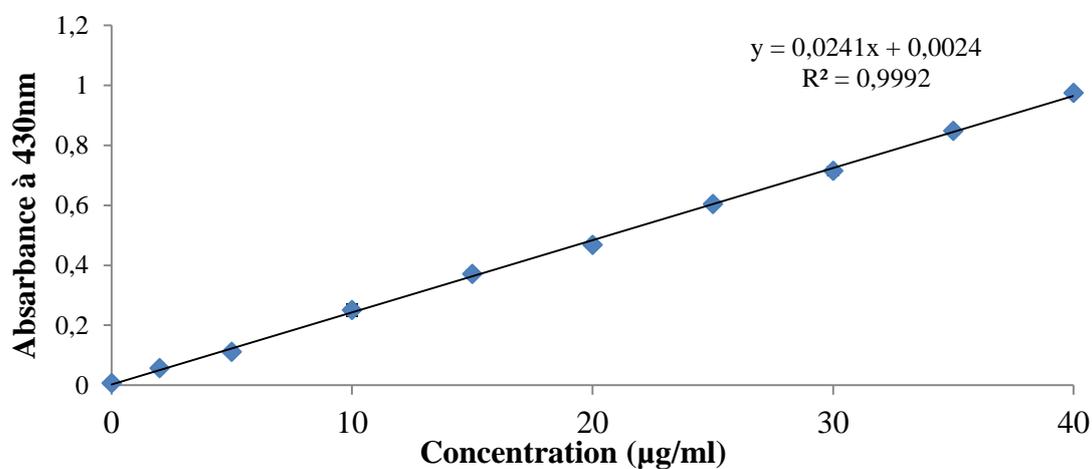
- Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, & Polissiou M (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90: 333-340.
- Trabsa H, Boumarfegue S, Baghiani A, Boussoualim N, Krache I, Khennouf S, & Arrar L (2014). Anti-Haemolytic, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory effect of *Sedum Sediforme* shoot extracts. *International journal of indigenous medicinal plants*, 47: 1502-1510.
- Truelle A (2009). Scille maritime. *Le jardin familial des plantes médicinales*. (http://www.gloubik.info/sciences/spip.php/article_a91.pdf).
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M.T.D, Mazur M & Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of biochemistry and cell biology*, 39: 44-84.
- Vincent AM, Russell JW, Low P & Feldman EL (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25: 612-628.
- Wang Y, Chun OK, & Song WO (2013). Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: a review of human studies. *Nutrients*, 5: 2969-3004.
- Weidinger A & Kozlov AV (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5: 472-84.
- Weiguang Y, Joan F, & Casimir CA (2005). Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics in vitro. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 8804- 8812.
- Winterbourn CC (2015). Are free radicals involved in thiol based redox signaling?. *Free radical biology and medicine*, 80: 164-170.
- Wu JQ, Kosten TR, & Zhang XY, (2013), Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 46: 200-206.
- Zerargui F, Boumerfeg S, Charef N, Baghiani A, Djarmouni M, Khennouf S, Arrar L, Abu Zarga M, & Mohammad (2015). Antioxidant potentials and xanthine oxidase inhibitory effect of two furanocoumarins isolated from *Tamus communis* L. *Medicinal chemistry*, 11: 506-513.
- Zhao HX, Zhang HS, & Yang SF (2014). Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food science and human wellness*, 3: 183-190.

Zou YP, Lu YH, & Wei DZ (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 : 5032-5039.

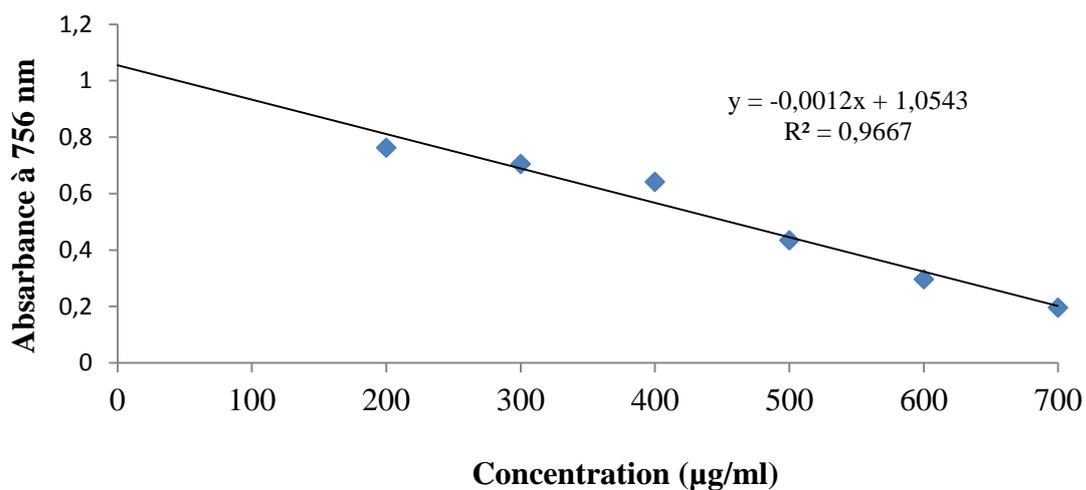
Annexes



Annexe 01. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



Annexe 02. La courbe d'étalonnage de la quercetine



Annexe 03. La courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

Réalisée par :
BOUHADJEB Aziza
BOUZAOUT Selma

Encadré par : M^{me} REZZAGUI Abir
Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel
Année universitaire 2017/2018

Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits des fleurs d'*Urginea maritima*

Résumé

Urginea maritima, est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter une variété de troubles. Ce travail de recherche a été consacré à l'étude de la teneur en composée phénolique, et de l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits des fleurs d'*Urginea maritima*. La quantification des polyphénols totaux par des méthodes colorimétriques dans les deux extraits EEt et EAq a donné des teneurs très importantes notamment dans l'extrait aqueuse ($54,73 \pm 1,62$ mg EAG/g d'extrait) que l'extrait éthanolique ($40,91 \pm 0,59$ mg EAG/g d'extrait). A l'issue des tests d'activité antioxydante *in vitro*, nos résultats montrent que les deux extraits EAq et EEt sont dotés d'un pouvoir antioxydant important. Les deux extraits EAq et EEt montrent un effet scavenger puissant du radical DPPH avec des IC₅₀ de 163,08µg/ml et 243,36µg/ml pour l'EAq et EEt, respectivement. Aussi, les deux extraits ont exhibé un pouvoir réducteur remarquable avec des EC₅₀ de 179,12µg/ml et 186,81µg/ml pour l'extrait EAq et EEt, respectivement. Concernant l'oxydation du β-carotène les extraits inhibent efficacement le blanchissement de la β-carotène. Dans le système cellulaire, les deux extraits dévoilent un effet protecteur contre l'hémolyse induite par le t-BHP, l'extrait le plus effectif était l'extrait EAq avec un pourcentage d'inhibition de 71,43 %. Ensemble, ces résultats indiquent que les deux extraits représentent une source prometteuse d'agents antioxydants.

Mots clés : *Urginea mairtima*, activité antioxydant, DPPH, β-carotène, pouvoir réducteur, anti-hémolytique.

Abstract

Urginea maritima, is one of the most important plants used in Algerian phytotherapy to cure a lot of disorders. The aim of this study is to evaluate the total polyphenol content, and the antioxidant properties of *Urginea maritima* flower's extracts. The quantification of total polyphenols in both EEt and EAq extracts yielded very high levels; especially in the aqueous extract (54.73 ± 1.62 mg EAG / g of extract) when compared to the EEt extract (40.91 ± 0.59 mg EAG / g extract). For the antioxidant activity of the extracts, DPPH assay, reducing power activity, β-carotene bleaching assay and anti-hemolytic activity were applied. At the end of the *in vitro* study, our results showed that the two extracts have an important antioxidant power. In DPPH assay, EAq and EEt showed a very powerful scavenger effect for DPPH with IC₅₀ of 163.08µg/ml for the aqueous extract and 243.36µg/ml for the ethanolic extract. Also, EAq and EEt extracts exhibited strong reducing power of iron, thus marking EC₅₀ of 179.12 µg/ml for the EAq extract and 186.81µg/ml for the EEt extract. They also inhibited the oxidation of β-carotene with high inhibition percentage: 71.26% and 71.02% for the aqueous and ethanolic extract, respectively. Concerning the cellular system, the two extracts reveal an effective protective effect against t-BHP induced hemolysis. The most effective extracts was EAq extract, which is significantly decreased hemolysis with a percentage of 71.43%. This effect is stronger than that of the extract EEt. Globally, our results show that both extracts represent a promising source of molecules with antioxidant activities.

Keywords: *Urginea mairtima*, antioxidant activity, DPPH, β-carotene, reducing power, antihemolytic activity

المخلص

تعتبر نبتة العنصل (*Urginea mairtima*) إحدى أهم النباتات المستعملة في الطب التقليدي الجزائري نظرا لفعاليتها في علاج العديد من الأمراض. تم تخصيص هذا البحث لدراسة محتوى مستخلصات زهور *Urginea mairtima* من المركبات الفينولية، وتقييم خصائصها المضادة للأكسدة. أعطى التقدير الكمي لعديدات الفينول، الفلافونيدات والتانينات بالطرق اللونية في كل من المستخلصات الإيثانولية والمائية مستويات مهمة للغاية، خاصة في المستخلص المائي، حيث أن المستخلص المائي هو الأكثر ثراء بعديدات الفينول (54.73 ± 1.62 مغ مكافئ حمض الغاليك / غ من الوزن الجاف) من المستخلص الإيثانولي (40.91 ± 0.59 مغ مكافئ حمض الغاليك / غ من الوزن الجاف). من أجل توضيح أفضل للتأثير المضاد للأكسدة للمستخلصين من خلال تفاعلاتها كعوامل أرجاعية كخالب للمعادن، التأثير التثبيطي فوق أكسدة الليبيدات وكعامل مضاد للإنحلال الدموي قد تم تطبيق الطرق التالية: DPPH ، pouvoir réducteur، ابيضاض جزينات β-carotène و النشاط المضاد لتحلل الدم. في نهاية اختبارات النشاط المضاد للأكسدة *in vitro* ، أظهرت النتائج أن المستخلصين لهما قدرة مضادة للأكسدة معتبرة. فإن لكل من المستخلصين EAq و EEt تأثير قوي في إزاحة جذر DPPH حيث كانت قيم الـ IC₅₀ 163,08 ميكروغرام/مل للمستخلص EAq و 243,36 ميكروغرام/مل للمستخلص EEt. أظهر أيضا كل من المستخلصين قدرة كبيرة في إرجاع الحديد حيث سجلت قيم الـ EC₅₀: 179,12 ميكروغرام/مل للمستخلص EAq و 186,81 ميكروغرام/مل للمستخلص EEt. كما تمكن المستخلصين من تثبيط أكسدة β-carotène التي سجلت 71,26% و 71,02% للمستخلص EAq و EEt على التوالي. فيما يخص النظام الخلوي، أظهر المستخلصين تأثيرًا وقائيًا ضد t-BHP المسبب لانحلال الدم، إلا أن المستخلص EAq هو الأكثر فعالية في انخفاض انحلال الدم بشكل ملحوظ. تظهر هذه النتائج أن كلا المستخلصين يمثلان مصدراً واعداً لمضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Urginea mairtima*، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، pouvoir réducteur، β-carotène، النشاط المضاد للتحلل.