



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد- الطارف

Université Chadli Bendjedid – El Tarf

كلية العلوم و التكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم الكيمياء

Département de Chimie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie Analytique

Thème

**Evaluation de l'activité Antioxydant d'une plante
médicinal (DAPHANE Gnidium)**

Présenté par:

BAKKOUCHE Hana

Devant le Jury :

Président : Dr BOUGHRARA Boudjmaa	MCB	Université Chadli Bendjedid EL TARF
Rapporteur : Dr ZERNIZ Nawal	MCB	Université Chadli Bendjedid EL TARF
Examinatrice : Dr MOKRANI Karima	MCB	Université Chadli Bendjedid EL TARF

Année Universitaire 2021-2022

Remerciements

Avant tout je remercie Allah qui m'a donné la force et la volonté pour réaliser ce travail de recherche scientifique.

Je remercie infiniment mon encadreur **Dr Zerniz Nawal** pour son aide et assistance précieuse, ses conseils et ses encouragements pendant la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à **DrBoughrara B** pour avoir accepté de présider mon jury du projet de fin d'étude.

Je remercie **Madame Moukrani k** d'avoir accepté d'examiner mon travail du projet de fin d'étude.

Je tiens à remercier également les enseignants du département.

Je tiens à remercier très sincèrement tous le personnel de laboratoire pédagogique (chimie) Université Chadli Bendjedid EL TARF et laboratoire de chimie de l'université Chadli Benjedid El-tarf (SNV). Particulièrement **Kherici soufiane** et **M badi y** qui m'a apporté leurs expériences pour me guider et me conseiller tout au long de cette étude.

Finalement, je remercie également tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail.

dédicace

*Je remercie, tout
d'abord, Dieu tout puissant De
m'avoir donné la force et le
Courage pour accomplir ce modeste
travail
que je dédie
A mes très cher parents SAID et
LAILA que j'aime
tant, sans lesquels je ne serai jamais
arrivée là où j'en suis.
A mes frères : ISMAIL, MOHAMED
AMIN,
NABIL ET MOURAD
À mon unique soeur ICHRAK.
Et toute ma famille.
A ma famille BEKKOUCHE,
A tous mes amies JOUHAI-
NA, CHAIMA, taina.
A mon oncle AZZDIN qui sans leur
encouragement ce travail n'aura
jamais
vu le jour.
A tous ceux que j'aime.*

Liste des figures

Figure 1 : Une variété de plante daphné garou.....	4
Figure 2: Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes.	8
Figure 3: Les poly-phénols.....	9
Figure 4 Structure chimique de base des flavonoïdes	10
Figure 5:Piégeage du radical DPPH [·] avec l'antioxydant.....	11
Figure 6: Oxydation de l'ABTS avec K ₂ S ₂ O ₈ et sa génération.....	12
Figure 7:Réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	13
Figure 8: Séchage à l'air libre de plante étudié daphné garou	19
Figure 9: Test des alcaloïdes	20
Figure 10: Test des saponosides	20
Figure 11 : Test des flavonoïdes	21
Figure 12: Test des tanins.....	21
Figure 13 : Les cardénolides	22
Figure 14: Test Les sterols	22
Figure 15:Test des huiles volatiles	23
Figure 16: Test des Anthocyane	23
Figure 17:Test des Quinones	24
Figure 18: Appareil BUCHI Rotavapor R-200 utilisé pour la condensation des extraits méthanolique	24
Figure 19:Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	25
Figure 20:Dosage des tanins	26
Figure 21:Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1picrylhydrazyl)	26
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine.....	30
Figure 23:Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	31
Figure 24: Courbe d'étalonnage de la solution de DPPH	33

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification systématique	5
Tableau 2 : Les principales classes de composés phénolique	9
Tableau 3 : Matériel et réactif utilisés	18
Tableau 4:Résultat des tests phytochimiques.....	29
Tableau 5: La teneur en tanins et flavonoïdes au niveau des feuilles de la plante de <i>Daphne gnidium</i> L.	32
Tableau 6: IC50 d'extraits méthanoïque et l'acide ascorbique	33

Table de matière

Remerciement

Dédicaces

Liste d'abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

Chapitre I : *Daphné gnidium* L.

I.	Présentation de la plante <i>Daphné gnidium</i>	3
I.1	Origine et historique du daphné garou:	3
I.2	Description botanique :.....	3
I.3	L'espèce <i>Daphne gnidium</i> . :.....	4
I.4	Utilisations :.....	5

Chapitre II : Les métabolite secondaire

II.	Les substances d'origine végétale.....	7
II.1	Les métabolites primaires:.....	7
II.2	Les métabolites secondaire.....	7
II.2.1	Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes:.....	8
II.2.2	Les poly-phénols:	8
II.2.3	Les acides phénoliques:.....	9
II.2.4	Les acides phénoliques:.....	10
II.2.5	Les flavonoïdes:	10
II.2.6	Les prospérités:	10
II.2.7	Activité antioxydant:	11
II.2.7.1	Définition.....	11
II.2.7.2	Les différents types d'antioxydants :.....	11
II.2.7.2.1	Méthode du DPPH'	11
II.2.7.2.2	Réduction du radical- cation ABTS ou détermination du TEAC : ...	12

II.2.7.2.3	Reduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power):.....	12
II.2.8	Protections cellulaires	13
II.2.9	Les Tannins:	14

Chapitre III :Matériels et méthodes

III.	Matériels et Méthodes	16
III.1	Présentation générale de l'espace Régional ;.....	16
III.1.1	Localisation géographique	16
III.1.2	La flore	17
III.1.3	La faune.....	17
III.2	Matériel et Méthode :	17
III.3	Préparation de la plante :	18
III.3.1	Récolte :.....	18
III.3.2	Séchage de la matière végétale :	18
III.3.3	Broyage et tamisage:	19
III.4	Screening phytochimiques :.....	19
III.4.1	Mise en évidence des alcaloïdes.....	19
III.4.2	Mise en évidence des saponosides (test de mousse)	20
III.4.3	Mise en évidence des flavonoïdes	20
III.4.4	Mise en évidence des tannins	21
III.4.5	Mise en évidence des cardénolides	21
III.4.6	Les stérols.....	22
III.4.7	Les huiles volatiles :	22
III.4.8	Anthocyanes:	23
III.4.9	Quinones.....	23
III.5	Extraction méthanoïque	24
III.6	Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	25
III.7	Dosage des tanins:	25

III.8	Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1picrylhydrazyl)	26
III.8.1	Calcul du pourcentage d'inhibition :	27
III.8.2	Calcul des IC ₅₀ :	27
IV.	Résultat et discussion	29

Chapitre IV :Résultats et discussion

IV.1	Interprétation du screening photochimique :	29
IV.2	Dosage des Flavonoïdes :	30
IV.3	Dosage des tanins :	31
IV.4	Test de DPPH	32
Conclusion	35
Références bibliographiques	37

Résumé :

Dans le cadre de la découverte des nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous avons intéressé dans ce travail à l'évaluation des teneurs en composés phénoliques et les propriétés antioxydants des extraits de plante **Daphné gnidium**.

Afin d'identifier les classes phytochimiques majoritaires présentes dans les feuilles ; nous avons eu recours à des tests phytochimiques par plusieurs méthodes qualitatives basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration à l'aide des réactifs spécifiques. Les résultats de ce screening phytochimique confirment la richesse de cette plante en: (Les alcaloïdes, Les saponosides (test de mousse), Les flavonoïdes, Les tannins, Les stérols, Huiles volatiles).

Et l'estimation de la quantité en flavonoïdes et tanins au niveau de l'extrait méthanoïque de plante (Daphné gnidium). La teneur en flavonoïde est **348.75 (µg/ml)**. La teneur en tanins est **0.092 (µg/ml)**.

L'activité antioxydant a été évaluée en utilisant la méthode de réduction de radical libre DPPH elle a été estimée à **94.17 µg/ml** contre **96.11 µg/ml** pour l'acide ascorbique des extraits méthanoïques (Daphné gnidium).

Mots clés : Daphné gnidium; activité antioxydant; flavonoïde, tanins.

ملخص

في إطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للأكسدة من المصادر الطبيعية كنا مهتمين في هذا العمل بتقييم كمية المركبات الفينولية والخصائص المضادة للأكسدة لمستخلص نبات دافني الجنيديوم

ومن أجل تحديد الفئات الكيميائية النباتية الرئيسية الموجودة في الأوراق ؛ قمنا باستخدام الاختبارات الكيميائية النباتية بالاعتماد على عدة طرق نوعية وهي الترسيب أو ظواهر التلوين باستخدام كواشف محددة. تؤكد نتائج هذا الفحص الكيميائي النباتي ثراء هذا النبات في: (قلويدات ، صابونوزيدات (اختبار الرغوة) ، مركبات الفلافونويد ، التانينات ، الستيروولات ، الزيوت الطيارة).

وتقدير كمية مركبات الفلافونويد والعفص في مستخلص نبات الميثانويك (Daphne gnidium). محتوى الفلافونويد هو 348.75 (ميكروغرام / مل). محتوى التانين هو 0.092 (ميكروغرام / مل).

تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة تقليل الجذور الحرة DPPH وتم تقديرها عند 94.17 ميكروغرام / مل مقابل 96.11 ميكروغرام / مل لحمض الأسكوربيك من مستخلص الميثانويك (Daphne gnidium)

الكلمات الرئيسية: دافني غنيديوم ؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ الفلافونويد والعفص

Summary :

As part of the discovery of new antioxidants from natural sources, we were interested in this work in the evaluation of the contents of phenolic compounds and the antioxidant properties of *Daphne gnidium* plant extracts.

In order to identify the major phytochemical classes present in the leaves; We used phytochemical tests using several qualitative methods based on precipitation or coloring phenomena using specific reagents. The results of this phytochemical screening confirm the richness of this plant in: (alkaloids, saponosides (foam test), flavonoids, tannins, sterols, volatile oils).

And the estimation of the quantity of flavonoids and tannins in the methanoic plant extract (*Daphne gnidium*). The flavonoid content is 348.75 ($\mu\text{g/ml}$). The tannin content is 0.092 ($\mu\text{g/ml}$).

The antioxidant activity was evaluated using the DPPH free radical reduction method and was estimated at 94.17 $\mu\text{g/ml}$ against 96.11 $\mu\text{g/ml}$ for the ascorbic acid of the methanoic extract (*Daphne gnidium*).

Keywords: *Daphne gnidium*; antioxidant activity; flavonoid, tannins.

Introduction:

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante.[1]

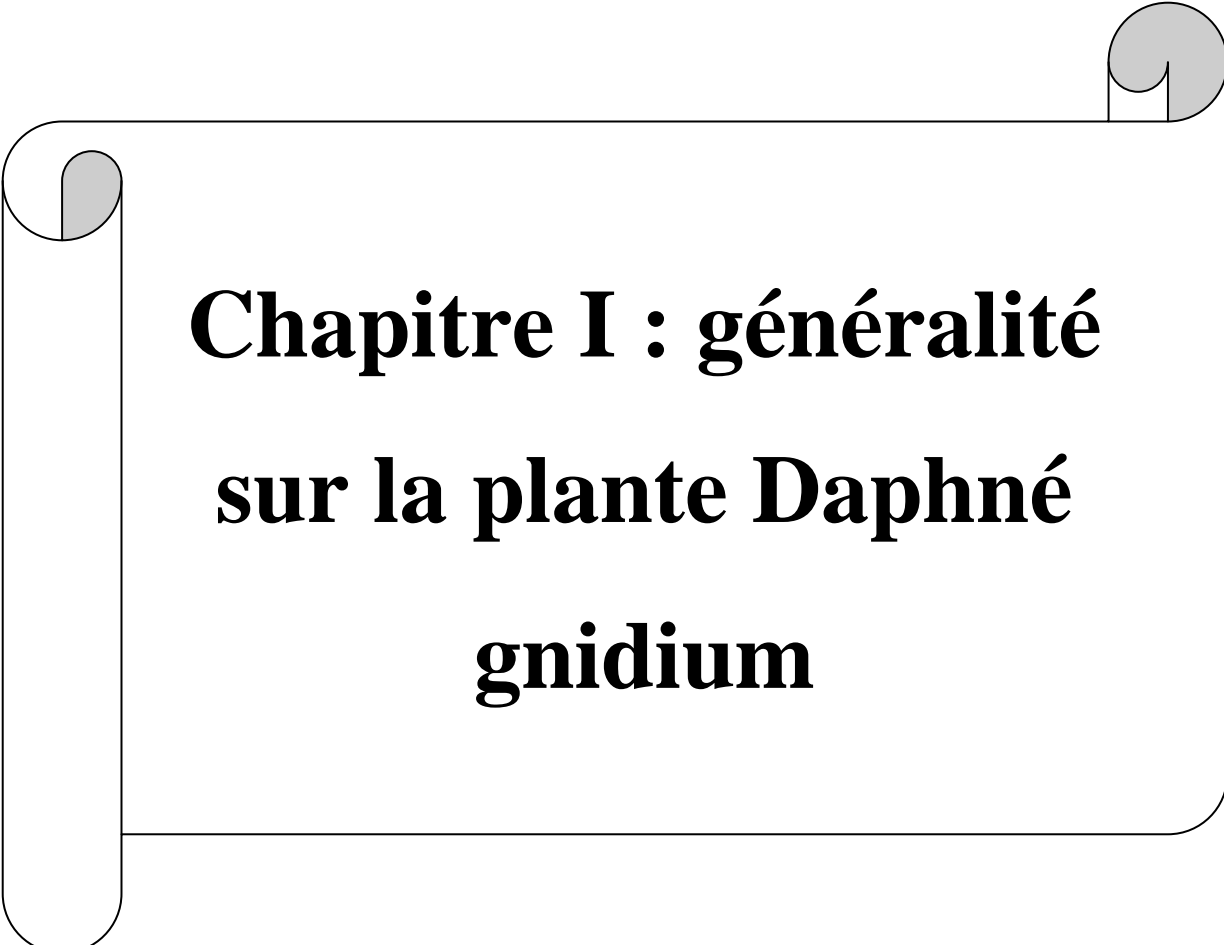
De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les poly-phénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre Thymelacées, ce dernier est largement trouvé dans les lieux les talus escarpés bordant les oueds comme sud-est de chlef, Bouira et Eltarf

De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve daphné gnidium. Cette plante largement utilisée pour diminuer les inflammations et les douleurs abdominales. Cependant, elle a la particularité d'irriter gravement la peau (rougeurs, irritations, ampoules...) [2]

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est d'étudier l'activité antioxydants dans extrait méthanoïque **daphné gnidium**.

Notre travail est scindé en deux parties, la première partie est une étude théorique qui résume des données bibliographiques sur daphné gnidium et ses métabolites secondaires et la seconde partie est une étude pratique incluant matériel et méthodes d'analyses, les résultats obtenus et leur discussion

A decorative scroll graphic with a white background and a black outline. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the scroll.

**Chapitre I : généralité
sur la plante Daphné
gnidium**

I. Présentation de la plante Daphné gnidium:

I.1 Origine et historique du daphné garou:

Le **daphné garou** est un petit arbuste qui peut atteindre 1m de hauteur, appartenant à la **famille des Thyméléacées**. On le rencontre souvent dans les milieux arides, surtout dans la partie sud de la France, mais aussi dans tout le bassin méditerranéen. Il est surtout reconnaissable par ses tiges dressées aux rameaux effilés avec des pilosités légères pour les plus jeunes. Les feuilles sont longues et lancéolées, les fleurs sont blanches, rarement rose ou rouge et très odorantes constitué de 4 pétales. De ces fleurs résultent des petites baies rouges regroupées en panicules à l'extrémité des rameaux[3]

L'origine du nom de la plante apparaît dans la **mythologie grecque**. Daphné, fille de Pénéé le dieu-fleuve, est décrite comme le premier amour d'Apollon, mais pour échapper au mariage et à la mort, elle voulut le fuir. Zeus la métamorphosa en fleur de **Laurier Daphné**, pour lui permettre d'échapper à l'emprise d'Apollon .En Europe, c'est une espèce locale qui servait souvent d'ornementation avant le XVIIIe siècle. Les prélèvements excessifs récents ont conduit à une réglementation dans certaines régions comme dans le Jura et dans le Doubs où il est formellement interdit de récolter les parties souterraines de la plante.

L'écorce du daphné garou contient le plus de composants actifs à savoir la daphnétoxine, les fruits contiennent du diterpène. Il existe aussi dans toute la partie de la plante une quantité non négligeable de flavonoïdes à savoir, la lutéoline, l'orientine, le genkwanine et l'apigénine. Les bourgeons et les jeunes pousses contiennent des huiles essentielles avec des composants actifs de la famille des coumarines comme toute la partie de la plante, mais avec un pourcentage plus élevé

I.2 Description botanique :

C'est un arbuste des sables atlantiques et des garrigues méditerranéennes et existe dans tout le Tell de l'Algérie. Elle est présente dans les forêts, et les broussailles, de 60 cm à 2 m de haut ou plus, à rameaux minces très feuillés [4]. Des feuilles persistantes ou caduques, lancéolées-linéaires, larges de 5 à 7mm au plus, cupsidées, très denses. Les fleurs sont blanches caduques. Le fruit est une baie nue ovoïde de 5 à 8 mm, d'abord verte, redevenant rouge vive puis orange à épicarpe brillant en murissant avec une seule graine (monosperme). La Graine est ovoïde à un seul embryon et à albumen triploïde. La floraison est longue et s'étale de mars

à octobre et c'est pour cette raison que fleurs et fruits coexistent. Il s'agit d'une plante entomogame [5].

I.3 L'espèce *Daphne gnidium*. :

* Autre noms communs : Garou, Daphné paniculé, Garouette, Saint bois, Thymélée de Montpellier, Thymélée à feuilles de lin, Lin bâtard, Lin sauvage, Bois d'oreilles, Bois de garou, Coquenaudier, Camélee noire, Trintanelle [6].

* Non scientifique : *Daphne gnidium* L.

* Non vernaculaire :

- Arabe: Lazzaz الزاز

- Anglais: Daphné garou.

- Français: Thymèleou saint bois.



Figure 1 : Une variété de plante daphné garou [Bekkouche 2022]

Tableau 1 : Classification systématique [7]:

Règne	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotes
Sous-classe	Rosidees (Eurosidée)
Ordre	Malvales
Famille	Thymeleacées
Tribu	Daphneae
Genre	Daphne
Espèce)	Daphne gnidium L.

I.4 Utilisations :

Cette espèce est utilisée pour diminuer les inflammations et les douleurs abdominales. Cependant, elle a la particularité d'irriter gravement la peau (rougeurs, irritations, ampoules...).

Les femmes l'utilisaient autrefois pour teindre leurs cheveux en noir. En effet, au Maroc, les feuilles séchées et pulvérisées en mélange avec le henné sont préparées pour traiter les cheveux.

La plante est aussi indiquée pour le lissage des cheveux et contre les pellicules. L'huile de semences du Daphne gnidium L. est purgative [8].

L'écorce des plantes du genre Daphne et plus particulièrement du Daphne gnidium était utilisée sous forme de pommade aux propriétés épispastiques.

La poudre d'écorce est aussi utilisée par voie orale dans le traitement de la syphilis et des maladies vénériennes. Par ailleurs, elle était utilisée pour la fabrication du papier de la plus haute qualité, des taffetas... En Phytothérapie,

la plante est indiquée dans le traitement des leucémies, des tumeurs solides, la sclérose en plaque, le sida ainsi contre la gale, les affections dartreuses pour le traitement de la syphilis enfin pour tous les soins des affections de la peau, et contre les maux de dents (gargarisme). Dans la pharmacopée traditionnelle, D. gnidium L. était utilisé pour ses propriétés antiseptique, insecticide, dépurative, cicatrisante, sudorifique et abortive. Le Garou possède des effets : cytotoxique, antioxydant et antimicrobien [9]



Chapitre II : les métabolites secondaires

II. Les substances d'origine végétale

Les réactions chimiques continues qui ont lieu le protoplasme vivant des cellules végétales donnent lieu, à deux sortes de produits Les métabolites primaires et Les métabolites secondaires

II.1 Les métabolites primaires:

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques. Inversement, un métabolite secondaire n'est pas directement impliqué dans ces processus physiologiques fondamentaux (indispensables) d'un organisme, mais possède typiquement une fonction écologique importante (c'est-à-dire une fonction relationnelle)[10]

II.2 Les métabolites secondaire

Un métabolite secondaire est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Les métabolites secondaires sont historiquement plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons

On les retrouve dans des compartiments particuliers ou à des moments précis de la vie. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas directement au développement de l'organisme (la plante, typiquement). Cependant, ces composés ne sont pas totalement différents des métabolites primaires. En effet, ils dérivent parfois des mêmes voies de biosynthèse et certains, comme la chlorophylle et la lignine ont des fonctions indispensables pour la croissance de la plante, et pourraient donc faire partie des métabolites primaires.

À ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés et on estime que chaque végétal produit au moins une centaine de molécules différentes. Les métabolites secondaires participent à la vie de relation de la plante, et ils ont des rôles très variés. Ils peuvent servir de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant des rôles bénéfiques (pollinisateurs). Ils peuvent également permettre la com-

munication entre les plantes, par des messages d’alerte par exemple, ou faire partie de la structure de la plante (tanins et lignine)[11]

II.2.1 Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes:

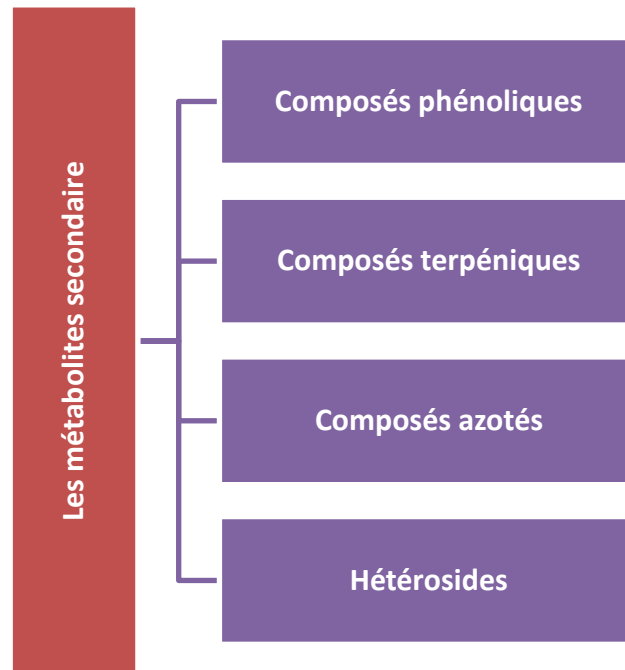


Figure 2: Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes.

II.2.2 Les poly-phénols:

Les « poly-phénols » ou « composés phénoliques » sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé, largement distribués dans le règne végétal. Ils sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (-OH). Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes. On peut nommer dans cette famille les acides phénoliques les flavonoïdes et les tanins (et lignines). La plupart de ces composés phénoliques dérivent d'acides aminés aromatiques: la tyrosine et la phénylalanine

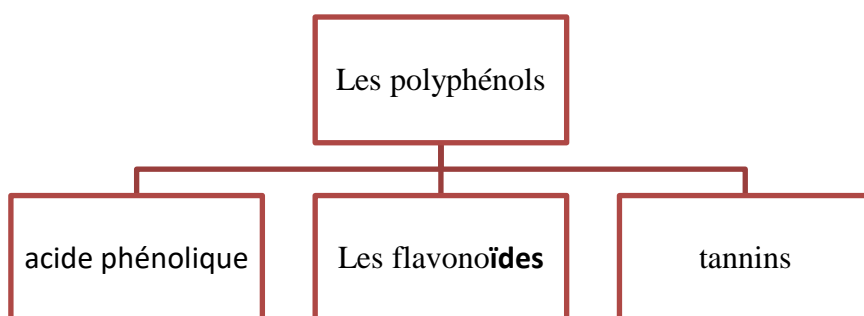

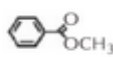
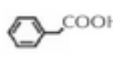
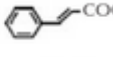
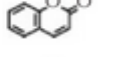
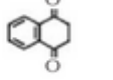
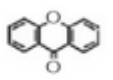
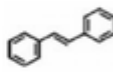
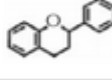


Figure 3: Les poly-phénols.

II.2.3 Les acides phénoliques:

Un acide phénolique ou acide-phénol est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique

Tableau 2 : Les principales classes de composés phénolique

Number of carbons	Skeleton	Classification	Example	Basic structure
7	C ₆ -C ₁	Phenolic acids	Gallic acid	
8	C ₆ -C ₂	Acetophenones	Gallacetophenone	
8	C ₆ -C ₂	Phenylacetic acid	<i>p</i> -Hydroxyphenyl-acetic acid	
9	C ₆ -C ₃	Hydroxycinnamic acids	<i>p</i> -Coumaric acid	
9	C ₆ -C ₃	Coumarins	Esculetin	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthenes	Mangiferin	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoids	Naringenin	

II.2.4 Les acides phénoliques:

Les acides phénoliques sont des composés qui ont des propriétés antioxydantes. Ils peuvent contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées au vieillissement) en neutralisant les radicaux libres de l'organisme.

II.2.5 Les flavonoïdes:

Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base à 15 atomes formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones (C6-C3-C6).

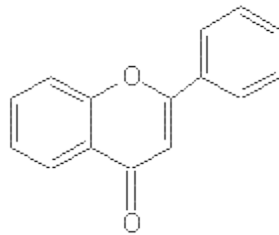


Figure 4 Structure chimique de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation. Ils forment une grande sous-classe des polyphénols (plus de 6000 flavonoïdes à été décrits). Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires, presque toujours hydrosolubles.

II.2.6 Les propriétés:

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Elles agissent comme des pigments ou des co-pigments. Elles sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores.

Les pigments colorés des fleurs servent à attirer les insectes pollinisateurs. Ils peuvent avoir plusieurs activités biologiques dont l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique, antitumorale, antivirale et antidiarrhéique.

II.2.7 Activité antioxydant:

II.2.7.1 Définition

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substraten s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable. [7]

II.2.7.2 Les différents types d'antioxydants :

Il existe plusieurs méthodes qui ont été mises au point pour l'estimation *in vitro* du pouvoir antioxydant d'un échantillon.

II.2.7.2.1 Méthode du DPPH·

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques. La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des composés phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (**figure 03**). Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques[8].

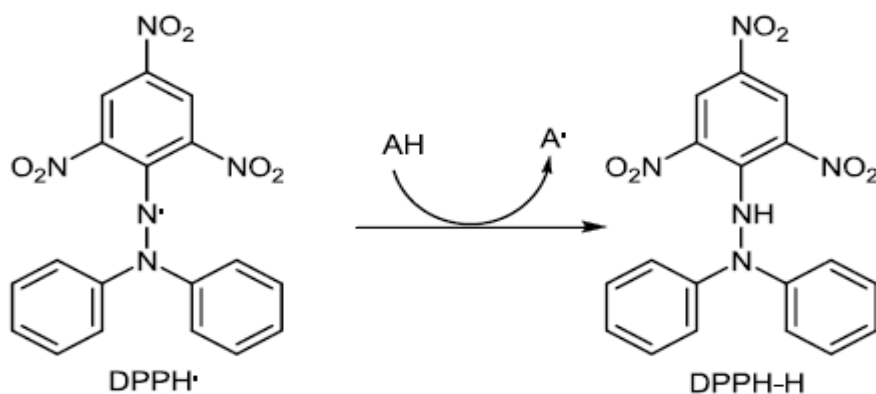


Figure 5: Piégeage du radical DPPH· avec l'antioxydant [9]

II.2.7.2.2 Réduction du radical- cation ABTS ou détermination du TEAC :

Le test ABTS détermine la capacité de piégeage de l'activité antioxydante et basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS^{•+}, (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline) -6-sulfonique), qui peut être mesuré par spectrophotométrie à 414, 660 ou 734 nm. Le radical est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés.

Cette méthode est comme le dioxyde de manganèse , la metmyoglobine , le peroxyde d'oxygène ou le persulfate de potassium .Le composé à tester est ajouté au radical préformé. L'activité des composés est alors exprimée par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la capacité antioxydante d'une solution de Trolox (1 mM) (analogue hydrophile de la vitamine E). Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace. Le radical ABTS^{•+}(absorbant à 734nm) est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de Trolox (ou d'antioxydant donneur de H[•]), le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution, Par ce test, nous déterminons à un temps de réaction donné (1, 4 ou 6 minutes) un pourcentage d'inhibition à 734 nm (correspondant à une diminution de la coloration de la solution) en fonction de la concentration en agent réducteur[10]

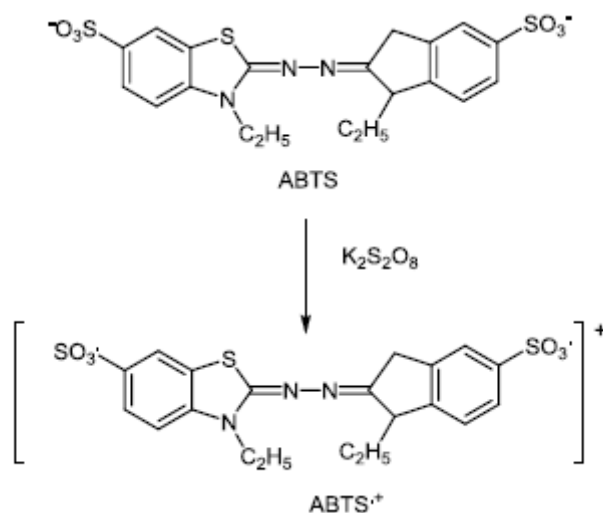


Figure 6: Oxydation de l'ABTS avec K₂S₂O₈ et sa génération[10]

II.2.7.2.3 Reduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power):

L'analyse FRAP mesure la capacité des antioxydants à ramener le complexe ferrique de la tripyridyl-s-triazine 2.4.6 [Fe (III) - (TPTZ) 2] intensément au complexe ferreux coloré par le

bleu $[\text{Fe}(\text{II}) - (\text{TPTZ})_2]^{2+}$ dans un milieu acide. Les valeurs sont calculées en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 593 nm et en la rapportant à une solution étalon d'ions ferreux ou à une solution étalon d'antioxydants selon la figure 5.

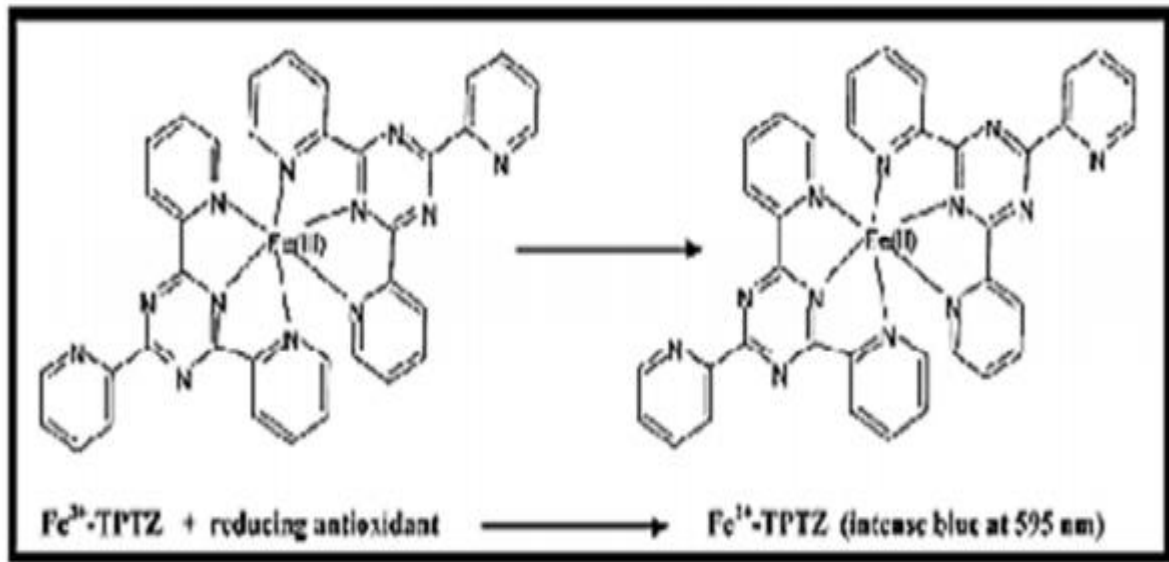


Figure 7:Réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power)[11]

II.2.8 Protections cellulaires

Les molécules ou microconstituants capables d'interférer avec les radicaux libres sont appelés **antioxydants**. Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères:

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres
- Chélaterdes ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^+) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer
- Avoir un effet positif sur l'expression génique
- Être rapidement absorbé
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire [12]

II.2.9 Les Tannins:

Les tannins sont des poly-phénols polaires du poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont caractérisés par leur capacité antioxydant et leur propriété thérapeutique. Les tannins sont subdivisés en deux classes différentes, largement distribuées chez les végétaux supérieurs: Tannins hydrolysables et Tannins condensés ou non hydrolysables. Sur le plan chimique, ils sont constitués soit de polyol (glucose le plus souvent) des acides phénoliques soit d'oligomères ou polymères de flavonoïdes.

A decorative frame resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both ending in rounded, curled ends. The frame is outlined in black and contains the chapter title in the center.

Chapitre III : MATERIELES ET METHODES

III. Matériels et Méthodes

Ce travail de recherche a été réalisé au Laboratoire Ecologie Fonctionnelle Evolutive, Laboratoire pédagogique de chimie de la de la faculté des Sciences et du Nature département de biologie et laboratoire pédagogique de chimie de la de la faculté des Sciences et de la Technologie, département des Chimie

III.1 Présentation générale de l'espace Régional ;

Notre travail constitue une contribution au recensement des plantes utilisées par la population locale de la commune rurale **Sidi Kassi Ben m'hidi EL-TARF** en pharmacopée traditionnelle, dans l'objectif est de déterminer les tests phyto chimiques de cette plante, l'activité anti oxydation (Daphné garou). Pour cela, nous avons réalisé une récolte de ces plantes.

III.1.1 Localisation géographique

La wilaya d'El Tarf est située à l'extrême Nord-est du pays, limitrophe de la métropole d'Annaba dont elle dépendait jusqu'à sa promotion au rang de wilaya en janvier 1985, elle est réputée pour sa nature généreuse, ses zones humides et son environnement, et elle mérite bien son appellation de "wilaya verte". La wilaya s'étend sur une superficie de 3 339 km² et le Chef lieu de la wilaya se situe à 650 km à l'Est de la capitale.

La wilaya d'El Tarf est située à l'extrême nord-est de l'Algérie à la frontière tunisienne. Elle est délimitée :

Au nord, par la mer Méditerranée ; à l'est, par la Tunisie; au sud, par la wilaya de Souk Ahras; au sud-est, par la wilaya de Guelma; par l'ouest par la wilaya d'Annaba [13].



Figure 04 : Localisation géographique de la commune el-tarf [14].

III.1.2 La flore

Cette zone est formée généralement par des plaines agricoles, les montagnes sont constitués par différents type d'arbres : les oléastres, le chêne liège et l'eucalyptus et en plus les maquis, le calycotome et le genévrier [15].

III.1.3 La faune

Cette région ou les pluparts des gens font l'élevage, le nourrissage l'aviculture et l'apiculture [10].

III.2 Matériel et Méthode :

Notre travail consiste à déterminer le Dosage des flavonoïdes totaux (FVT), Dosage des taninset de l'activité antioxydante de l'espèce daphné gnidium de la **famille des Thyméléacées**.

Tableau 3 : Matériel et réactif utilisés

Matériel	Réactif
Tubes à essais	Eau distillée
Erlenmayer	HCL diluée à 1% et 5%
Fioles	NH ₄ OH
Entonnoir	MeOH pure et à 80%
II Papier filtre	Fe Cl ₃ à 1%
Plaque chauffante	NaOH diluée à 1 %
Balance	CHCl ₃
Bécher	C ₂ H ₅ OH
Pissette	CH ₃ COOH
Spatule	H ₂ SO ₄
Rotavapeur et Etuve	Réactif de Mayer
Eprouvettes	Acétone à 80%.
spectrophotomètre.	L'anhydride acétique.
	folin
	Na ₂ CO ₃ à 7%

III.3 Préparation de la plante :

III.3.1 Récolte :

La récolte de la plante médicinale (**daphné garou**) a été effectuée au mois Janvier de la région **Sidi Kassi Ben M'hidi, d'EL-TARF**

III.3.2 Séchage de la matière végétale :

La plante récoltée a été séchée, pendant environ 15 jours à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité



Figure 8: Séchage à l'air libre de plante étudié daphné garou [Bekkouche 2022]

III.3.3 Broyage et tamisage:

L'obtention d'une poudre fine et homogène.

III.4 Screening phytochimiques :

Le screening chimique est une méthode d'analyse qui a pour but de mettre en évidence les groupes photochimiques contenus dans une plante.

III.4.1 Mise en évidence des alcaloïdes

Macérer 1g de la poudre de la feuille dans 10ml d'HCl à 5% dans un récipient. On filtre le mélange on additionner ou filtrat quelque gouttes de réactif de Mayer.



Figure 9: Test des alcaloïdes [bekkouche 2022]

III.4.2 Mise en évidence des saponosides (test de mousse)

1g de la poudre sèche est pesé dans une fiole dans laquelle 10ml d'eau distillée sont ajoutés et bouillis pendant 5min, le mélange est filtré ; 2.5ml du filtrat sont ajoutés à 10ml d'eau distillée dans un tube à essai. Le tube est secoué vigoureusement pendant 30s puis on laisse reposer une demi-heure.



Figure 10: Test des saponosides [Bekkouche 2022]

III.4.3 Mise en évidence des flavonoïdes

Macérer 10g de la poudre de feuille dans 150ml HCl à 1% pendant 24h. Filtrer, prendre 10ml du filtrat, le rendre basique avec NH_4OH .



Figure 11 : Test des flavonoïdes [Bekkouche 2022]

III.4.4 Mise en évidence des tanins

10g de la feuille avec 100ml de MeOH à 80%. filtré, additionner au filtrat quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 1%.

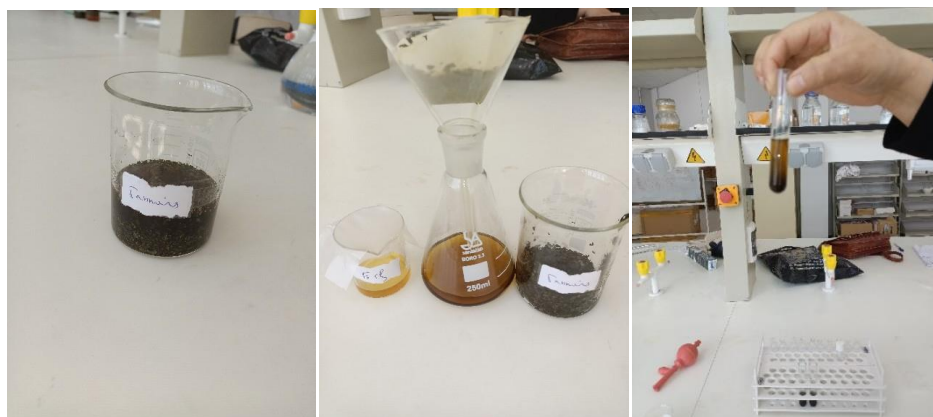


Figure 12: Test des tanins [Bekkouche 2022]

III.4.5 Mise en évidence des cardénolides

Macérer 1g de poudre sèche dans 20ml d'eau distillée pendant 3h, après filtration, on prélève 10ml de filtrat et on l'extrait avec un mélange de 10ml de chloroforme CHCl_3 et éthanol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. On évapore la phase organique, puis dissout le précipité dans 3ml de CH_3COOH glacial, en ajoutant quelque goutte de FeCl_3 et 1ml de H_2SO_4 concentré sur les parois du tube à essai.



Figure 13 : Les cardénolides [Bekkouche 2022]

III.4.6 Les stérols

Macérer 1g de poudre sèche dans **20ml** d'éther pendant **24h**. Filtrer puis évaporer. Le résidu obtenu est dissous dans l'anhydride acétique. L'addition d'acide sulfurique pur développe en présence des produits stéroluque



Figure 14: Test Les sterols [Bekkouche 2022]

III.4.7 Les huiles volatiles :

Macérer 10g de la poudre dans 40ml d'eau distillée avec agitation constante 30mn. L'extrait est filtré. 2 ml du filtrat sont secoués avec 0,1ml de NaOH dilué et une petite quantité de HCl dilué un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles.



Figure 15: Test des huiles volatiles [Bekkouche 2022]

III.4.8 Anthocyanes:

Repose sur le changement de couleur de l'infusé à 10% avec changement de PH. On ajoute à l'infusé quelque goutte de HCl pur, on a changement de couleur, puis on rajoute quelque goutte de NH₄OH changement de couleur



Figure 16: Test des Anthocyanes [Bekkouche 2022]

III.4.9 Quinones

1g de poudre broyé est placé dans un tube avec 15à 30ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24h. L'extrait est filtré puis concentré au Rotavapeur. La présence des quinones est confirmée par l'ajout de quelque goutte de NaOH



Figure 17: Test des Quinones [Bekkouche 2022]

III.5 Extraction méthanoïque

L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par [16] 5 g de poudre **daphné garou** ont été macérés dans du méthanol 100 % pendant 24 heures avec un volume de méthanol (MeOH) équivalent à 10 fois le poids de la poudre utilisée (50 ml de MeOH). Après 24 heures, la macération **daphné garou** été filtrée pour obtenir des extraits méthanoïques. Ces extraits ont subi une condensation à l'aide d'un appareil BUCHI Rotavapor R-200 (figure 15) pour évacuer tout le méthanol[17].



Figure 18: Appareil BUCHI Rotavapor R-200 utilisé pour la condensation des extraits méthanoliques [Bekkouche 2022]

III.6 Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

L'extrait convenablement dilué (1ml) est introduit dans une fiole jaugée de 10 ml contenant au préalable 4 ml d'eau distillée. A l'instant $t = 0$, on y introduit 0,3 ml de NaNO_2 à 5 % (p/v). A $t = 5$ mn on y ajoute 0,3 ml de AlCl_3 à 10 % ; 6 minutes après, on y ajoute 2 ml de NaOH à 1M. Immédiatement le mélange réactionnel est dilué avec 2,4ml d'eau distillée et est agité vigoureusement. L'absorbance de la solution rose est déterminée à 510 nm contre un blanc (contenant du méthanol). La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en équivalents de mg de catéchine (mg CE) par gramme de plante sèche. Tous les essais sont reproduits au moins trois fois. Sachant qu'une droite d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec la catéchine dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser



Figure 19: Dosage des flavonoïdes totaux (FVT) [Bekkouche 2022]

III.7 Dosage des tanins:

on met dans fiole jaugée 0,2 ml de la solution (extrait) puis on ajoute 3 ml de la vanilline à 4% (préparé dans un méthanol) ainsi que 1,5 de HCL à 37% avec une agitation pendant 15 min à température ambiante après en mesure l'absorbance à 500 nm



Figure 20: Dosage des tanins [Bekkouche 2022]

III.8 Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1picrylhydrazyl)

- Le DPPH est solubilisé dans le méthanol pour avoir une solution (0.3mM).
- Introduit dans des tubes, un volume de 100µl de chaque extrait (0.1mg/ml dans le méthanol)
- Incubé 30mn avec 1950 µl d'une solution méthanoïque de DPPH (2.4mg/ 100ml de méthanol).
- Placé les tubes à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes.
- Lire l'absorbance à 517 nm.
- Le contrôle négatif est composé de 1950µl de la solution méthanoïque au DPPH et de 100 µl de méthanol.
- L'acide ascorbique et /ou le BHT sont utilisés comme témoins positifs [18].

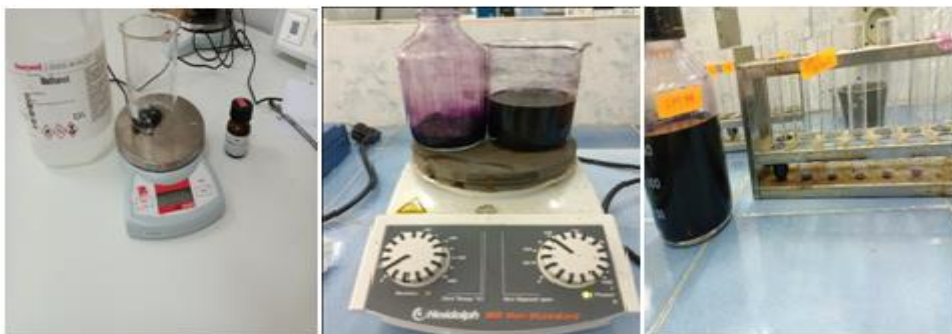


Figure 21: Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1picrylhydrazyl) [Bekkouche 2022]

III.8.1 Calcul du pourcentage d'inhibition :

Le pourcentage d'inhibition du DPPH (I%) est calculé par la formule suivante [19]:

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs_{\text{Contrôle négatif}} - Abs_{\text{Échantillon}} / Abs_{\text{Contrôle négatif}})] \times 100$$

Avec :

% : pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire ;

Abs_{Échantillon} : Absorbance de l'échantillon ;

Abs_{Contrôle négatif} : Absorbance du control négatif.

III.8.2 Calcul des IC₅₀ :

Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydant. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; Le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées [2]

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow, framing the chapter title. The scroll is oriented vertically, with the top edge at the top of the page and the bottom edge at the bottom. The title is centered within the scroll's frame.

Chapitre IV: Résultat et discussion

IV. Résultat et discussion

IV.1 Interprétation du screening photochimique :

Les screening photochimiques ont été réalisés sur *daphné garou* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique. Les résultats expérimentaux du criblage photochimique sont mentionnés dans le **tableau 4**.

Tableau 4: Résultat des tests phytochimiques.

Principe active	Réactive	Couleur	Résultat
Les alcaloïdes	HCl+réactif de Mayer	blanc jaunâtre	+
Les saponosides (test de mousse)	Décoction eau distillé	Une mousse alvéolaire	+
Les flavonoïdes	HCl+NH ₄ OH	jaune claire dans la partie supérieure du tube	+
Les tannins	MeOH, FeCl ₃	bleu ou vert indique	+
Les cardénolides	CHCl ₃ , C ₂ H ₅ OH, CH ₃ COOH, H ₂ SO ₄	couleur vert-bleu	+
Les stérols	Ether, H ₂ SO ₄ , l'anhydride acétique	mauve vire ou vert	+
Huiles volatiles	NaOH+HCl	un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles	+
Anthocyanes	HCl+NH ₄ OH	changement de couleur	+
Quinones	Ether de pétrole, NaOH	la phase aqueuse vire au jaune rouge ou viole	+

+ : Présence / - : Absence

Le test phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de principes actifs au niveau des tissus végétaux de notre plante : Les alcaloïdes, Les saponosides, Les flavonoïdes, Les tannins, Les cardénolides, Les stérols, Anthocyanes. Cependant, les tests se sont révélés positifs

Les tests phytochimiques réalisés sur *daphné garou* dans la région d'*El OUED* par **BARKA Dalel BEN MOUSSA Radhia** [21] ont montré la présence des mêmes constituants chimiques détectés dans la plante étudiée.

IV.2 Dosage des Flavonoïdes :

La teneur en flavonoïde a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercitrine(Flavonoïde) avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,999$. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de la quercétine par g de l'extrait sec ($\mu\text{g/ml}$). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes d'extrait méthanoïque de *Daphne gnidium* L. est $348.75(\mu\text{g/ml})$. Des mesures de densité optique pour chaque concentration se sont réalisées à $\lambda = 510 \text{ nm}$.

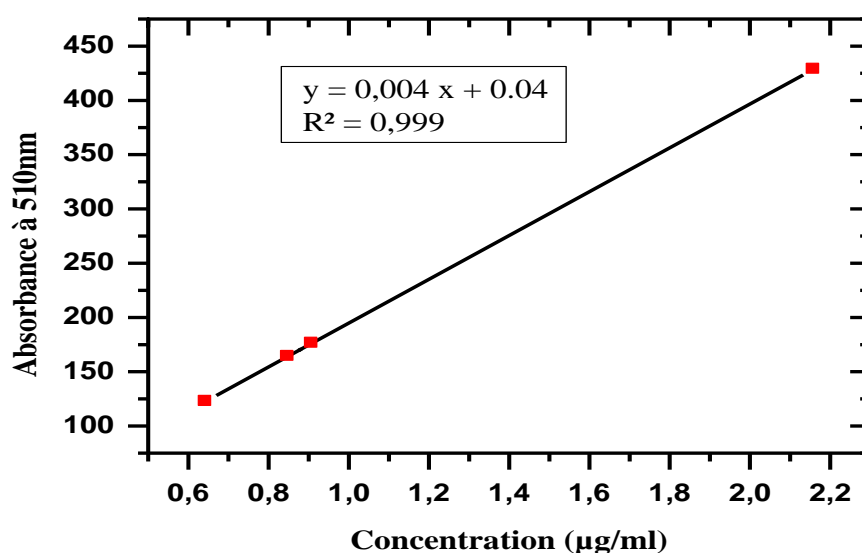


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine

Les flavonoïdes sont omniprésents chez tous les végétaux. Leur activité est exprimée par leur grande affinité biologique avec les polymères, les métaux lourds et surtout pour leur activité

antioxydant. Ce sont les plus actifs parmi les antioxydants végétaux alimentaires. Ils ont en outre une action thérapeutique sur certaines pathologies (telles que le traitement des inflammations, des infections virales et du cancer) en comparant avec Kholkhal et al [22]

Nous constatons ce qui suit : la concentration des flavonoïdes d'extrait méthanoïque est supérieure au résultat obtenu par Kholkhal et al à savoir: 348,75(µg/ml) contre 298,2(µg/ml) soit une différence de 50.55(µg/ml) de ce fait en déduit que la des flavonoïdes d'extrait méthanoïque de *Daphne gnidium* L est riche [23]

IV.3 Dosage des tanins :

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de **catéchine** par µg de l'extrait sec (µg/ml). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,987$. À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des (**Tanins**) de l'extrait Méthanoïque de *Daphne gnidium* L. par macération est de 0.092(µg/ml). Des mesures de densité optique pour chaque concentration se sont réalisées à $\lambda = 500$ nm.

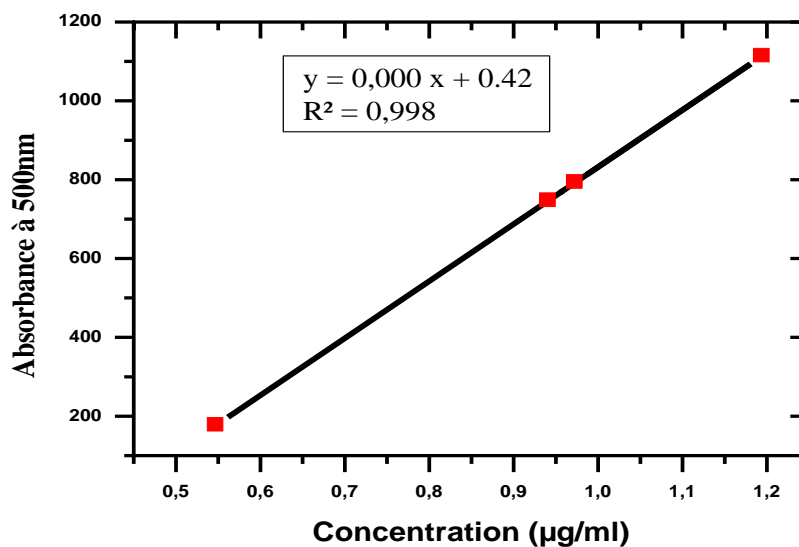


Figure 23: Courbe d'étalonnage de la catéchine

Le dosage des tannins a révélé que les feuilles de plante (*Daphne gnidium* L) est plus riche en tannins 0.092 µg/ml . Ce qui confère certainement des activités biologiques à la plante étudiée[24]

Tableau 5: La teneur en tanins et flavonoïdes au niveau des feuilles de la plante de *Daphne gnidium* L.

	Flavonoïdes (µg/ml)	Tanins (µg/ml)
Extrait de <i>Daphne gnidium</i> L.	348.75 (µg/ml)	0.092

Le dosage des flavonoïdes et des tannins a révélé que les feuilles de plante (*Daphne gnidium* L) est plus riche en flavonoïdes (348.75 (µg/ml)) que en tannins (0.092) . Ce qui confère certainement des activités biologiques à la plante étudiée

IV.4 Test de DPPH

Les capacités antioxydants d'extrait de plante étudiée ont été déterminées et comparées à l'activité de composé anti-radicalaire étalon, l'acide ascorbique. Les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans la courbe d'étalonnage, $y = 0,239x + 72,55$ $R^2 = 0,961$. Des mesures de densité optique pour chaque concentration se sont réalisées à $\lambda = 517$ nm.

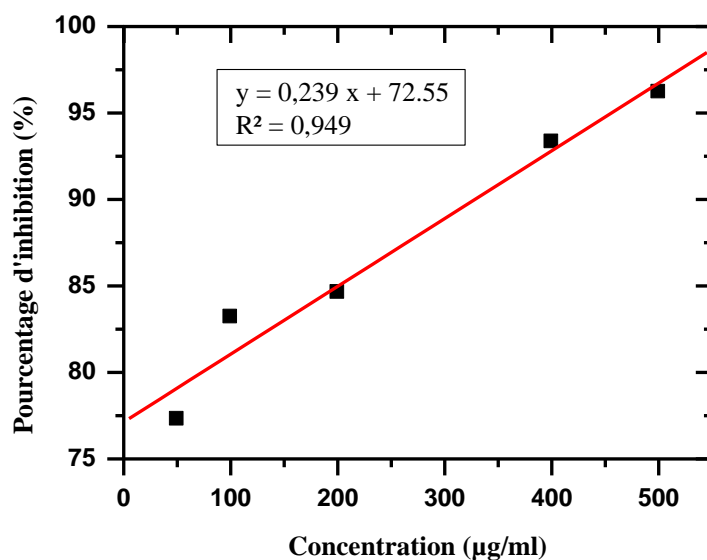


Figure 24: Courbe d'étalonnage de la solution de DPPH

Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) sont représentés dans le tableau 6.

Tableau 6: IC50 d'extraits méthanoïque et l'acide ascorbique

	Extrait	l'acide ascorbique
IC50(µg/ml)	94.17	96.11

L'extrait méthanoïque de DAPHANE Gnidium possède une activité antioxydant mais sa capacité d'inhibition du radical DPPH est plus faible que celle de la vitamine C pour toutes les concentrations.

Ce L'extrait méthanoïque possède un potentiel antioxydant significatif mais inférieur à celui de la vitamine C.

Dans le cas de notre échantillon, l'IC50 pour l'extrait Méthanoïque de 94.17 µg/ml est inférieur à celles du acide ascorbique avec IC50=96.11 µg/ml. Une étude mener par BARKA

Dalel BEN MOUSSA Radhia [25] sur aqueux de *Daphné gnidium* L a montré que pourcentage d'inhibition est de 0.6638mg/ml qui est supérieur à celle obtenue par notre plant.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and grey shading on the rolled-up ends. The scroll is oriented vertically, with the top end on the right and the bottom end on the left. The word "Conclusion" is written in a large, bold, black serif font across the center of the scroll.

Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels, elles restent encore sous-exploitées dans le domaine médical, en raison de leur performance thérapeutique et d'une faible toxicité.

Daphné gnidium est une plante appartenant à la **famille des Thyméléacées** qui est largement utilisée en médecine traditionnelle.

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique, le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de feuilles de *Daphné gnidium* L.

Le screening phytochimique a montré la présence des : Les alcaloïdes, Les saponosides, Les flavonoïdes, Les tannins, Les cardénolides, Les stérols, Anthocyanes. Cependant, les tests se sont révélés positifs. L'analyse quantitative montre la richesse de *Daphné gnidium* L. en flavonoïdes et tanins.

Le dosage des flavonoïdes et des tannins a révélé que les feuilles de plante (*Daphné gnidium* L.) est plus riche en flavonoïdes (348.75 (µg/ml)) que en tannins (0.092) . Ce qui confère certainement des activités biologiques à la plante étudiée

Les résultats montrent une activité antioxydante puissante par le test du piégeage du radical libre DPPH, avec une Valeur $IC_{50}=94.11$ µg/ml, qui est une valeur inférieure par rapport à l'acide ascorbique (96.17µg/ml).

Ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes de *Daphné gnidium* L.

Ainsi, nous souhaitons isoler, purifier et identifier les constituants biochimiques responsables de ces différentes activités par d'autres méthodes plus performantes et plus précises telles que la HPLC, GC-MS et RMN.

Par ailleurs, il serait très intéressant d'aller plus loin en essayant de réaliser ces tests antioxydants *in vivo* afin d'étudier l'efficacité et la toxicité des extraits, aussi bien que de s'investir dans d'autres parties de la plante, à savoir la tige, les fleurs et les graines.



Références biblio- graphiques

- [1] Karmakar I, Dolai N, Saha P, Sarkar N, Bala A , Kanti P. 2011. Scavenging Activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen Species. *Orient Pharmacology Experimental medicine* 11:pp.221– 228.
- [2] Hostettmann K, Kizu H, Tomimori T. 1982. Molluscicidal Properties of Various Saponins. *Planta Med.* 44, 34-35
- [3] Ozenda P. 1991. Flore de Sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris. Editions du CNRS.
- [4] Quezel P., Santa S., Nouvelle flora de l'Algerie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Ed. CNRS, Paris, 1963, p. 502.
- [5] Guide illustré de la flore algérienne.pdf
[http://www.wilayaalger.dz/Guide%20illustré%20de%20la%20flore%20algérienne%](http://www.wilayaalger.dz/Guide%20illustré%20de%20la%20flore%20algérienne%20)
- [6] [Botanique] LEANDRI Jacques - Structure particulière d'un rhizome de *Daphne*. - 1928, p. 243- 248 - Départ./Région : , *Bulletin de la Société Botanique de France*, 4, Tome 75 - Fascicule 2.
- [7] Chase, M.W., and Reveal, J.L. (2009). A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Bot J Linn Soc* 161, 122–127.
- [8] Guide illustré de la flore algérienne.pdf
[http://www.wilayaalger.dz/Guide%20illustré%20de%20la%20flore%20algérienne%](http://www.wilayaalger.dz/Guide%20illustré%20de%20la%20flore%20algérienne%20)
- [9] Catalogue des plantes médicinales-Lajeunia-n° 186).
- [10] Freeman, P. W.; Ritchie, E.; Taylor, W. C. *Aust. J. Chem.* 1979, 32, 2495–2506.
- [11] Lin, L.-C., Yang, K.-Y., Chen, Y.-F., Wang, S.-C., and Tsai, T.-H.(2005). Measurement of daphnoretin in plasma of freely moving rat by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1073, 285–289.
- [12] Thèse Doctorat Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich; Julien Ferrari ; LAUSANNE 2002

[13]Cottiglia, F., Loy, G., Garau, D., Floris, C., Casu, M., Pompei, R., Bonsignore, L., 2001. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine* 8 (4), 302–30

[14] « N. Cano and al. *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Edition Springer. M. & Leverage, X, (2006), p 255 ».

[15] « S.S.Ali and al. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res. Intern.* Vol 44, (2008), 1–15 ».

[16]ZAIDI Boutheina, utilisation de plusieurs méthode colorimétrique in-vitro pour l'évaluation des activités biologique de trois plantes medicinales. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Sciences de la Nature et de la Vie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, **Université des Frères Mentouri Constantine Le : 27/06/2019**

[17]BOUDJEMA Nedjema , *Étude des Propriétés Biologiques et Physico-chimiques d'Eriobotrya japonica Lindley*. Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master II DEPARTEMENT DE CHIMIE Université Chadli Bendjedid –EL TARF- l'année universitaire 2020-2021.

[18] Aïra REZAIRE , *Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien Oenocarpus bataua (patawa)* **Thèse pour le doctorat en Phytochimie**, Université des Antilles et de la Guyane Soutenue le 19 décembre 2012 à Cayenne.

[19] Kholkhal Fatima. 2014. Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Université abou-BekrB Belkaid-Tlemcen.

[20] NAIT MOULOUD Yamina ; IKKEN Kamilia Etude de l'activité antioxydante des Extraits des feuilles d'*Eriobotrya Japonica L* (Néflier du japon). l'obtention du diplôme de Master Département de Biologie Physico-Chimique Faculté des sciences de la nature et de la vie Université Abderrahmane Mira de Bejaia

[21] **D-J. Huang, C-D Lin, H-J. Chen et Y-H. Lin (2004)**. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents *Bot.*

Bull. Acad. Sin. 45,179-186.

[22] TEFIANI Ikram , Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'algue verte: *Ulva linza*, En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie Département de Biologie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers 14/ 06 /2015

[23]Zaaror B. 2012. Etude photochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Artérocées) et évaluation de leur activité antioxydante. Mémoire de master académique, université kasdi merbah, ouargla, 66 p.

[24]Yakhlef G. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L* et *Laurus nobilis L*. thèse de magister, université el hadj lakhdar batna, 110 p.

[25]Wichtl M. and Anton r. 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition lavoisier, Paris : p 38, 41.