

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الشهيد حمه لخضر

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des sciences de la nature et de vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : *Toxicologie*

THEME

*Etude phytochimique et l'effet antioxydant de l'extrait
méthanolique de l'espèce Solanum nigrum L*

Présenté et soutenu par :

Le : 20/ 06/ 2019

- BELLOUM Imane
- ABDESSATTAR Naoual

Jury d'évaluation :

- Prèsident du jury : M^{me}.YOUMBAL Asma M.A.B, Université d'El Oued
- Examinatrice : M^{me}.MEDILA Ifryquia M.C.A, Université d'El Oued
- Promoteur : Mr.KHELEF Yahia M.A.A, Université d'El Oued

Année Universitaire: 2019/2020

Remerciements

Avant tout, nous remercions ''**ALLAH**'' le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Monsieur **KHELEF** Yahia qui nous dirigées ce travail 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'il a bien voulu nous consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

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

Madame **YOUMBAI** Asma maitre assistante à l'université d'El Oued qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Madame **MEDILA** Ifryquia maitre de conférences à l'université d'El Oued qui ont bien voulu examiner ce travail.

Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute l'équipe du laboratoire ou nous avons fait notre travail pratique.

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des Sciences de la nature et de la vie pendant les cinq années du notre parcours.





Dédicaces

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert
la porte du savoir et m'a aidé la franchir.*

Je dédie ce modeste travail

*Mes chers parents, pour leur endurance et leurs
sacrifices sans limites*

*Mes frères et soeurs, en reconnaissance de leur
affection toujours constante*

Tous mes proches

Mes amis

Mes camarades de promotion

*A ma binôme **Imane** et sa famille*

Tous mes enseignants

*tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce
mémoire.*

NAOUAL



Dédicaces

*A dieu de tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé, et m'a accordé
Son soutien durant les périodes les plus difficiles
Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de
gratitude*

*A mes Chers parents qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le
bonheur de ma vie.*

A mes chers frères :Haji, Zaki, Hamid, Roufa, Samouda

A mes belles sœurs: Sarsoura, Bayouna

A mes chers grands parents

A Ma soeur n'a pas donné naissance à ma mère: Halouma, Nina

A la lumière de mes cœur: Mounir

A tous les membres de ma famille, petits et grands

*A ma binôme Nanoucha qui sont partagées avec moi les moments difficiles pour
réaliser ce travail*

A mon estimé l'enseignant: Djabloun Mohammad, Saadi Hamza

*Mes très chères amis: Salma, Hadjar, Rabab, Hanan, Aabir, Marya, Mounira,
Somya, Narimane*

*Je remercie toute les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont
participé de Pré ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce
travail*

IMANE

RESUME

Les substances naturelles issues de la biomasse des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie tant dans l'industrie médicamenteuse, alimentaire, cosmétique que pharmaceutique surtout illustrés en thérapie. C'est le cas notamment plantes sahariennes, y compris *Solanum nigrum* en développe dans la région d'El Oued Souf (sud-est de l'Algérie), qui font l'objet de notre étude, largement utilisés en thérapeutique contre certaines maladies comme les maladies vasculaires, les inflammation et les stress oxydant. Dans ce contexte, le présent travail porte sur une étude phytochimique et l'effet antioxydant de l'extrait de la plante.

Les résultats ont montré que le taux de rendement était estimé à 12.14%. Comme les résultats l'ont montré qu'il existait une proportion directe entre la teneur quantitative en phénol, en flavonoïdes et en tanins, où les valeurs étaient données (171.82 ± 13.42 mg EAG/g EXS, 70.44 ± 0.13 mg EQ/g EXS, 94.788 ± 0.52 mg EAG/g EXS) successivement.

Les analyses complémentaires ont permis de mettre en évidence les capacités antioxydantes de cet extrait selon les méthodes de DPPH, CAT et Test Hémostase. Où la capacité d'inhibition ($IC_{50} = 47.19 \pm 0.58$ µg/ml), les résultats du test CAT ont été enregistrés ($41,62 \pm 1,73$ mg EAG /1g EXS), en ce qui concerne le Test hémostase les résultats ont montré que l'extrait était caractérisé par un taux de dégradation de 20,15%.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que l'extrait de *Solanum nigrum* présentent de très bonne propriété antioxydante qui pourrait nous permettre de les recommander dans la biotechnologie et il peut être considéré comme une source de substances biologiques et médicamenteuses ou comme un antioxydant.

Mots clés : *Solanum nigrum*, phytochimique, activité antioxydant, DPPH, CAT.

Abstract

Natural substances derived from plant biomass have multiple interests put to good use in biotechnology both in the drug, the food, cosmetic and pharmaceutical industries, especially illustrated in therapy. This is particularly the case of Saharan plants, including *Solanum nigrum* developed in the region of El-Oued Souf (southeastern Algeria), which are the subject of our study, widely used in Therapeutic against certain diseases such as vascular diseases, inflammation and oxidative stress. In this context, the present work relates to a phytochemical study and the antioxidant effect of the extract of the plant.

The results showed that the rate of return was estimated at 12.14%. As the results showed, there was a direct proportion between the quantitative content of phenol, flavonoids and tannins, where values were given (171.82 ± 13.42 .mg EAG / g EXS, 70.44 ± 0.13 mg EQ / g EXS, 94.788 ± 0.52 mg EAG / g EXS) successively. The complementary analyzes made it possible to highlight the antioxidant capacities of this extract according to the methods of DPPH, CAT and Test Hemolysis. Where the inhibitory capacity ($IC_{50} = 47.19 \pm 0.58$ μ g / ml), the results of the CAT test were recorded (41.62 ± 1.73 mg EAG / 1g EXS), with regard to the Hemolysis Test the results were showed that the extract was characterized by a degradation rate of 20.15%.

From the results obtained, we can say that *Solanum nigrum* extract has a very good antioxidant property that could allow us to recommend them in biotechnology and it can be considered as a source of biological and pharmaceutical substances or as an antioxidant.

Key words: *Solanum nigrum*, phytochemical, antioxidant activity, DPPH, CAT.

ملخص

المواد الطبيعية الناتجة عن الكتلة الحيوية النباتية تملك فوائد متعددة تستغل في التكنولوجيا الحيوية خاصة في الصناعات الدوائية والغذائية، مستحضرات التجميل المواد الصيدلانية و خاصة في العلاج. الدراسات القائمة على النباتات موضوع العديد من البحوث التي تركز على المزارع المخبرية والأنسجة النباتية الحية . كما هو الحال و بالأخص النباتات الصحراوية التي من بينها نبات *Solanum nigrum* النامي في منطقة وادي سوف (جنوب شرق الجزائر) الذي هو موضوع دراستنا والمستخدم على نطاق واسع في العلاجات مثل الوقاية ضد بعض الأمراض الوعائية ، والالتهابات والإجهاد. وفي هذا السياق يركز عملنا على الدراسة الفيتو كيميائية و الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص النباتي.

حيث سجلت النتائج أن نسبة المرودية قدرت ب12.14% . كما أظهرت النتائج وجود تناسب طردي بين المحتوى الكمي لعديد الفينول و الفلافونويد و التانينات حيث اعطت القيم (171.82±13.42 mg EAG/g EXS) , (94.788 ±0.52 mg EAG/g EXS, 70.44 ± 0.13 mg EQg/ EXS, على التوالي.

تسمح المزيد من التحاليل بتسليط الضوء على القدرة المضادة للأكسدة للمستخلص النباتي باستخدام الطرق التالية DPPH ,CAT واختبار انحلال كريات الدم .حيث كانت قيمة القدرة التثبيطية (47.19 ± 0.58 µg/ml) في حين سجلت نتائج اختبار (41.62 ± 1.73 mg EAG/1g EXS). أما في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء فأبدت النتائج تميز المستخلص في نسبة انحلال قدرت ب 20.15% .

وعليه يمكننا من خلال النتائج المتحصل عليها قول بأن لمستخلص عنب الذئب فعالية مضادة ممتازة التي قد تسمح لنا بأن نوصي باستخدامه في مجال التكنولوجيا الحيوية كما يمكن أن يعتبر مصدر للمواد الحيوية و الدوائية أو كمضاد أكسدة .

لكلمات المفتاحية: نبات *Solanum nigrum* ,فيتو كيميائية ، النشاطية المضادة للأكسدة DPPH ,CAT.

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION

Partie I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I: LES METABOLITES SECONDAIRES

I. Généralités sur les métabolites secondaires.....	05
I.1. Définition des métabolites secondaires.....	05
I.2. Classification des métabolites secondaires.....	06
II. Les composés phénoliques.....	06
II.1. Biosynthèse des polyphénols.....	07
II.2. Classification des polyphénols.....	08
II.2.1. les composés phénoliques non flavonoïdes.....	09
II.2.2. les composés phénoliques flavonoïdes.....	10
III. Les terpénoïdes.....	14
IV. Les alcaloïdes.....	14

CHAPITRE II : PRESENTATION DU PLANTE ETUDIEE

I. Le Plante Etudiée (<i>Solanum nigrum L.</i>)	16
I.1. Description Botanique.....	16
I.1.1. Famille des Solanaceae.....	16
I.1.2. Espèce <i>Solanum nigrum L.</i>	16
I.1.3. Position systématique.....	17
I.2. Habitat et Distribution géographique.....	17
I.3. Composition chimique.....	17
I.4. Activités biologiques et thérapeutiques de <i>Solanum nigrum L.</i>	18

CHAPITRE III : SYSTEME OXYDANT, STRESS OXYDANT ET SYSTEME ANTIOXYDANT

I. Le Système Oxydant et Stress Oxydant.....	19
I.1. L'espèces réactives de l'oxygène.....	19
I.2. Les radicaux libres.....	19
I.3. stress oxydant	20
I.4. conséquences du stress oxydant.....	20
II. Les systèmes antioxydants	21

II.1. Classification des antioxydants.....	22
II.1.1. Antioxydants endogènes.....	22
II.1.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	22
II.1.1.1.1. les Superoxyde dismutases (SOD)	22
II.1.1.1.2. Catalase.....	23
II.1.1.1.3. Glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GSH)	23
II.1.1.1.4. Le système thiorédoxine.....	24
II.1.1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	24
II.1.1.3. Les systèmes antioxydants exogènes.....	25

Partie II :Etude Expérimentale

Chapitre I : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel	27
I.1. Matériel végétale.....	27
I.1.1. Récolte de la plante.....	27
I.1.2. Préparation des extraits bruts méthanoliques.....	27
II. Méthodes.....	29
II.1. Tests phytochimiques	29
II.1.1. Tests phytochimiques 1.....	29
II.1.2. Tests phytochimiques 2.....	30
II.1.3. Tests phytochimiques 3.....	31
II.2. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols.....	32
II.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	32
II.2.1.1. Principe.....	32
II.2.1.2. Méthode de dosage.....	32
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	33
II.2.2.1. Principe.....	33
II.2.2.2. Méthode de dosage.....	33
II.2.3. Dosage des tanins.....	33
II.2.3.1. Principe.....	33
II.2.3.2. Méthode de dosage.....	33
II.3. Méthodes de dosage des activités antioxydants in vitro.....	34
II.3.1. Le test de piégeage du radical DPPH.....	34
II.3.1.1. Principe.....	34
II.3.1.2. Méthode de dosage.....	35
II.3.2. Dosage de la capacité antioxydant totale « test de phosphomolybdate »	35
II.3.2.1. Principe.....	35
II.3.2.2. Méthode de dosage.....	35
II.3.3. Test hémolyse.....	36
II.3.3.1. Principe.....	36
II.3.3.2. Méthode de dosage.....	36
II.3.4. Test IR.....	37

Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Rendement d'extrait brut méthanolique.....	39
II. Tests phytochimiques.....	40
III. Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols.....	41
III.1. Teneur des extraits en polyphénols.....	41
III.2. Teneur des extraits en flavonoïdes.....	43
III.3. Teneur des extraits en tanins.....	44
IV. Méthodes de dosage des activités antioxydantes in vitro.....	47
IV.1. Le test de piégeage du radical DPPH.....	47
IV.2. Capacité antioxydant totale (CAT)	50
IV.3. Test hémolyse.....	52
IV.4. Test IR.....	54

CONCLUSION

Références Bibliographiques

Annexe

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A : absorbance

AA : Acide ascorbique

Abs : Absorbance

ADN : Acide désoxyribonucléique

AlCl₃ : trichlorure Chlorure d'aluminium

C : concentration

CAT : Catalase

DPPH : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl

EAA : Les espèces azotées actives

EAG/g EXS : Equivalent d'acide gallique par gramme de extrait sec

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

EX : Extraits

FCR : Folin-Ciocalteu

FeCl₃ : Chlorure de fer

FVT: flavonoïdes totaux

g : gramme

GPx: Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion

GSH :Glutathion réductase

H₂O : Eau

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀:d'acide phosphotungstique

HCl : Acide chlorhydrique

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%

MeOH : Méthanol

mg : Milligramme

Mg₂₊ : Magnésium

ml : Millilitre

mm : Millimètre

NaOH : Hydroxyde de sodium

nm : nanomètre

NO• : Monoxyde d'azote

NO₂ : Nitrique dioxyde

O₂• : Anion superoxyde

OH• : Radical hydroxyl

ONOO- : Le peroxydinitrite

PI : pourcentage d'inhibition

PPT: polyphénols totaux

R : Radical

RO•: Radical alkoxyde

ROO•: Radical peroxy

SOD : Superoxyde dismutase

% : Pourcentage

µg /ml : Microgramme par millilitre

µg : Microgramme

µl : Microlitre

µm : Micromètre

¹O₂ : Oxygène singulet

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Structure chimique des composés phénolique(groupe phénol)	07
Figure 2	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	08
Figure 3	Structure chimique générale des flavonoïdes	11
Figure 4	Différentes classes de flavonoïdes	11
Figure 5	Structure de base tanins hydrolysables	12
Figure 6	Structure de base des tanins condensés	13
Figure 7	Structure de la molécule d'isoprène	14
Figure 8	Structures chimiques de quelques alcaloïdes	15
Figure 9	image est présenté la plante <i>Solanum nigrum L.</i>	16
Figure 10	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	21
Figure 11	les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	22
Figure 12	Dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase	23
Figure 13	Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en catalase dioxygène par la catalase	23
Figure 14	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	24

Figure 15	Localisation géographique de Guemar (El Oued)	27
Figure 16	Protocole d'extraction des extraits bruts	28
Figure 17	Tests phytochimiques 1	29
Figure 18	Tests phytochimiques 2	30
Figure 19	Tests phytochimiques 3	31
Figure 20	Réduction du radical DPPH•	34
Figure 21	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour dosage des polyphénols totaux.	42
Figure 22	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes totaux.	43
Figure 23	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des tanins	44
Figure 24	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'extraits méthanolique de <i>Solanum nigrum</i>	48
Figure 25	Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH des antioxydants et de références et de l'extrait testé.	48
Figure 26	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour les test de capacité antioxydant totale	51
Figure 27	Histogramme de la capacité antioxydant totale d'extrait de <i>Solanum nigrum</i> testés	51
Figure 28	courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	52
Figure 29	Evaluation de taux d'hémolyse (%) en fonction de concentration d'extrait méthanolique de <i>Solanum nigrum</i>	53
Figure 30	IR spectre de l'extrait de feuilles de plante de <i>Solanum nigrum</i>	54

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Dérivés d'acide hydroxybenzoïque	09
Tableau 2	Dérivés de l'acide hydroxycinnamiques	09
Tableau 3	Principaux types de coumarines	10
Tableau 4	les principales classes de composés phénoliques	13
Tableau 5	Classification scientifique de <i>Solanum nigrum</i> L	17
Tableau 6	les espèces réactive de l'oxygène et de l'azote	19
Tableau 7	principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes)	20
Tableau 8	Rendement d'extraits obtenus	39
Tableau 9	les résultats de tests phytochimiques de la plant <i>Solanum nigrum</i>	40
Tableau 10	Teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique de <i>S.nigrum</i>	42
Tableau 11	Teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de plant <i>S.nigrum</i> .	43
Tableau 12	rassemble les taux en tanins dans l'extrait méthanolique étudiés.	45
Tableau 13	le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50 (en µg /ml)) d'Acide ascorbique et de <i>Solanum nigrum</i>	49

INTRODUCTION

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, depuis des siècles, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements ,mais également ses besoins médicaux (**Gurib-Fakim, 2006**). Les plantes possèdent des vertus thérapeutiques, leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivantes et en particulier l'homme sont très anciennes et traditionnelles (Svoboda,2000). L'utilisation des plantes en thérapeutique connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes telles quelles ou leurs formes extractives(**Marc et al., 2001**).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Dans les pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire. Et malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (**Newman et al., 2000 ; Calixto, 2005**).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi, 2008**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (**Bahorun, 1997**).

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (**Aref et Heded, 2014**). Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies

chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'alzheimer en combattant le stress oxydant (**Meddour et al., 2013**).

En Algérie, les plantes médicinales forment un groupe relativement important mais avec un nombre modeste d'espèces étudiées pour une ou plusieurs activités biologiques ou d'un point de vue phytochimique. Parmi les nombreuses plantes médicinales encore non étudiées qui peuplent la riche flore algérienne, réservoir inestimable de molécules bioactives, nous avons sélectionné une espèce végétale du Genre *Solanum nigrum L.* Appartenant à la famille des Solinaceae pour une étude phytochimique et biologique.

Les buts de notre travail a été entrepris afin de réalises d'une études phytochimique, ainsi que d'évaluer les activités antioxydante in vitro des extraits méthanoliques de la partie aérienne de *Solanum nigrum L.* se trouve dans la région d'Oued Souf.

Cette étude comporte deux parties:

- La première partie est consacré à une synthèse bibliographique, qui constitué de trois chapitre l'un sur les métabolismes secondaires et la présentation de la plante étudiée (*Solanum nigrum L.* de Famille: Solanaceae). l'autre sur système oxydant, stress oxydant et système antioxydant.
- La deuxième partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur les matériels et les méthodes de travail; Le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion.

Enfin, nous avons terminés notre travail par une conclusion qu'est un ensemble de réflexions achève ce travail.

Partie I:

Rappels

bibliographiques

LES METABOLITES SECONDAIRES

I. Généralités sur les métabolites secondaires

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acide nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucide) (**Merghem, 2009**), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu' à son fonctionnement de base(**Hopkins, 2003**).

Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et nécessaire à leur croissance et à leur développement (**Raven et al., 2000**).

Par opposition les métabolite secondaires ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisé à partir des métabolisme primaire et résultent des réactions chimiques ultérieures (**Croteau et al., 2000; Raven et al., 2000**).

I.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (**Newman et Cragg, 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**).

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par **Albrecht Kossel en 1891**, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques(**Guillaume,2008**).

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

I.2. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes selon leurs voies de biosynthèse :

- les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins) et les quinones.
- les terpénoïdes et leurs dérivés .
- les alcaloïdes (**Bourgaud *et al.*, 2001**).

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Krief, 2003; Haven *et al.*, 2000**).

II. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel il est directement lié au moins à un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside.....etc. (**Bruneton, 2009; Jugasi *et al.*, 2003**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (**Nathalie et Jean-Paul, 2006**).

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues (**Martin & Andriantsitohaina, 2002**), allant de molécules simples à des composés hautement complexes (**Urquiaga, 2000**).

Leur accumulation dans les plantes, varie quantitativement et qualitativement non seulement dans les différentes parties de la plante, mais aussi d'une espèce végétale à l'autre. On peut distinguer les différentes classes de polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure du squelette de base (**Figure 01**) (**Harborne, 2000**).

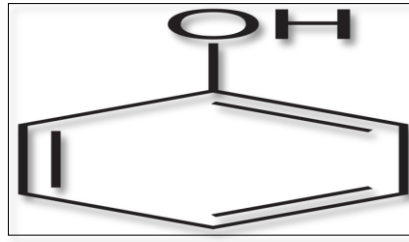


Figure N°1: Structure chimique des composés phénolique(groupe phénol) (Manallah, 2012)

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczk et Shahidi, 2003). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun L *et al.*, 2011).

II.1. Biosynthèse des polyphénols

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

➤ **La voie de l'acide shikimique :**

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tanins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tanins condensés (Haslam, 1994 ; Dewick, 1995). Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique.

➤ **Voie de l'acétate**

La voie de l'acétate conduit à l'origine des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable, menant par cyclisation des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones (Bruneton, 1999 ; Naczk et Shahidi F., 2004). De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies (du shikimate et de l'acétate) (Figure 02) dans l'élaboration de composés d'origine mixte, comme les flavonoïdes (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

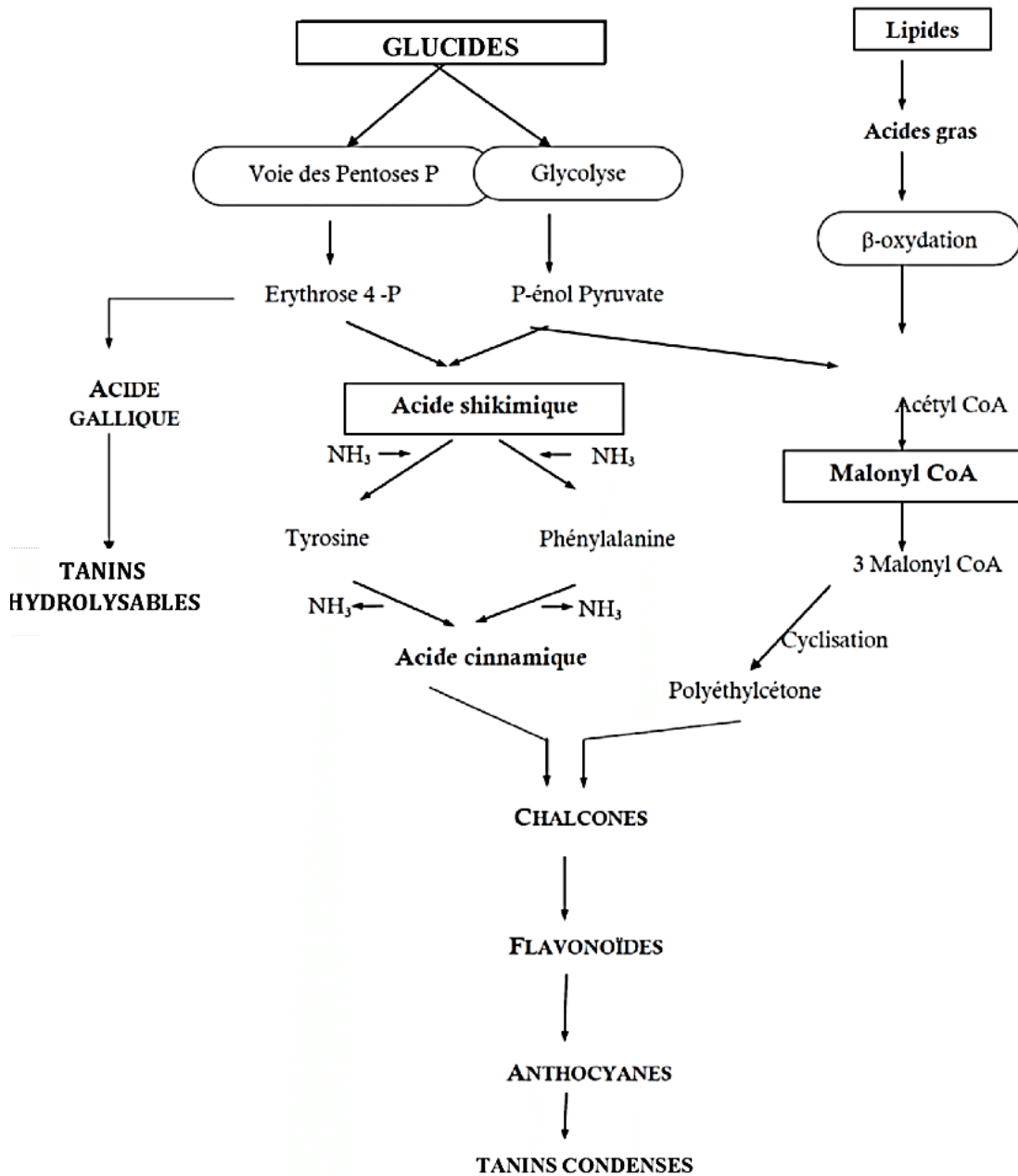


Figure N° 02 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Akroum, 2011)

II.2. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (Boros *et al.*, 2010). On peut distinguer deux grands groupes:

-Les non flavonoïdes dont les principaux composés sont: les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les coumarines et les xanthones.

-Les flavonoïdes dont on caractérise principalement : les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols.

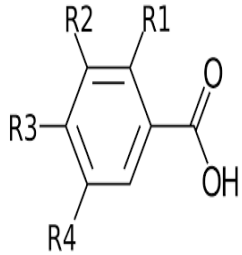
II.2.1. les composés phénoliques *non flavonoïdes*

➤ Les acides phénoliques simple

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non, seulement antioxydantes, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes. L'activité anti-oxydante phénolique est généralement combinée avec des groupes hydroxyles trouvés dans leurs molécules (Cazes, 2005). Ils sont divisés en deux classes:

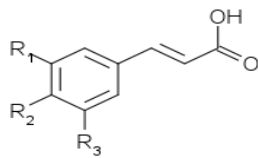
Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïques (Tableau N° 01) : sont composés d'un noyau benzénique et présentent une structure en C6-C1 (Chira, 2008).

Tableau N° 01 : Dérivés d'acide hydroxybenzoïque (Macheix *et al.*, 2005).

	R1 =R2 =R3=R4=H	acide benzoïque (non phénolique)
	R1=R2=R4=H, R3=OH	acide p-hydroxybenzoïque
	R1=R4=H, R2=R3=OH	acide protocatéchinique
	R1=H, R2=R3=R4=OH	acide gallique
	R1=H, R2=R4=OCH3, R3=OH	acide syringique
	R1=OH, R2=R3=R4=H	acide salicylique
	R1=R4=OH, R2=R3=H	acide gentisique

Les dérivés de l'acide hydroxycinnamiques (Tableau 02): représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Les molécules de base de la série hydroxycinnamique l'acide p-coumarique (et ses isomères, les acides o- et m-coumariques), l'acide caférique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxylé, et enfin l'acide sinapique (Macheix *et al.*, 2005).

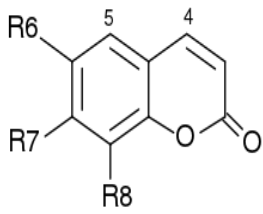
Tableau N° 02 : Dérivés de l'acide hydroxy cinnamiques (Macheix *et al.*, 2005)

	R1=R2=R3=H	acide cinnalique (non phénolique)
	R1=RH, R2=OH	acide p-cinnamique
	R1=R2=OH, R3 =H	acide caféique
	R1=OCH3, R2=OH, R3=H	acide férulique
	R1=R3=OCH3, R2=OH	acide sinapique

➤ Les coumarines

Ce sont des substances naturelles, organiques et aromatiques constituées de neuf atomes de carbone caractérisées par le noyau 2H-1- benzopyrane-2-one (Mpondo *et al.*, 2015). Les coumarines dérivent des acides hydroxy cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (Macheix *et al.*, 2005) (Tableau 03).

Tableau N°03: Principaux types de coumarines (Macheix *et al.*, 2005).

Structure	R6	R7	R8	Acide phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétole
	OCH3	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

II.2.2. les composés phénoliques flavonoïdes

➤ Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havsteen, 2002).

Où ils peuvent être localisés dans divers organes : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993).

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone (Macheix, 2005), constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Figure N°02) (Bruneton, 1999).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Macheix., 2005), en formant une structure de type diphenyle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana, 2001; Malesev et Kuntic, 2007).

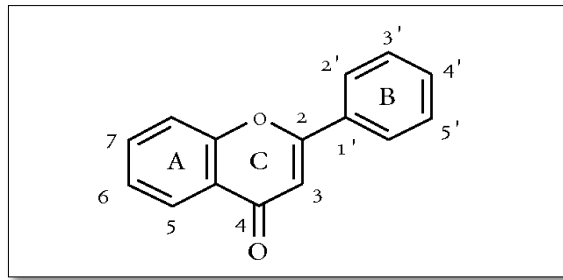


Figure N°03: Structure chimique générale des flavonoïdes (Chanvallon *et al.*, 1994).

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanols, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanes (**Figure04**). Les propriétés chimiques de ces composés varient suivant leur classe, mais également en fonction de leur degré d'hydroxylation, de leur degré de méthylation, de leur degré de glycosylation et du degré de polymérisation autour de la structure commune C6-C3-C6 (**Jessica, 2010**).

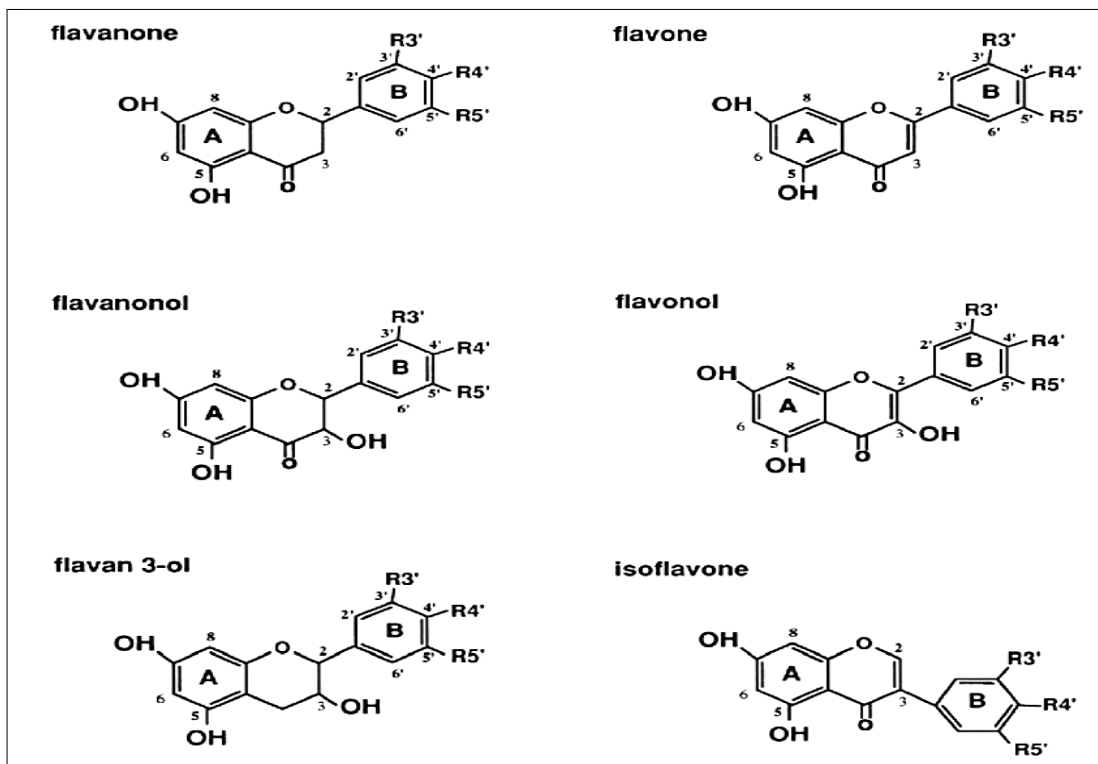


Figure04: Différentes classes de flavonoïdes (Nkhili, 2009).

➤ Tanins

Ce sont des métabolites secondaires phénoliques capables de se lier aux protéines en solution et de précipiter. Leur poids moléculaire est compris entre 5000 et 30000 Daltons, les tanins sont très répandus dans le règne végétal, ils existent dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines. (**Khanbabaea et Ree, 2001**).

Chez les végétaux supérieurs, On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

1. Tanins hydrolysables

Ce sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) en ose (généralement le glucose) et en acides phénols(**Figure N°5**) (**Khanbabaea et Ree, 2001**). Selon la nature de l'acide phénol on distingue :

1.1. Tanins galliques ou gallo-tanins : par hydrolyse ils libèrent l'ose et l'acide gallique (**Bruneton, 1999**).

1.2. Tanins ellagiques ou ellagi-tanins : par hydrolyse, ils libèrent l'ose, l'acide HHDP (acide hexahydroxy diphénique) et différents dérivés (acide ellagique et acide chébulique) (**Paris M et Hurabielle, 1981**).

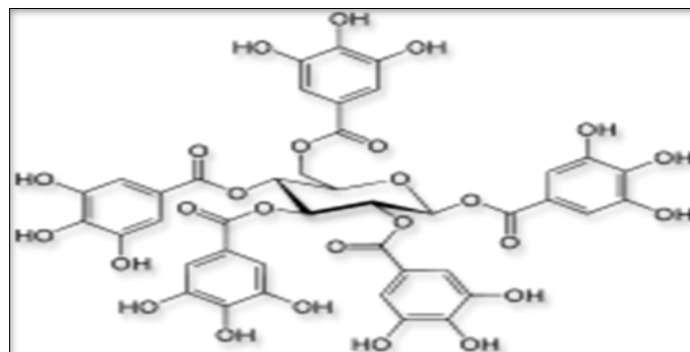


Figure N°5: Structure de base Tanins hydrolysable (**Paris M et Hurabielle, 1981**).

2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères (**Khanbabaea et Ree, 2001**), ce sont des tanins non hydrolysables (Dits catéchiques et proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tanins galliques, ils possèdent une squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (**Figure N°06**)(**Zimmer et Cordesse, 1996**).

Il est admis aujourd'hui que ces tanins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines(flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4-dioles), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (**Richter, 1993**).

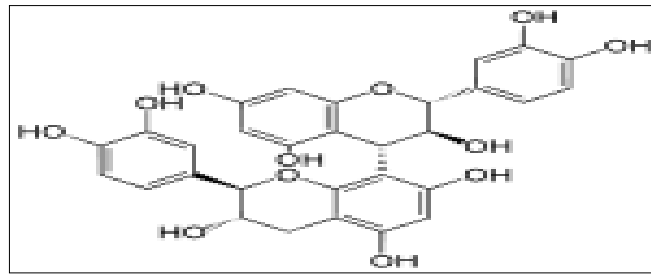


Figure N°06 : Structure de base Tanins condensés (Pariset Hurabielle, 1981).

Tableau N°04: : les principales classes de composés phénoliques(Vermerris et Nicholson, 2006)

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acetophenone et acide phenylacetique
C6-C3	Acide cinnamique et aldehyde cinnamyle et alcool Cinnamyle
C6-C3	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chalcones, aurones, dihydrochalcones
C15	Flavanes
C15	Flavones
C15	Flavonones
C15	Flavonoles
C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzophenones, Xanthones, Stilbenes
C6, C10, C14	Quinones
C18	Betacyanines
Lignans, neolignans	Dimers ou oligomers
Lignin	Polymers
Tanins	Oligomers ou polymers
Phlobophenes	Polymers

III. les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte(**Malecky, 2008**).résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprènes (C₅H₈) et ont formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire(C₅H₈)_n (**Figure 07**)(**Nait Achour, 2012**).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone,... etc.) (**Malecky, 2008**).

Les terpénoïdes ont des activités biologiques et pharmacologiques variées : anti-inflammatoire, antivirus, analgésiques, antibactériennes et antifongiques (**bisoli et al., 2008**; **Bruneton, 2009**).

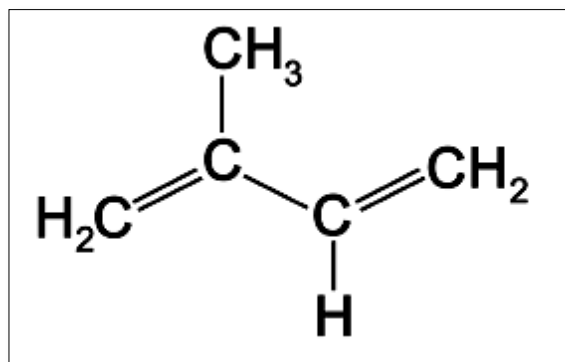


Figure N°07: Structure de la molécule d'isoprène (**Calsamiglla et al., 2007**).

IV. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Figure N°08**)(**Donatien K., 2009**).

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement, ainsi que dans la défense contre les prédateurs et les pathogènes (**Judd et al., 2002**). Ils peuvent être utile dans la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections viral...) (**Namdeo, 2007**).

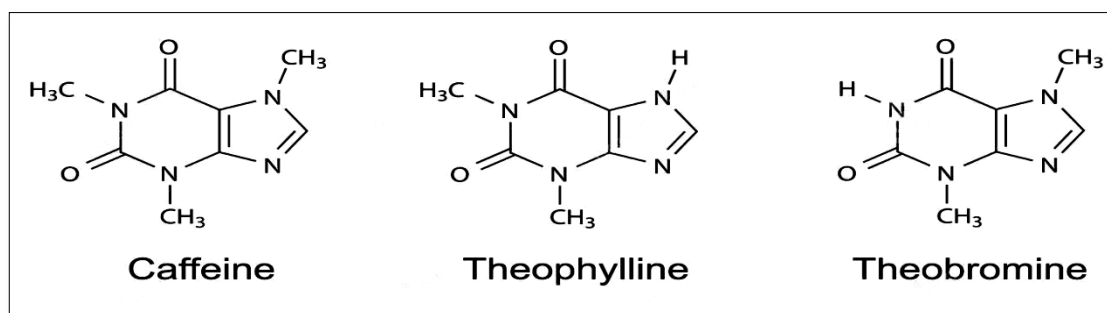


Figure N°08 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (Bruneton, 2009).

PRESENTATION DU PLANTE ETUDIEE

I. Le Plante Etudiée (*Solanum nigrum L.*)

I.1. Description Botanique

I.1.1. Famille des Solanaceae

Les solanacées sont des familles de plantes les plus importantes et ont de nombreuses ressources importance , où ils sont généralement répartis partout dans le monde, en particulier dans les zones humides (**Coelho et al., 2017**). sa plus grande concentration de diversité se trouve en Sud Amérique et on pense que la famille est originaire d'ici (**Samuels,2015**).

La solanacée est une grande famille variée d'arbres, d'arbustes et d'herbes comprenant, environ 106 genres et 2300 espèces sont actuellement reconnus (**Shah et al.,2013;Coelho, 2017**).

Les genres les plus importants sont *Solanum*, qui regroupe a lui seul 1500 espèces (**Nyeem et al., 2017**).

I.1.2. Espèce *Solanum nigrum L.*(Nom commun: morelle noire)

Solanum nigrum L. mesure 25-100 cm de hauteur, herbe annuelle érigée, pubescent avec des poils simples. Les tiges sont souvent angulaires, peu pubescente. Les fruits sont noir terne, globuleux, 8-10 mm de diamètre. Les feuilles sont ovales, les bases sont cunéiforme, 4-10 et 3-7 cm de large, pubescent, grossièrement denté, sommet et épuisé. Les inflorescences sont des ombelles extra axillaires, le calice en forme de coupe, la corolle est blanche, les lobes ovales-oblongs , en détresse abaxiale , ciliés; diffusion. Les filaments ont une longueur de 1 à 1,5 mm; les anthères sont 2.5- 3,5 mm de long (**Figure 09**) (**Ruby et al.,2012**).



Figure 09: image est présenté la plante *Solanum nigrum L.* (**Ruby et al.,2012**).

I.1.3. Position systématique

La classification des plantes de la famille des Solanaceae est la suivante (**tableau 05**).

Tableau 05: Classification scientifique de *Solanum nigrum L.* (**Saleem et al.,2009; Ruby et al., 2012**)

Règne	Végétal
Embranchement	Embryophyta
Sous-Embranchement	Angiospermae
Classe	Dicotyledoneae
Ordre	Tube-florae
Sous- Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	Solanum
Espèce	<i>Solanum nigrum L.</i>

I.2. Habitat et Distribution géographique

Solanum nigrum L. est une plante herbacée largement répandue dans toute le monde, qui s'étend des régions tropicales aux régions tempérées; en Europe, en Asie et en Nord Amérique. et a été introduit en Sud Amérique, en Australie et en Afrique (**Rizzo et al., 2019**).

Ce espèce est largement utilisés que dans quelques pays Afrique et Indonésie comme légume et source de fruits par la récolte de plantes en croissance spontanément comme mauvaises herbes dans les champs cultivés ou dans les plantes adventices communautés, sous les arbres, le long des clôtures et des routes, dans des zones, à proximité des bâtiments et sur des terrains vagues. Ils ont donc constituer une culture volontaire. Certaines communautés cultivent semi le légume dans les jardins domestiques ou sur des portions de terres fertiles à proximité les fermes. (**Saleem et al., 2009**).

I.3. Composition chimique

S. nigrum L. possède de nombreux composés qui sont responsable des activités pharmacologiques. Son actif les composants sont des glycoalcaloïdes, des glycoprotéines et polysaccharides, composés polyphénoliques tels que acide gallique, catéchine, acide

protocatéchuique (PCA), acide caféique, épicatechine, rutine et naringénine (**Ruby et al., 2012**).

I.4. Activités biologiques et thérapeutiques de *Solanum nigrum L*

Solanum nigrum L. est l'un des plus gros et hyper diversité genre de la famille des solanacées. Son hyper diversité rend non seulement intéressant du point de vue taxonomique mais aussi pour son utilité pour l'humanité (**Shah et al., 2013**).

Les racines, les feuilles, les fruits et les fleurs de *Solanum nigrum L.* Possède une valeur vitale important ancien et moderne (**Ammaan et al., 2017**).

L'utilisation *Solanum nigrum L.* est mentionnée dans tous les herbicides précoces, Dioscoride étant l'un des premiers à enregistrer leurs propriétés médicinales. *S. nigrum L.* est utile en cas de panique en tête, cœur brûlant et chaleur de l'estomac. Est utilisé largement pour le traitement des brûlures et les ulcères par les Arabes (**Shah et al., 2013**).

Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de *Solanum nigrum L.* en tant qu'agent antiseptiques, anti-inflammatoires, antidysentériques, antiviral, antioxydant, antimicrobienne, anti-cancéreux, Activité immunostimulante (**Singh,2017; Ammaan et al., 2017; Nyeem et al., 2017**).

SYSTEME OXYDANT, STRESS OXYDANT ET SYSTEME ANTIOXYDANT

I. Le Système Oxydant et Stress Oxydant

I.1. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (**ERO**) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (**Valko et al., 2007**).

Actuellement, on emploie le terme « espèces réactives de l'oxygène » pour désigner un ensemble plus large de molécules, Il existe trois principales catégories de radicaux libres (**Tableau 06**):

- **Des dérivés de l'oxygène:** (Les espèces oxygénées actives (**EOA**)) non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) (**Bouزيد, 2014**) comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , L'oxygène singulet 1O_2 et le nitroperoxyde $ONOOH$, mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (**Favier, 2003**).
- **Les espèces azotées actives (EAA):** comme par exemple l'ion peroxydinitrite ($ONOO^-$), le monoxyde d'azote (NO) (**Mohamed, 2014**).
- **Des radicaux oxygénés:** caractérisés par un électron non apparié: (l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, les radicaux hydroxyles $HO\cdot$, peroxyde $ROO\cdot$, alkoxyde $RO\cdot$) (**Favier, 2003**).

Tableau 06: les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (**Valko et al., 2007**).

Radicaux libres	Non Radicaux libres
Superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)	L'oxygène singulet 1O_2
Radical hydroxyle $HO\cdot$	peroxyde d'hydrogène H_2O_2
monoxyde d'azote ($NO\cdot$)	Ozone (O_3)
Dioxyde d'azote ($NO_2\cdot$)	Acide hypochloreux ($HOCl$)
Peroxyde , alkoxyde ($ROO\cdot, RO\cdot$)	Peroxydinitrite ($ONOO^-$)
Peroxyde lipidique ($LOO\cdot$)	Peroxyde lipidique ($LOOH$)

I.2. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur la couche électronique la plus externe, ce radical est très instable il réagit

rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir sa stabilité (**Favier, 2003**). Les sources principales de ces radicaux libres sont représentées dans le tableau suivant (**Tableau 07**).

Tableau 07 : principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes) (**Delattre et al.,2005; Pastre, 2005**).

Sources des radicaux libres	
Endogènes	Exogènes
<ul style="list-style-type: none"> - NADPH oxydase - Chaîne respiratoire mitochondriale - Peroxysomes - Cytochromes P450 - Xanthine oxydase - Cyclo-oxygénases - Lipo-oxygénases 	<ul style="list-style-type: none"> - Toxiques environnementaux - Radiations ionisantes - Radiations UV - Champ électrique - Xénobiotiques pro-oxydants - Cytokines pro-inflammatoires

I.3. Stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant » (**favier, 2003**).

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut être due à une diminution des défenses antioxydantes ou à une augmentation de production des radicaux libres (**Orban, 2010**).

I.4. Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions des molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, et des glucides), mais aussi lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003; Gardès-Albert et al., 2003**)

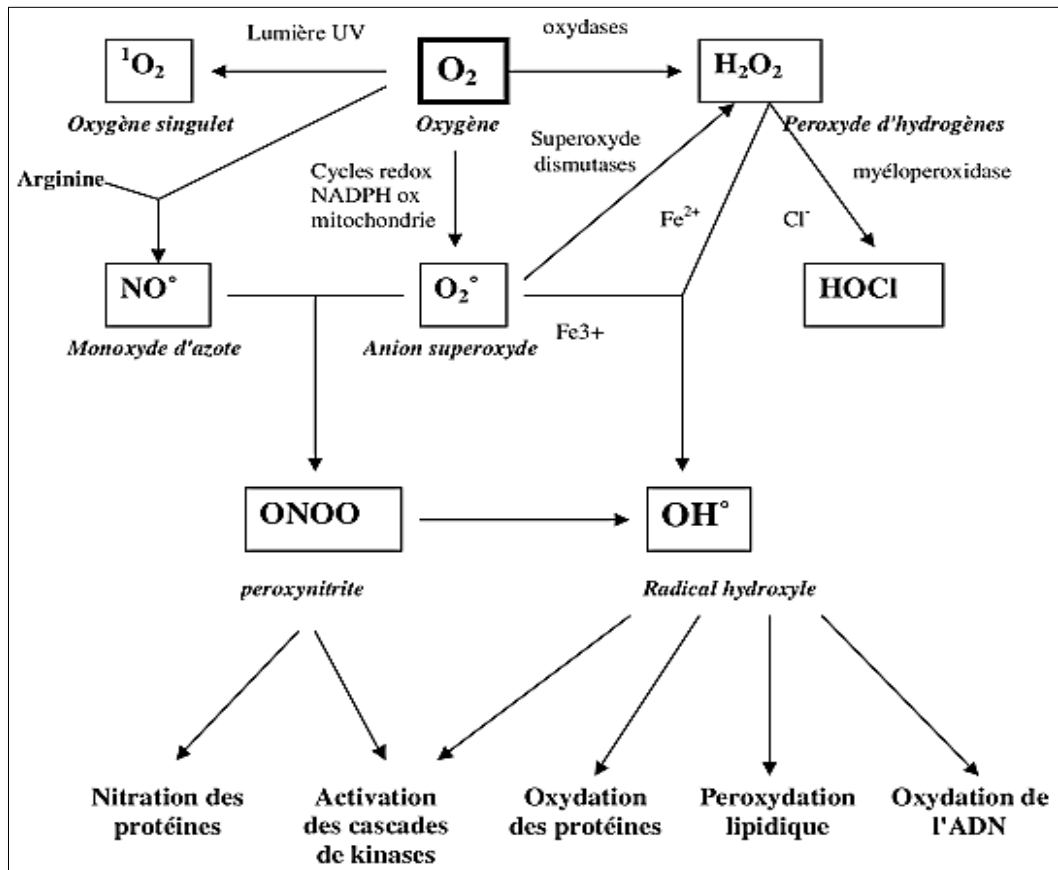


Figure 10: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

II. Les systèmes antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Haleng, 2007).

Les antioxydants sont définis par HALLIWELL (1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine, On distingue deux sources d'antioxydants (Figure 11) (Delattre *et al.*, 2005):

- les enzymes antioxydantes directement synthétisées par l'organisme.
- les nutriments antioxydants dont les apports sont nécessaires par l'alimentation (Haleng, 2007; Pastre, 2005).

Cette dernière classe d'antioxydants nous intéresse particulièrement puisque nous verrons s'il est possible de renforcer les défenses de l'organisme en augmentant les apports exogènes de ces différentes molécules (Pastre, 2005).

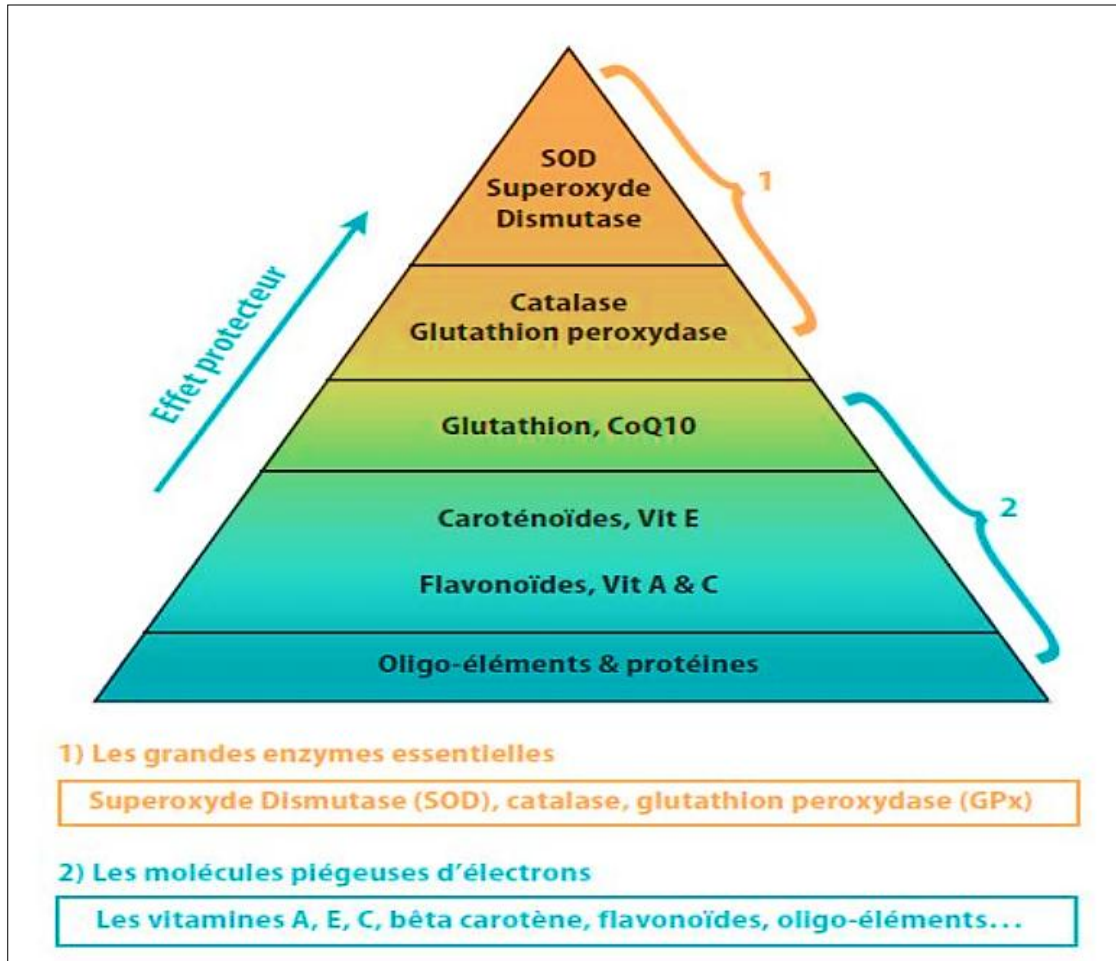


Figure 11 : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Menvielle-Bourg, 2005).

II.1. Classification des antioxydants

II.1.1. Antioxydants endogènes

II.1.1.1. Antioxydants enzymatiques

II.1.1.1.1. Les Superoxyde dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Figure 12) (Haleng *et al.*, 2007).

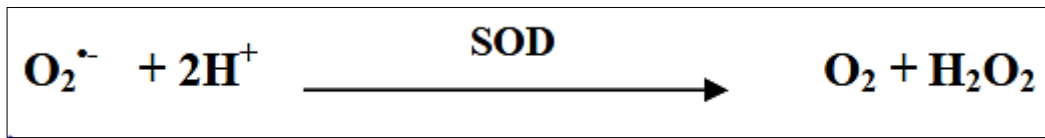


Figure 12: Dismutation de l'anion superoxyde par la superoxyde dismutase (**Menvielle-Bourg, 2005**).

Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire leur et leur localisation cellulaire (**Haleng et al., 2007**).

II.1.1.1.2. Catalase

La catalase(CAT) est une enzyme commune à presque tous les organismes vivants, qui sont exposés à l'oxygène, où elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (**Figure13**) (**Chelikani et al., 2004**), le peroxyde d'hydrogène est un sous-produit nocif de nombreux processus métaboliques normaux: Pour éviter tout dommage, il faut le transformer rapidement en d'autres substances moins dangereuses (**Gaetani G et al., 1996**).

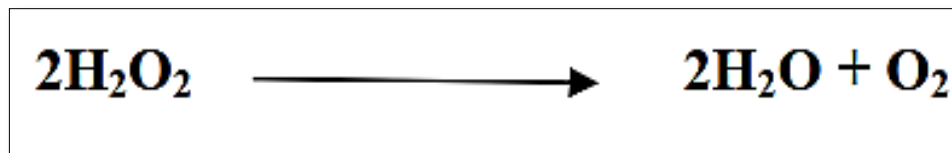


Figure 13: Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en dioxygène par la catalase (**Menvielle-Bourg, 2005**).

II.1.1.1.3. Glutathion peroxydase (GPx) et réductase (GSH)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence (**Haleng, 2007**).

II.1.1.1.4. Le système thiorédoxine

Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng *et al.*, 2007).

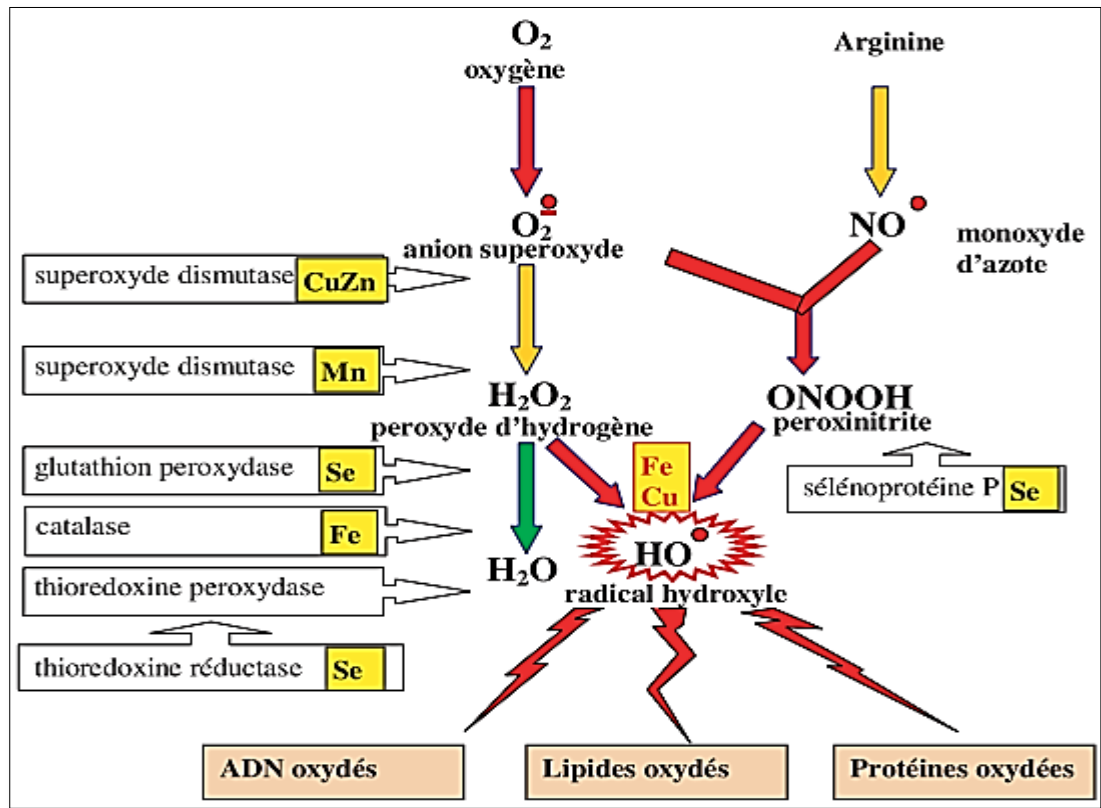


Figure 14: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

II.1.1.2. Systèmes antioxydants endogène non enzymatiques

Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques présents dans l'organisme humain comprennent le glutathion (un tripeptide à pouvoir réducteur), bilirubine (capable de piéger des radicaux peroxyde et l'oxygène singulet), les hormones sexuelles (œstrogènes capables d'inhiber la peroxydation lipidique), l'acide urique (un piègeur puissant de radicaux $\bullet\text{OH}$, $\text{RO}_2\bullet$, d'oxygène singulet et de $\text{NO}_2\bullet$), le coenzyme Q10 (un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E) (Delattre *et al.*, 2005 ; Haleng *et al.*, 2007).

II.1.1.3. Les systèmes antioxydants exogène

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

Notre organisme a aussi besoin d'un apport externe d'antioxydants provenant d'une alimentation saine et équilibrée, riche en antioxydants, parmi ces molécules antioxydantes exogènes, on trouve les vitamines C, E et A ainsi que des polyphénols, le glutathion, les caroténoïdes. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc, cofacteurs d'enzymes antioxydantes (**Tato Rocha et al., 1994**).

CHAPITRE
01:
MATERIEL
ET
METHODES

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

I.1. Matériel végétale

I.1.1. Récolte de la plante

La plante *Solanum nigrum L.* est récoltée à la mois de Aout dans la région saharienne Guemar de Oued Souf. L'échantillon est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre .

Devenue sèche, la partie aérienne de la plante est récupérée, stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant son utilisation(**figure 15**).



Figure 15 : Localisation géographique de Guemar (El Oued) (Google maps 2019)

I.1.2. Préparation des extraits bruts méthanoliques

20g de la partie aérienne du plante a subit une macération dans 100 ml de méthanol 99.7% pendant 24 h a température ambiant , après filtration, les solutions méthanoliques sont évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif type Heating Bath B-491 à 60°C. Les résidus secs pesés conservent à 4°C(**Figure 16**) (**Parameswari et al., 2012**).

- Calcul des rendements en extraits secs

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$R (\%) = P1 / P2 \times 100$$

P1 : Poids de l'extrait après l'évaporation du solvant

P2 : Poids de la matière végétale utilisée pour l'extraction (**Falleh et al., 2008**).

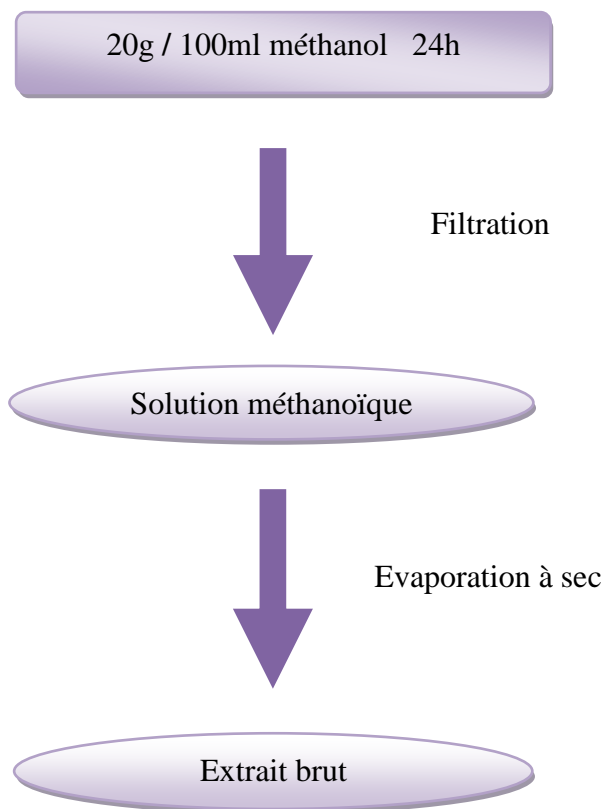


Figure 16 : Protocole d'extraction des extraits bruts
(Harborne,1973)

II. Méthodes

II.1. Tests phytochimiques

II.1.1. Tests phytochimiques 1

Dans une erlenemeyer, 10g de matériel végétale est mis en présence de 50 ml de H₂SO₄ diluée au 1/10 pendant 24 heures. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests présentés au **figure 17**.

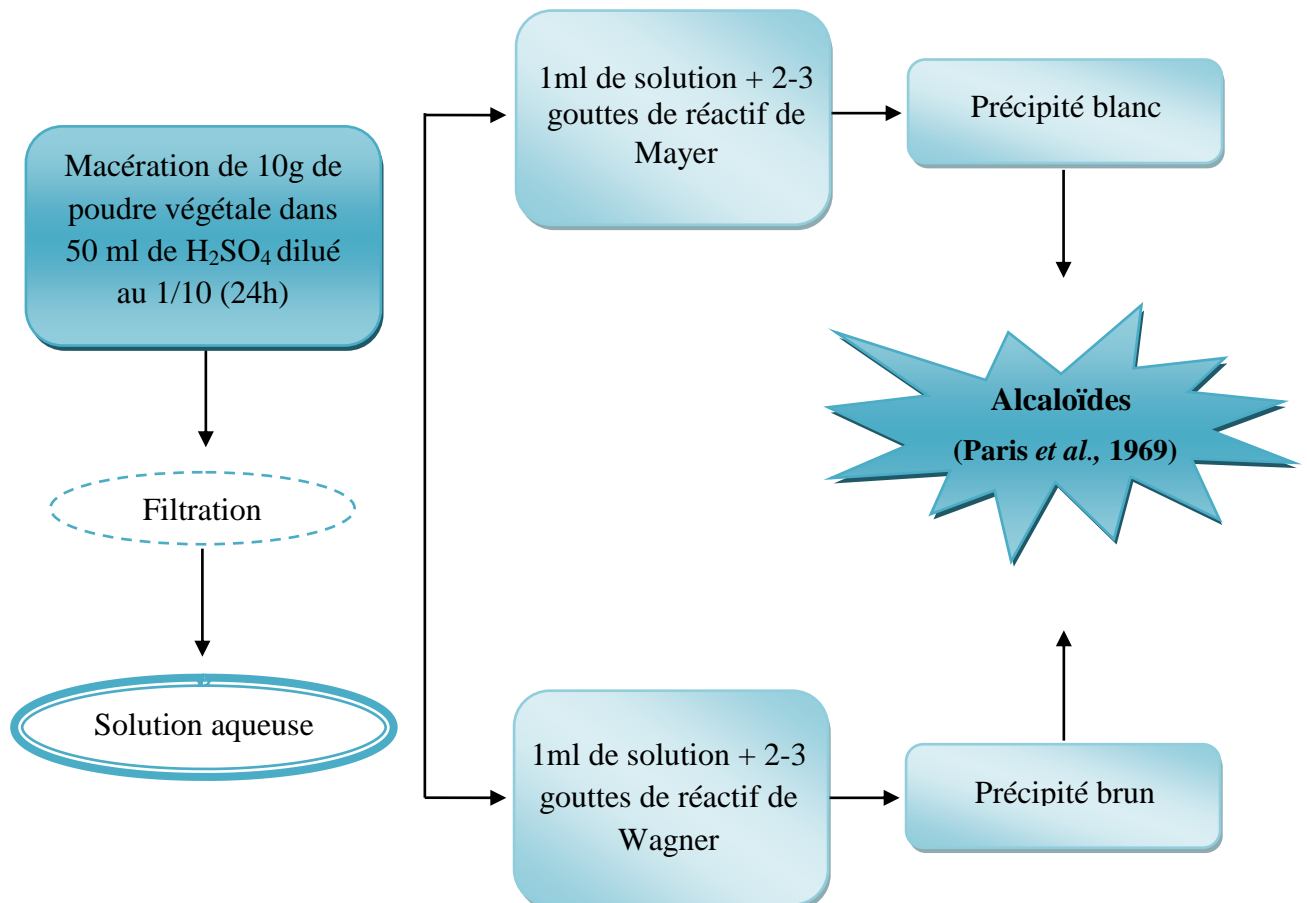


Figure17 : Tests phytochimiques 1(Kanoun, 2011)

II.1.2. Tests phytochimiques 2

Dans une erlenmeyer, 20g de matériel végétale est mis en présence de 100 ml de méthanol pendant 24 heures. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests présentés au **figure 18**.

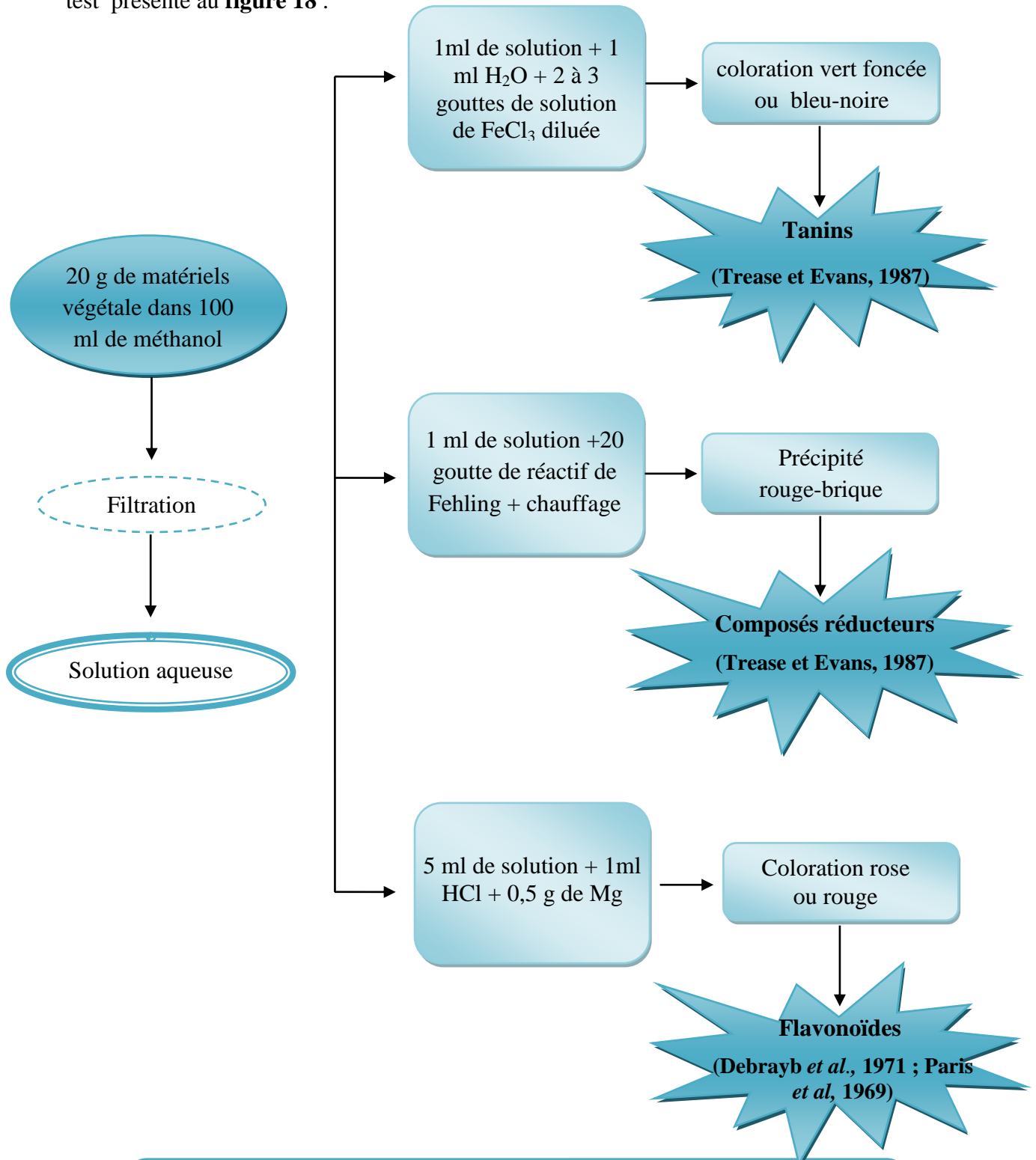


Figure 18 : Tests phytochimiques 2 (Kanoun, 2011; Achouak, 2018)

II.1.3. Tests phytochimiques 3

Dans une erlenmeyer, Macération de 5g de poudre végétale dans 10 ml d'éther (24h). Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux test présente au **figure 19** .

Au même façon ,faire une macération dans une erlenmeyer de 20g de poudre végétale dans 100 ml d'eau distillé (24h) puis est filtré le mélange et soumis aux test présente au **figure 19**.

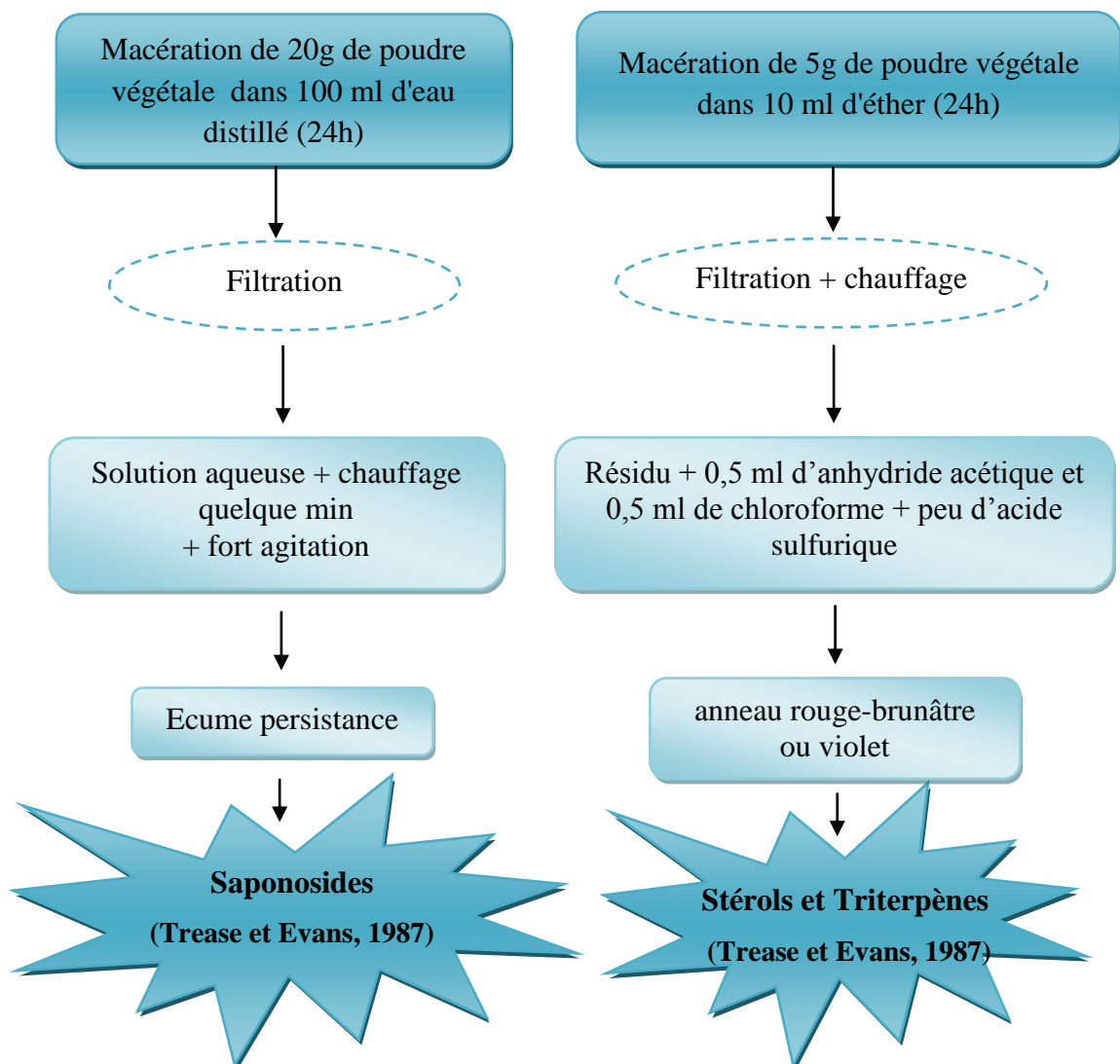


Figure 19 : Tests phytochimiques 3 (Kanoun, 2011)

II.2.Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

II.2.1.1. Principe

Le dosage des polyphénols se fait avec le réactif de Folin-Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**), qui en milieu alcalin se réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols. (**Slinkard & Singleton, 1977; Singleton et al., 1999**).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Laraba et al., 2016**).

La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 725-760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot & Charpentier, 2006**).

II.2.1.2. Méthode de dosage

100 μ L d'extrait végétal dilué dans le méthanol est mélangé avec 500 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois. Après 5 minutes, 400 μ L de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 7,5% sont ajoutés. Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante. L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche. (mg GAE/g). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

II.2.2.1. Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par (**Dohou et al., 2003**) avec le trichlorure d'aluminium. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes absorbe dans le visible a 420 nm.

II.2.2.2. Méthode de dosage

500 µl de l'extrait brut méthanoliques sont mélangés avec 500 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 02% (prépare dans le méthanol). Les tubes sont agités et conservés à la température ambiante et à l'obscurité durant un heure puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la quercetin à différentes concentrations(0-20-30-40-60-80µg/ml) préparée dans le méthanol comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de plante étudiée est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la quercetin par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

II.2.3. Dosage des tanins

II.2.3.1. Principe

Les tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à la vanilline en milieu acide (**price et al., 1978**). Cette méthode est basé sur l'aptitude à réagir avec les unités vanilline des tanins condensés en présence d'acide (HCl) pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (**Moumene et al., 2014**).

II.2.3.2. Méthode de dosage

Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesuré à 550 nm contre un blanc (**Kanoun, 2011**).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de l'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

II.3.Méthodes de dosage des activités antioxydants in vitro

II.3.1. Le test de piégeage du radical DPPH

II.3.1.1. Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode la plus utilisée généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant (**Ferhat et Mehyach, 2017**).

Le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution (**Laraba et al., 2016**). En présence d'antioxydants, l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH• du violet foncé (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H) **figure20**. Cette décoloration est dû à la capacité d'échantillon de piéger ce radical (**Khima et Merabti, 2015**).

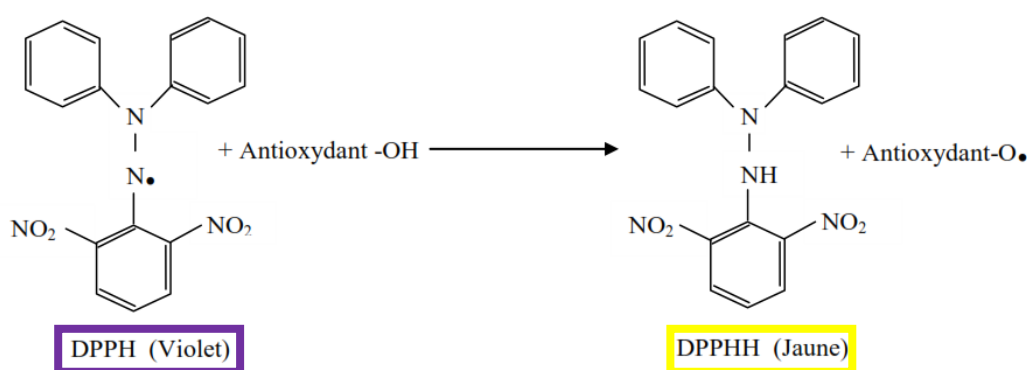


Figure20 : Réduction du radical DPPH• (**Talbi et al., 2015**)

II.3.1.2. Méthode de dosage

Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole appliqué en (El aabid, 2009). Brièvement, 800 µl d'une solution méthanolique de DPPH (4%) a été mélangé avec 200 µl de différentes dilutions des extraits de plante (0-1000 µg/ml). Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 800 µl de la solution de DPPH et de 200 µl de méthanol.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\%PI = [(Abs\ contrôle - Abs\ échantillon) / Abs\ contrôle] \times 100$$

La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC₅₀); la valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC₅₀ est exprimée en µg/ml (Laraba *et al.*, 2016).

II.3.2. Dosage de la capacité antioxydant totale « test de phosphomolybdate »

II.3.2.1. Principe

La méthode utilisant le phosphomolybdate d'ammonium est un test antioxydant important basé sur la réduction de Mo₊₆ en Mo₊₅ par un composé antioxydant. Ceci conduit à la formation d'un complexe de phosphate /Mo₊₅, de couleur verte, avec une absorption maximale à 695nm. (Nagavani *et al.*, 2010).

II.3.2.2. Méthode de dosage

L'activité antioxydant des échantillons est évaluée par la méthode utilisant le phosphomolybdate telle qu'elle est décrite par (Prieto *et al.*, 1999). Un volume de 200 µL d'échantillons à différentes dilutions est mélangé avec 2 ml de la solution contenant les réactifs (acide sulfurique à 0,6 M, phosphate de sodium à 28 mM et molybdate d'ammonium à 4 mM). Les tubes à essais ont été incubés dans un bain Marie à 95°C

pendant 90 minutes. Après refroidissement des échantillons à température ambiante, l'absorbance de mélange est mesurée à 695 nm.

Les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche de l'extrait (mg EAA/g EXS).

II.3.3. Test hémolyse

II.3.3.1. Principe

Le test d'effet hémolytique de la plante étudiée a été réalisé selon la méthode d'**Abirami et al.(2014)**. Le but de ce test est la mesure de la capacité de l'extrait méthanolique à retarder ou à inhiber la lyse des globules rouges après une exposition à des substances oxydantes et aux radicaux libres, en mesurant la proportion des cellules sanguines dissous .

II.3.3.2. Méthode de dosage

Le sang est récupéré sur anticoagulant EDTA ensuite le tube est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 10 min. 1ml du culot est ajouté a 1ml de H₂O puis il est centrifugé à 3000 tr/mn pendant 10 min 2 fois. 40µl de surnagent est ajoute a 2ml d'extrait, et laisser le mélange 05 min en 37° C après ajouter 40µl de solution peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (30 mmol), 40µl de solution FeCl₃ (80 mmol), 20µl solution acide ascorbique (50 mmol), le mélange place dans un bain marie a température 37°C, après incubation 60 min le mélange est centrifugé à 700 tr/mn pendant 10 min. La longueur d'onde du spectrophotomètre est fixé à 540 nm cette opératoire répété avec différente concentration d'extrait(100-1000µg/ml).

Pour tracer la courbe d' étalonnage en prenant l'acide ascorbique comme un standard à différentes concentrations (40-120µg/ml), dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions des échantillons.

Les résultats du test d'hémolyse sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la lyse des globules rouge. La pouvoir d'inhibition a été calculé à partir la relation suivante :

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs}_{\text{contrôle}} / \text{Abs}_{\text{échantillon}}] * 100$$

Abs_{contrôle} : Absorbance de milieu réactionnelle en absence de l'extrait.

Abs_{échantillon} : Absorbance de milieu réactionnelle en présence de l'extrait (**Chouikh, 2018**).

II.3.4. Analyse d'infrarouge (IR)

Dans le but de mesurer les spectres infrarouges des extraits étudiés, la concentration a été sélectionnée 1mg/ml par l'appareil spectroscopie infrarouge dans longueur d'onde 650-4000 nm.

La spectroscopie d'infra-rouge permet de déterminer la présence de groupements fonctionnels dans les molécules organiques, et les structures dans certaines molécules simples(Venkat Kumar et al., 2017).

CHAPITRE

02

RESULTATS

ET

DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Rendement d'extrait brut méthanolique

Le rendement de l'extraction qui est le rapport entre le poids d'extrait et le poids de plante sèche est donné dans le **tableau08**.

Tableau08: Rendement d'extraits obtenus

Poids de poudre (g)	R%	Couleur d'extrait
20g	12.14	Vert foncé

Le taux de rendement estimé dans l'extrait méthanolique par trempage dans le raisin-loup **12.14%** est plus élevé que celui de l'étude de **Mahomet**, dont le taux de rendement pour la même plante a été estimé dans le même solvant à **10.98%**.

La cause de la différence peut être attribuée à la méthode de collecte, de dilution et de durée de conservation de l'échantillon, car les composés de la plante sont influencés par des facteurs externes tels que la lumière et la chaleur, qui agissent sur la destruction moléculaire de certaines matières végétales. Aussi, l'humidité qui conduit au démantèlement des molécules chimiques par les enzymes (علية ف. سعدون ن., 2016).

II. Tests phytochimiques

Les résultats dans le **Tableau 09** présentent les résultats de test phytochimiques du plant *Solanum nigrum*

Métabolites secondaires	Observation	Présence ou absence dans l' extrait
Phénols	coloration bleu-noire	++
Alcaloïdes	Apparition d'un précipité blanc	++
Tanins	coloration vert foncée ou bleu-noire	++
Composés réducteurs	La formation d'un précipité rouge-brique	+
Flavonoïdes	Apparition d'une coloration rose ou rouge	++
Stérols et Tri terpènes	La formation anneau rouge-brunâtre ou violet	+
Saponosides	Apparition de mousse	++

(+):Test positif / (++):Test fortement positif

À travers les résultats de tests phytochimiques présentés dans le **tableau 09** montrent que la plante contient une large gamme de produits actifs, basée sur le test de nombreuses interactions avec des réactifs qualitatifs, entraînant des changements de couleur ou des précipitations.

Notre étude a montré que la plante *S.nigrum* contient un grand nombre des composés secondaires représentés par des Alcaloïdes , Tanins , flavonoïdes , Composés réducteurs , Stérols et Tri terpènes et Saponosides, c'est ce qu'il a indiqué par (**Sridhar et al., 2011; Khattak et al., 2012; Aduwamai et al., 2018**) que l'extrait méthanolique de la même plante contient Alcaloïdes , Tanins , flavonoïdes , Composés réducteurs , Stérols et Tri terpènes et Saponosides.

Ainsi que des résultats de l'extrait d'eau Compatible avec les résultats de (Mohammed *et al.*, 2009) Où il a trouvé l'extrait d'eau de la même plante Nous l'avons étudié contient le saponines.

Le travail de (Nyeem *et al.*, 2017) a rapporté la présence de même classes de familles chimiques retrouvées au niveau de la partie aérienne de cette plante.

De même les tests phytochimiques réalisés par (Zemali et Ouahrani, 2013) En Algérie, ont montré également que les feuilles de *Solanum nigrum L.* Contiennent de nombreux de métabolite secondaires qui approbation pour notre étude.

Le teste phytochimique réalisé sur la partie aérienne de *Solanum nigrum L.*, a révélé la présence des alcaloïdes, les saponosides et des flavonoïdes, tanins et des phénols en quantités importante, et les composés réducteurs, stérols et tritérpènes en quantités moins importante.

Une analyse phytochimique qui permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. C'est pour cela les plantes des zones arides produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et l'environnement (Rira, 2006).

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (Ouedraogo, 2001). Ce qui justifier l'utilisation multiple de *Solanum nigrum L.* en tradi-thérapeutique.

III.Méthodes de caractérisation quantitative des polyphénols

III.1. Teneur des extraits en polyphénols totaux (PPT)

La quantification en phénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour l'extrait méthanolique du plant étudié à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique, Le résultat obtenu est exprimé en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sec (mg EAG/g EXS). (l'équation standard de courbe : $y = 0.0148x + 0.0123$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9841$) (figure 21).

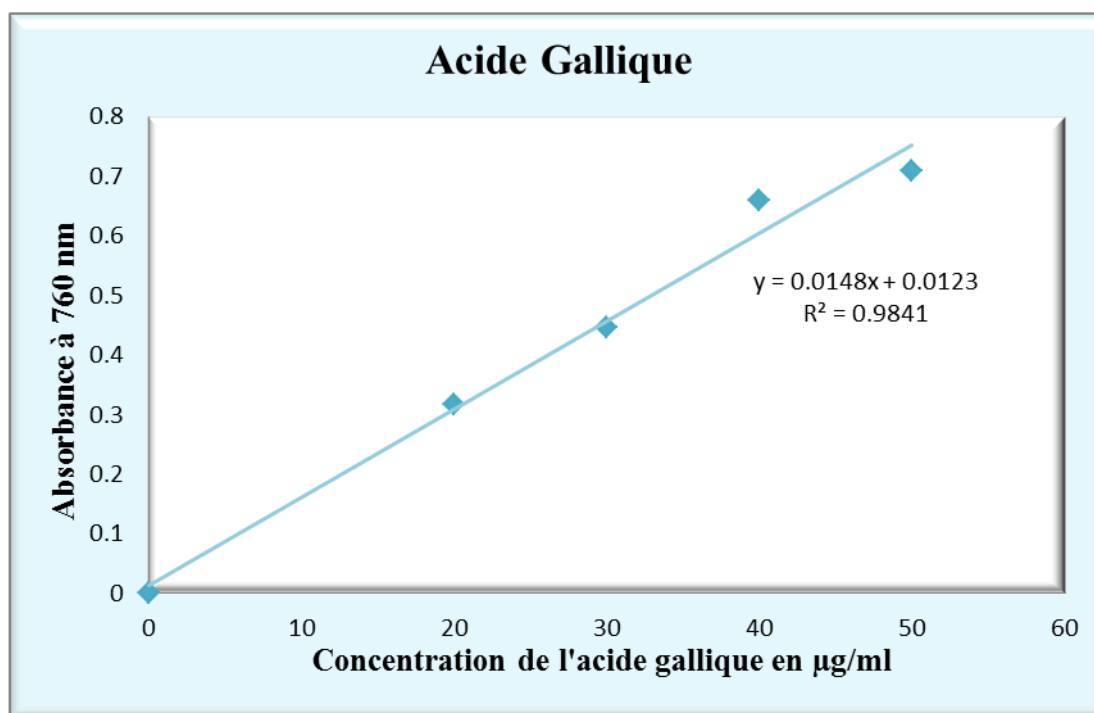


Figure 21: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour dosage des polyphénols totaux..

Le tableau ci-dessous représente la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait des feuilles de *Solanum nigrum L.*

Tableau 10 : Teneur en phénols totaux dans l'extrait méthanolique de *S.nigrum*

Echantillon dosé	Teneur en polyphénols totaux (mg d'acide gallique/g d'extrait)
L'extrait méthanolique des feuilles <i>S.nigrum</i>	171.82 ±13.42

D'après Le résultat dans ce tableau , Les valeurs de polyphénols de notre étude étaient plus élevées par rapport des études par **Umaru et al., (2018);Campisi et al., (2019)**, dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Solanum nigrum* ,est estimé d'environ (70.60 ± 2.15 mg EAG/g EXS) ; (92.2± 4.8 mg EAG/g EXS) respectivement.

Le résultat trouvé dans les travaux de **Islam et al., (2018)** a montré que la teneur en polyphénols totaux dans extraction méthanolique de *S.nigrum* est égale(163.07 mg EAG/g EXS) ,Ce résultat est proche à notre résultat obtenu.

Les teneurs en polyphénols diffèrent d'auteur à un autre Cela est probablement dû à différents facteurs intrinsèque et extrinsèque de plante.

III.2. Teneur des extraits en flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), la quercétine a été utilisée comme étalon. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de l'extrait sec (mg EQ/g EXS).

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**figure 22**), ayant l'équation: $y = 0.0273x + 0.0831$; $R^2 = 0.9825$.

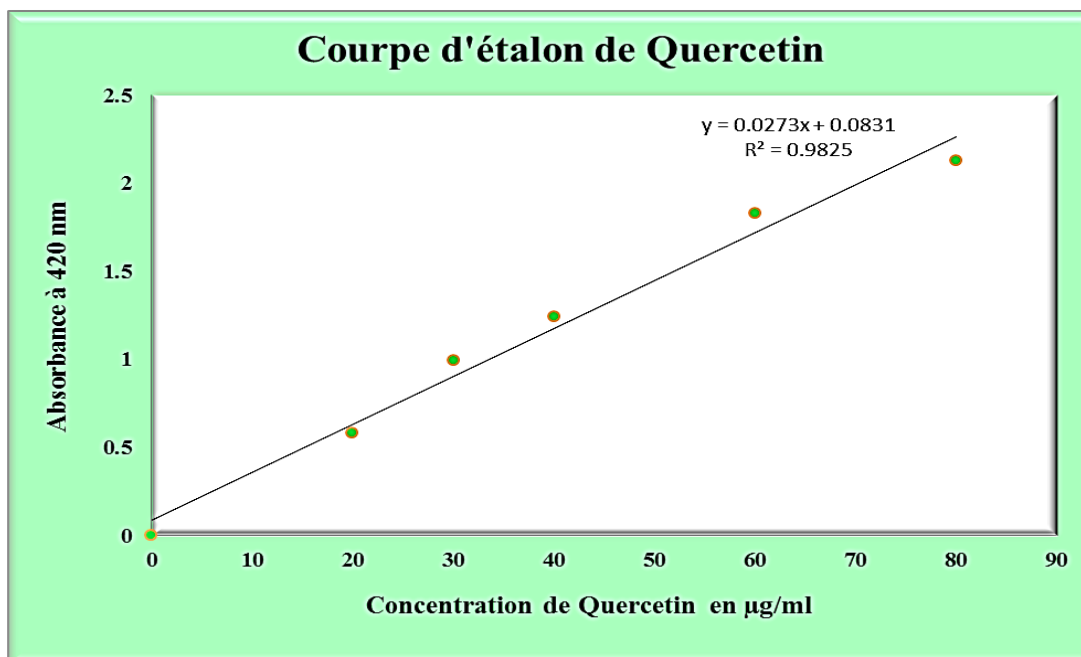


Figure 22: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes totaux.

À partir de la courbe d'étalonnage, le résultat de la teneur en flavonoïde de l'extrait est présenté dans le tableau suivant:

Tableau11: Teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique du plant *S.nigrum*.

Echantillon dosé	Teneur en flavonoïdes (mg de Quercétine/g d'extrait)
Extrait méthanolique	70.44± 0.13

Selon le résultat dans ce tableau, La valeur en flavonoïdes de notre étude était inférieure par rapport des études par **Hameed et Akhtar (2018)** dans l'extrait méthanolique même plant, est estimé d'environ (96.91± 1.56 EQ/g EXS).

La teneur en flavonoïdes totaux indiquée par **Umaru et al., (2018)** dans extraction méthanolique de *S.nigrum* est égale à $(43.67 \pm 1.08 \text{ mg EQ/g EXS})$, cette quantité est moins à notre résultat obtenu.

Le résultat des flavonoïdes obtenues par **Veerapagu et al., (2018)**, dans extraction méthanolique de fruite de plant *S.nigrum* environ $(3.61 \pm 0.07 \text{ mg EQ/g EXS})$, Ce résultat est inférieur de notre résultat étudié dans l'extraction des feuilles de plant *Solanum nigrum* L.

III.3. Teneur des extraits en tanins

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide dans d'extrait méthanolique de *Solanum nigrum*. La quantité en tanins est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait sec (mg EAG/g EXS).

Le taux des tanins d'extrait a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type: $y = 0.0011x + 0.0024$ sachant que $R^2 = 0.9622$ (**Figure 23**).

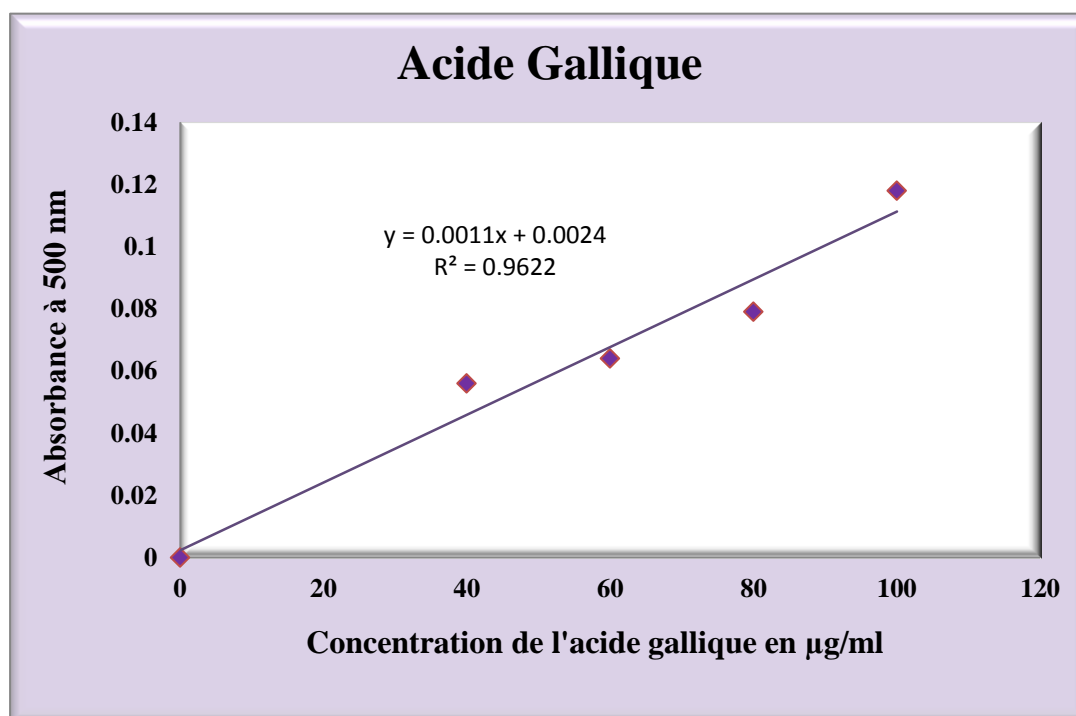


Figure 23: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des tanins .

Le tableau ci-dessous représente la teneur en tanins dans l'extrait des feuilles d'*Solanum nigrum*.

Tableau 12 : rassemble les taux en tanins dans l'extrait méthanolique étudiés.

Echantillon dose	Teneur en tanins (mg de Acide gallique/g d'extrait)
Extrait méthanolique	94.788± 0.52

D'après Le résultat dans le **tableau 12**, nos extrait méthanolique de la feuille de plant *S.nigrum* contient une teneur en tanins plus élevée en comparant aux résultats obtenus par **Umaru et al. (2018)** ceux qu'ils sont trouvés la plus faible des tanins de l'extrait d' *Solanum nigrum* L. est estimé (1.89±0.22 mg EAG/g EXS).

L'estimation quantitative des polyphénols totaux ,des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait méthanolique des feuilles d'*Solanum nigrum* montre qu'il est riche par ces métabolites.

La mode d'extraction de polyphénols doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique(**Sun et al., 2005**). 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**). Les études précédentes montrent que le méthanol un des solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques(**Benbrinis, 2012**) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydant(**Barros et al., 2010**). Ce solvant a été utilisé dans cette étude pour obtenir les extraits de la partie aérienne (feuilles) de *Solanum nigrum* L.

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité anti-oxydante des plantes (**Li et al.,2007**). C'est la raison pour laquelle, le dosage des polyphénols totaux de l'extrait de *S.nigrum* est riche en polyphénols, avec un taux de (171.82 ±13.42 mg EAG/g EXS). Par rapport d'autre études (**Campisi et al., 2019; Islam et al., 2018; Umaru et al., 2018**) des taux respectivement sont (92.2± 4.8 ; 163.07 ; 70.60 ± 2.15) (mg EAG/g EXS), Ceci différence dans les valeurs des phénols peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété, la distribution des métabolites secondaires, le développement de la plante(**Park & Cha, 2003**), Aussi aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**Falleh et al., 2008**). En plus l'organe analysé, la région et la date de la récolte, la méthode d'extraction et les solvants qui sont utilisés (**Tirichine, 2010**).

En générale, la teneur des polyphénols varie quantitativement d'une plante à autre, cela peut être attribué à certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (les

pratiques culturelles, la période de la récolte et les conditions et la durée de stockage) (Podsedeck, 2007). En plus la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Lee *et al.*, 2003).

Dans notre étude sur l'extrait méthanolique de feuilles de *Solanum nigrum* a montré que cet extrait contient une teneur importante en flavonoïdes qui est estimée à $(70,44 \pm 0.13 \text{ mg EQ/g EXS})$.

Dans des autres études s'accordent avec les résultats qui ont confirmé que le plant *S. nigrum* est riche en ces composés phénoliques (Hameed et Akhtar, 2018; Umaru *et al.*, 2018). Ceci pourrait être dû aux conditions environnementales (Fahmi *et al.*, 2013).

Autre résultat est inverse et à ceux qui sont trouvés par Veerapagu *et al.* (2018), la teneur des flavonoïdes totaux d'extrait des fruites d' *solanum nigrum* est plus faible par rapport de notre étude par l'environ $(3.28 \text{ mg EAG/g EXS})$.

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits (Djeridane *et al.*, 2010; Ghedadba *et al.*, 2014). C'est pourquoi, Bruneton (2009) et Stanković (2011) ont signalé que les hétérosides de flavonoïdes sont solubles dans les solvants polaires comme le méthanol pur ou les mélanges méthanol-eau parfois et l'acétonitrile-eau, alors que pour les génines (partie aglycone des flavonoïdes) sont solubles dans les solvants apolaires. Cette différence de valeur en flavonoïdes est trouvée probablement due à les organes d'extraction.

D'autre part, Les flavonoïdes sont produits par la plante pour résister au stress de la chaleur et de l'eau, ces derniers étant responsable de la propagation des radicaux libres OH (Pincemail *et al.*, 1999).

La teneur en tanins par la méthode de la vanilline résulte dans l'extrait méthanolique de *Solanum nigrum L.* est plus forte $(94.788 \pm 0.52 \text{ mg EAG/g EXS})$ en comparant aux résultats obtenus par Umaru *et al.* (2018) ceux qu'ils sont trouvés, une valeur plus faible dans l'extrait de *Solanum nigrum L.* $(1.89 \pm 0.22 \text{ mg EAG/g EXS})$.

Généralement, Les tanins sont un composé important pour les plants par ce qu'ils jouent un rôle d'antiseptique et protéger les plantes contre les insectes nuisibles et les champignons et préserver leur vie, cela explique leur existence de façon concentrée dans les feuilles.

Cette variation peut trouver son interprétation dans la différence de la méthode d'extraction utilisée, et peut être lié au climat de la région ou à la méthode utilisée qui ne donne pas une composition quantitative complète de l'extrait (**Wu et al., 2004**).

IV. Méthodes de dosage des activités antioxydantes in vitro

La mesure du potentiel antioxydant de nos extraits est réalisée par plusieurs essais, y compris le test de DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle), le test de CAT (Capacité antioxydante totale), et le test d'hémolyse.

IV.1. Le test de piégeage du radical DPPH

Le test DPPH évalue la quantité de radicaux piégés. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron mesurable à 517 nm.

La capacité antioxydante de l'extrait de plante étudiée a été déterminée et comparée à l'activité de composé anti-radicalaire d'étalon, l'acide ascorbique. Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en terme de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC_{50}).

Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration d'extrait.

D'après les résultats représentés dans la figure 24, il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (l'acide ascorbique) ou pour l'extrait de la plante.

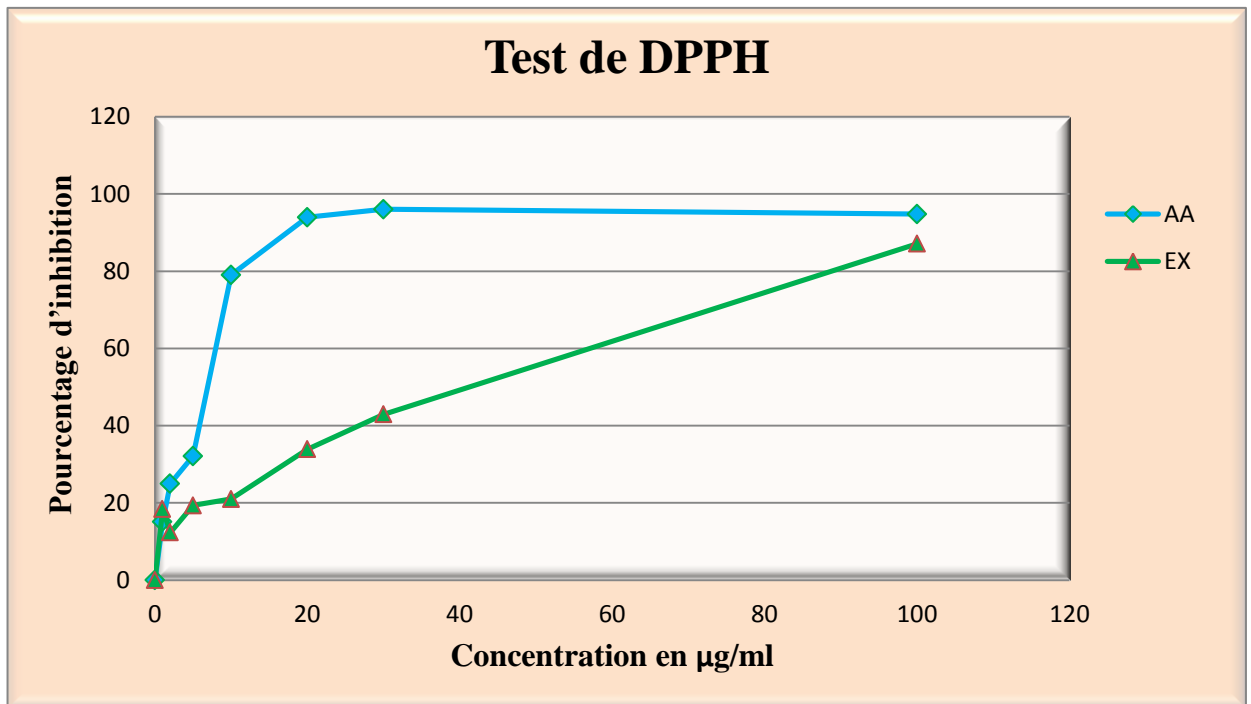


Figure 24 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'extraits méthanolique de *Solanum nigrum L.*

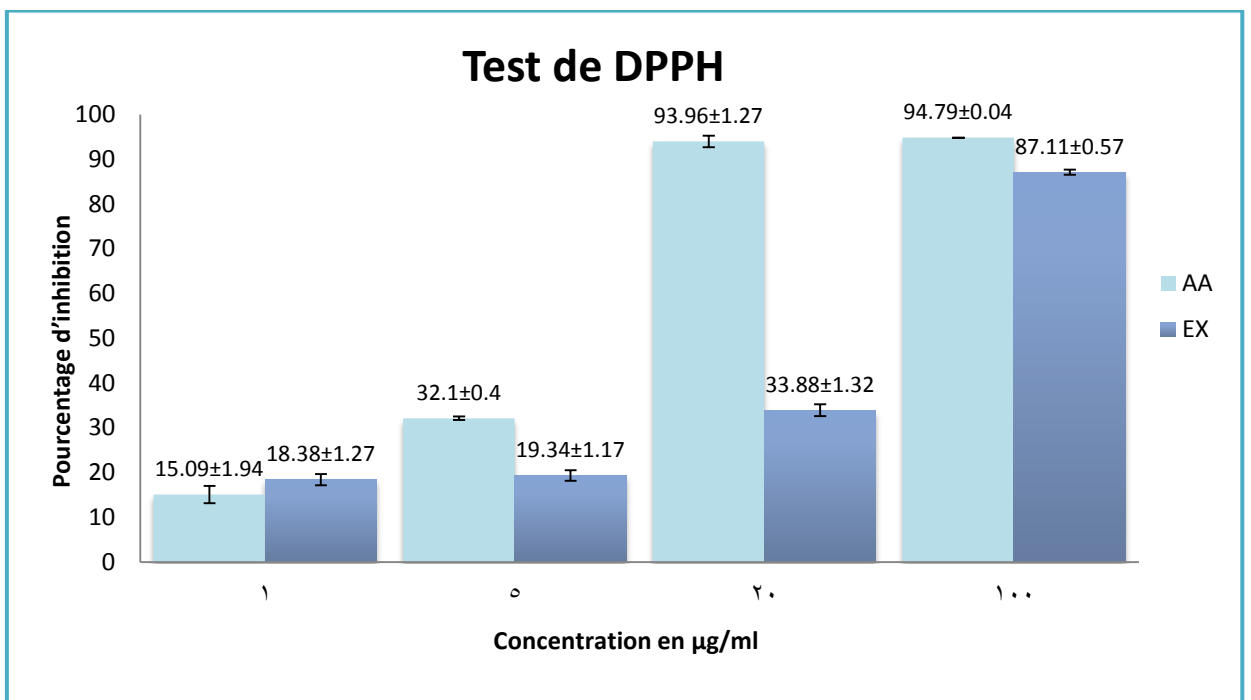


Figure 25 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH des antioxydants de références et de l'extrait testé

Selon le résultat, nous avons observé que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• pour l'extrait était inférieur à celui des standards pour toutes les concentrations

utilisées. Pour une concentration de 100 µg/ml l'acide ascorbique a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 94,79%.

Concernant l'extrait de *Solanum nigrum* on a remarqué la plus faible pourcentage d'inhibition de DPPH est à concentration de 1 µg/ml, de 18.38 % au contraire le plus élevé pourcentage à concentration 100 µg/ml, 87.11%. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale du DPPH reflétée par la décoloration complète du DPPH du violet en jaune pâle.

Nous avons déterminé pour l'extrait de *Solanum nigrum*, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH ou IC₅₀. A partir des équations des régressions linéaires des graphes. Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 13 : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC₅₀ (en µg /ml)) d'Acide ascorbique et de *Solanum nigrum*

Les antioxydants	IC ₅₀ ±Ecart type (En µg /ml)
Acide ascorbique	9.17 ± 0.31
<i>Solanum nigrum</i>	47.19 ± 0.58

D'après les résultats présentés dans le **tableau 13**, l'IC₅₀ obtenu pour l'acide ascorbique (**9.17 ± 0.31 µg/ml**), est bien plus inférieur à d'extrait de *Solanum nigrum* (**47.19 ± 0.58 µg/ml**) ce dernier caractérisé par une activité d'inhibition forte par rapport à l'étude de **Rumana et al. (2018)** (IC₅₀ = **31.52 mg/ml**) donc, une activité antioxydant très élevé.

Aussi d'après l'étude de **Veerapagu et al. (2018)** a étudié la partie fruitière de *Solanum nigrum* où ils ont atteint (IC₅₀ = **70.73 µg/ml**), a travers cette comparaison, on a été observé que chacune des parties étudiées de *S. nigrum* avait une activité antioxydante puissante et était la plus élevée avec l'extrait de feuille. Alors, que notre extrait reste le meilleur antioxydant.

Nos résultats indiquent que l'extraits méthanolique de *Solanum nigrum* présente une bonne activité des piégeages des radicaux libres. Dans une étude similaire sur les extraits méthanoliques de *Solanum nigrum*, les auteurs ont signalé un taux d'IC₅₀= **120.22 µg/ml** (**Alam et al., 2012**). Ce résultat est relativement faible par rapport à nos résultats.

DPPH est un radical libre stable et accepte qu'un radical électronique ou hydrogène deviennent une molécule diamagnétique stable. Les antioxydants contenus dans l'échantillon récupèrent ce radical libre. Cette méthode est largement utilisée pour évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres des antioxydants naturels(Maharana *et al.*, 2010).

Il a été démontré que antioxydants phytochimiques ont un potentiel puissant pour neutraliser les radicaux libres(Sharma *et al.*, 2014), telles que l'acide ascorbique, flavonoïdes, les tanins et les polyphénols réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène(Laraba *et al.*, 2016) à travers leur groupement hydroxyle (Yeo Sounta *et al.*, 2014)

D'après l'étude de Lv *et al.*, (2013), les bonnes activités antioxydantes présentées par les extraits de plantes sont dues à la présence de composé poly phénolique, ce dernier contenus dans notre extrait sont probablement responsables de l'activité antioxydant. On considère que les extraits à teneur élevés en phénoliques et en flavonoïdes garantissaient une excellente activité antioxydant (Hameed et Akhtar, 2018).

A travers de nombreux chercheurs ont rapporté une corrélation positive entre l'activité de piégeage des radicaux libres et le composé phénolique total(Veerapagu *et al.*, 2018), à l'opposé d'autre études n'ont pas établie cette corrélation, il est bien établi que l'activité antioxydant est corrélée positivement avec la structure des polyphénols. (Athamena *et al.*, 2010 ; Mariod *et al.*, 2010).

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydant la plus élevée(Heim *et al.*, 2002), et leur position autour des structures principaux des composés phénoliques et des flavonoïdes(Zheng *et al.*, 2010). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (Rodriguez-Bernaldo *et al.*, 2010).

IV.2. Dosage de la capacité antioxydant totale (CAT)

La capacité antioxydant totale des extraits étudiés est exprimée en nombre d'équivalents d'acide gallique à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = 0.0047x + 0.0557$; $R = 0.9908$) (figure 26) à partir la méthode de phosphomolybdate. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sec (mg EAG/1g EXS).

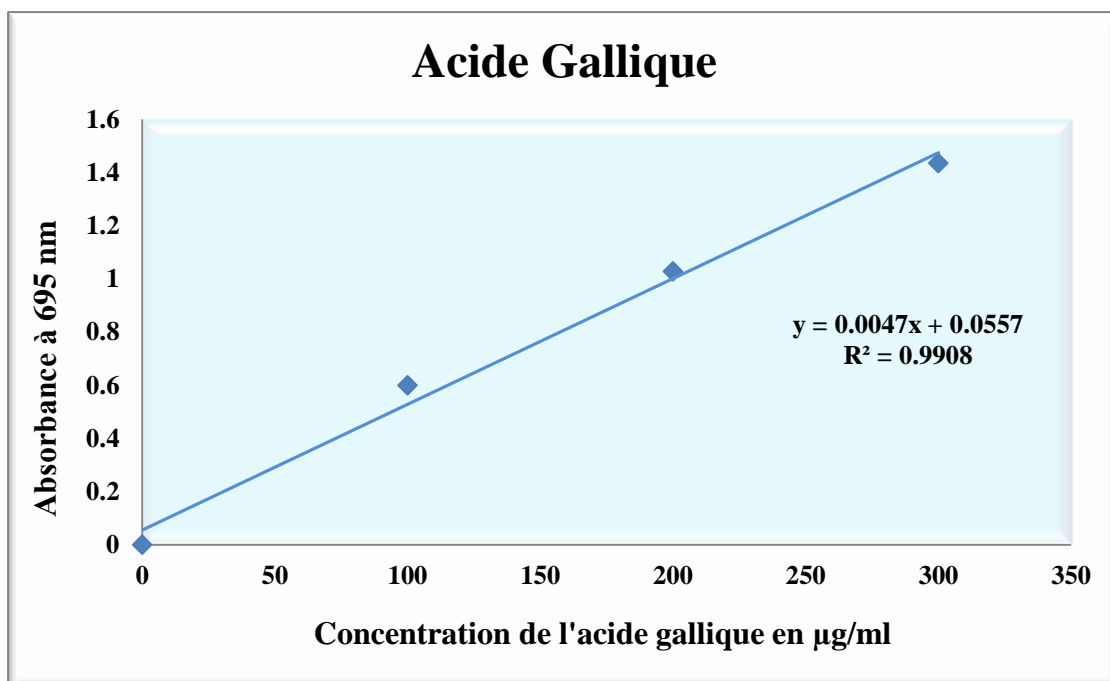


Figure26: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour les tests de capacité antioxydant totale

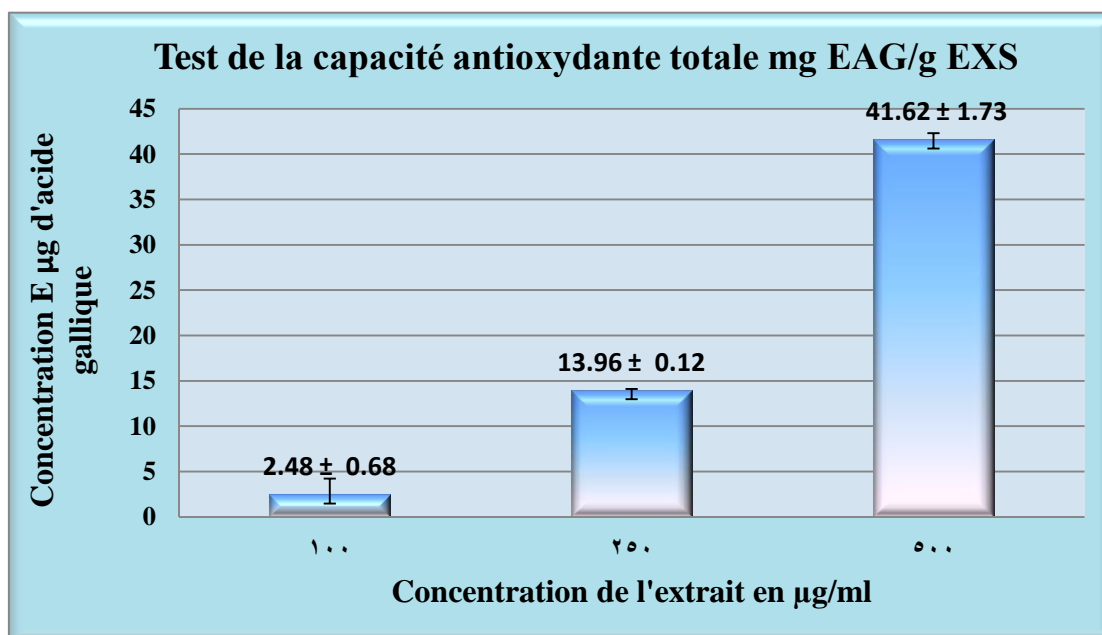


Figure27 : Histogramme de la capacité antioxydant totale d'extrait de *Solanum nigrum* testés

D'après le **figure27**, l'estimation de la capacité antioxydante total de l'extrait a montré une valeur importante en fonction de la concentration équivalente µg d'acide gallique.

On remarque que dans la concentration de 500µg/ml, le pouvoir antioxydant a été plus élevé (41.62 ± 1.73 mg EAG/1g EXS), par rapport à concentration 100µg/ml (2.48 ± 0.68 mg EAG/1g EXS a été le plus bas.

Par ailleurs, **Hameed et Akhtar, (2018)** ont trouvé à travers leurs études que la capacité antioxydant totale d'extrait méthanolique du fruit *Solanum nigrum* est 68.6mg EAG/g EXS en concentration 1mg/ml, une grande différence par rapport à notre extrait. Cette différence entre les deux extraits dans la capacité antioxydante totale peut être principalement due à la richesse la partie aérienne de la plante *Solanum nigrum* en polyphénols, en particulier en flavonoïdes, et également en fonction des structures chimiques des molécules biologiquement actives (**Turkmen et al., 2007**).

IV.3. Test hémolyse

Les globules rouges sont parmi les cellules les plus utilisées dans l'évaluation de la capacité antioxydant Parce qu'ils sont considérés comme les principales cibles des radicaux libres (**Alia et Saadoue, 2016**), Où il a été identifié l'effet hémolytique sous forme de pourcentage d'inhibition Partant de la relation suivante:

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs}_{\text{contrôle}} / \text{Abs}_{\text{échantillon}}] * 100$$

On utilise l'acide ascorbique comme standard ayant l'équation: $Y = -48.999x + 67.536$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9923$ (**figure 28**).

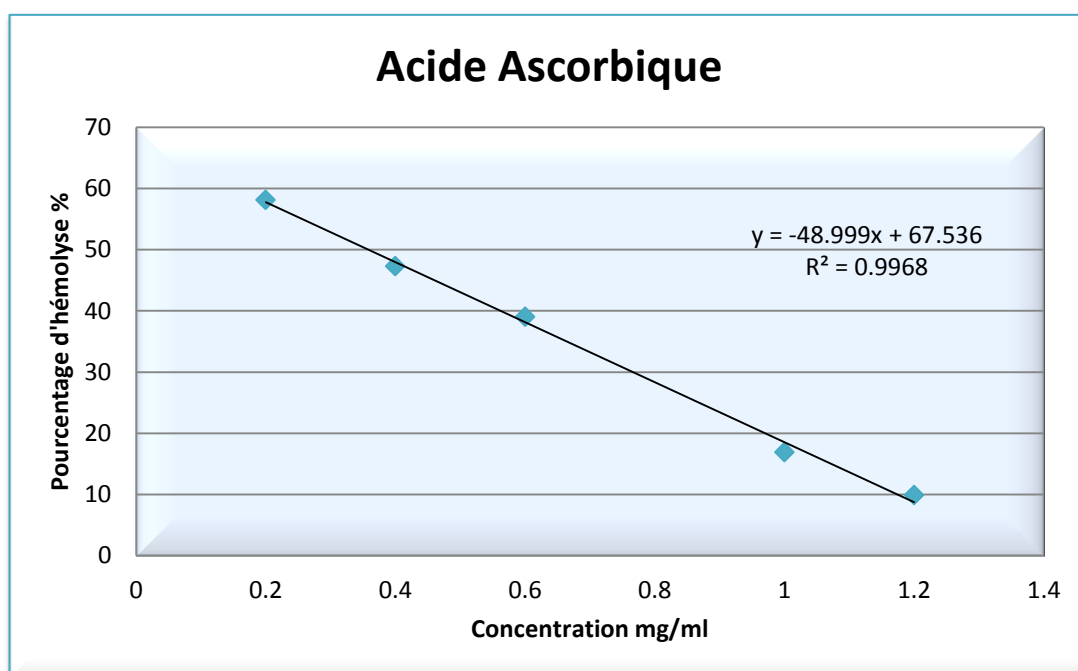


Figure 28: courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

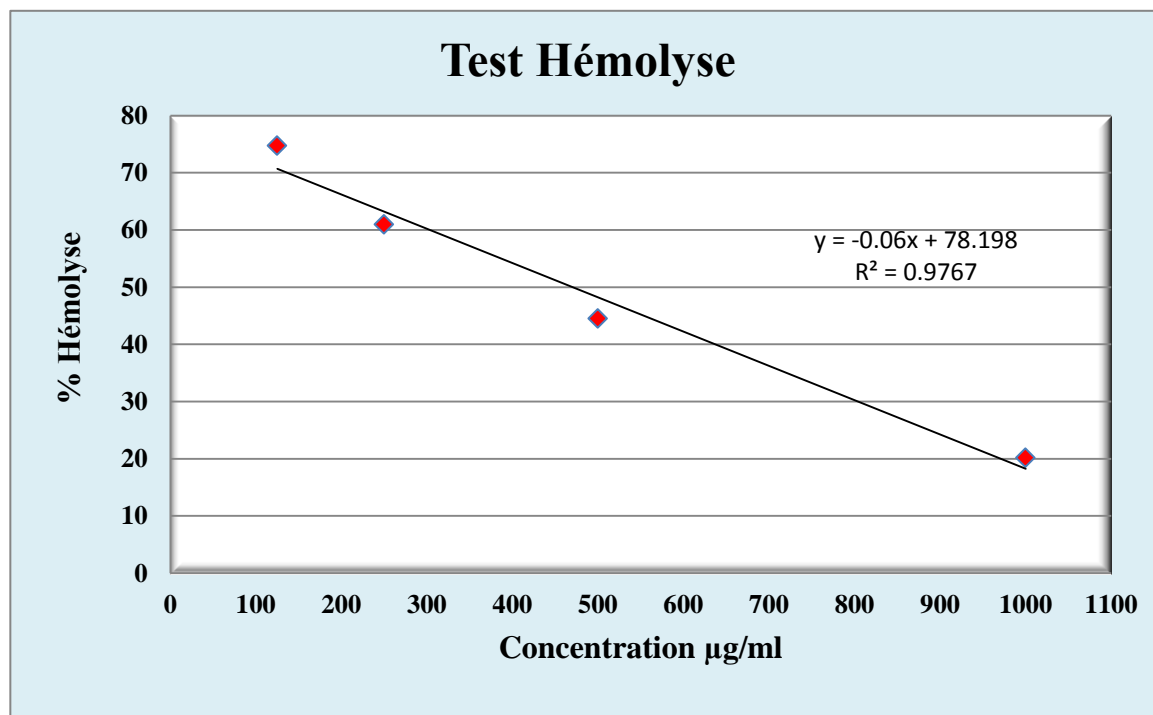


Figure29: Evaluation de taux d'hémolyse (%) en fonction de concentration d'extrait méthanolique de *Solanum nigrum*

Les résultats obtenus, montrent que le pourcentage d'effet hémolitique sont directement proportionnels à l'augmentation de la concentration d'extrait. Alors que la concentration de *Solanum nigrum* est élevée, le pourcentage d'hémolyse est diminué.

A travers les résultats de la figure29 , le pourcentage d'hémolyse des globules rouge a été estimée à concentration 1000µg/ml la valeur le plus faible (**20.15%**), contrairement l'acide ascorbique (**16.865%** à concentration **1000µg/ml**).

Par conséquent, il existe une différence significative dans la capacité à conserver les globules rouges entre l'extrait et l'acide ascorbique, qui est utilisée comme référence standard.

Bien que les résultats soient faibles, nous avons pu démontrer que l'extrait avait un effet antioxydant en inhibant l'oxygène réactif à partir le test d'hémolyse, il a réalisé in vitro, sur des érythrocytes isolés du sang humain, en présence des différentes concentrations des extraits méthanolique de *Solanum nigrum*, en raison de la présence de fortes concentrations d'acides gras poly insaturés dans la membrane et du transport de l'oxygène associé aux molécules d'hémoglobine actives, qui sont des promoteurs puissants d'espèces réactives de l'oxygène(Chouikh *et al.*, 2018; Ebrahinzadeh *et al.*, 2009).

Par conséquent, les valeurs d'activité antioxydante et l'effet hémolytique de l'extrait peuvent être renvoyées à la substance, à la qualité et à l'efficacité fonctionnelle des composés phénoliques, surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres (Laamari et Mostefaoui, 2016), grâce à leur groupement hydroxyle (C-OH) fortement réactif. Ceci peut être attribué au type des flavonoïdes présent dans l'extrait, si l'extrait possède des flavonoïdes lipophile, il est facilement traversé la couche phospholipidique de la membrane et d'augmenter ainsi le rapport de protection contre les radicaux libres(Djedeel, 2015). En effet, notre études phytochimiques et d'autre référence ont mis en évidence la présence de flavonoïdes dans l'extraits de *Solanum nigrum*(Aduwamai et al., 2018; Alam et al., 2012; Veerapagu et al., 2018).

Par contre, l'étude de Chwalek et al., (2004) nous donne une idée de la faiblesse des résultats précédents, que l'on peut attribuer à la présence des saponosides parmi les composés actifs de l'extrait méthanolique de la partie aérienne du *Solanum nigrum*. Où il a mentionné l'une des premières activités connues des saponines et leur capacité à lyser les érythrocytes. Par sa capacité a formé un composé avec une membrane de cholestérol qui ont d'induire la formation de pores à travers les membranes cellulaires et provoque leur instabilité et leur perméabilité, entraînant l'hémolyse et la libération de l'hémoglobine dans le plasma(Makkar et Becker.,1997; Hafiane et Ounnas, 2017).

V. Analyse IR

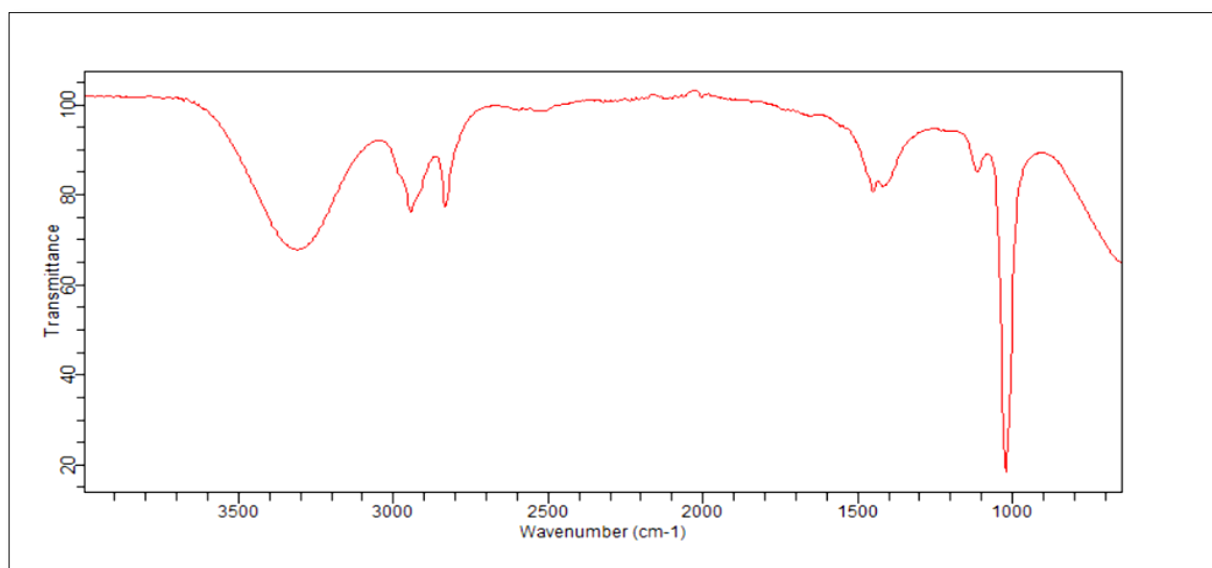


Figure 30 : IR spectre de l'extrait de feuilles de plante de *Solanum nigrum*

La spectroscopie infrarouge a transformé de Fourier (FT-IR) est le meilleur outil pour identifier les groupes chimiques de différents extraits biologiques (**Venkat Kumar et al., 2017**).

Les groupes chimiques de feuilles de *Solanum nigrum* ont été analysés à l'aide de la technologie FT-IR présentée à **la figure30**.

Les bandes d'environ 3370 cm^{-1} représentent les vibrations d'étirement O-H qui est principalement généré par les glucides, Les bandes comprises entre 3000 et 2800 cm^{-1} représentent les vibrations d'étirement C-H d'alcynes qui sont principalement générées par les lipides (**Mukamel ,2000**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales occupent un très grand domaine d'intérêt pour les chercheurs, en particulier dans le domaine de la recherche médicale ou de ce qu'on appelle la médecine alternative. Ce regain d'intérêt vient du fait que les êtres humains ont besoin de rechercher toujours pour des médicaments fiables mais avec moins des effets secondaires, et de même temps ils recherchent pour des composants naturels comme une autre source à l'équivalent des produits chimiques industrielles.

Entre autre les antioxydants qui se présentent les composantes les plus intéressants et les plus étudiés, et pour cela notre projet se base sur l'évaluation de ce plant *Solanum nigrum* qui vient du nord Sahara Algérienne (la région de Oued Souf ,Guemar), à travers d'étude phytochimique comme des analyses quantitatives et qualitatives avec l'étude de l'activité antioxydante.

Où nous avons commencé ce travail en préparant l'extrait méthanolique de la plante récoltée à l'état de maturité et en estimant le taux de rendement ayant donné le pourcentage le plus élevé par rapport aux références approuvées.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans la plante *S.nigrum*, ceci est basé sur le résultat obtenu (**171.82 ± 13.42.mg EAG/g EXS**).

L'analyse quantitative de flavonoïde a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), donc on obtient une valeur (**70.44± 0.13 mg EAG/g EXS**).

Par ailleurs, Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide, le résultat obtenu montre que l'extrait méthanolique d'*Solanum nigrum L.* est élevé environ (**94.788± 0.52 mg EAG/g EXS**).

Le potentiel anti radicalaire a été déterminé par la méthode de DPPH, CAT et test hémolyse le montre que l'extrait de *Solanum nigrum* présente des propriétés antioxydantes remarquables de l'ordre de (**47.19 ± 0.58 µg/ml, 41.62 ± 1.73 mg EAG/1g EXS, 20.15%**). Les capacités antioxydantes révélées in vitro de la partie aérienne de la plante peut être liée directement à sa richesse en polyphénols mais également à la structure de ces derniers. Plusieurs facteurs internes et externes qui contribuent dans les teneurs de substances bioactives (la solvant, les périodes de récolte, le patrimoine génétique et les méthodes d'extraction de ces substances).

Globalement, les résultats obtenus dans cette étude permettent de dire que l'extrait de *Solanum nigrum L.* contient des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques divers, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer (Nyeem *et al.*, 2017), les maladies cardiovasculaires, réduisent le vieillissement prématuré, elle est principalement causée par les radicaux libres: elle détruit le collagène (la protéine présente dans la peau et dans d'autres parties du corps) et la modifie, ce qui entraîne l'apparition de rides de la peau, et elle peut être considéré comme des anti inflammatoires en empêchant l'oxydation des graisses (Padmashree *et al.*, 2014) et comme des anti microbiennes. Aussi, elle peut trouver une application dans l'industrie alimentaire.

Sachant que notre pays possède une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constituée par des espèces médicinales, qui demandent d'être exploitées par les recherches en raison de son efficacité thérapeutique et pharmacologique, comme perspectives on propose d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antioxydant qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Enfin, nous recommandons une culture des plantes médicinales et alimentaires pour permettre à la population d'avoir des médicaments et des denrées alimentaires moins chers et d'éviter la disparition de certaines espèces intéressantes.

Références bibliographiques

Conclusion

Les plantes médicinales occupent un très grand domaine d'intérêt pour les chercheurs, en particulier dans le domaine de la recherche médicale ou de ce qu'on appelle la médecine alternative. Ce regain d'intérêt vient du fait que les humains ont besoin de rechercher toujours pour des médicaments fiables mais avec moins d'effets secondaires, et de même temps ils recherchent pour des composants naturels comme une autre source à l'équivalent des produits chimiques industriels.

Entre autres les antioxydants qu'elle se présentent les composants les plus intéressants et les plus étudiés, et pour cela notre projet se base sur l'évaluation de cette plante *Solanum nigrum* qui provient du nord Sahara Algérienne (la région de Oued Souf, Gummar), à travers l'étude phytochimique comme des analyses quantitatives et qualitatives avec l'étude de l'activité antioxydante.

Où nous avons commencé ce travail en préparant l'extrait méthanolique de la plante récoltée à l'état de maturité et en estimant le taux de rendement ayant donné le pourcentage le plus élevé par rapport aux références approuvées.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-ciocalteu a révélé la présence des quantités importantes en polyphénols dans la plante *S.nigrum*, ceci est basé sur le résultat obtenu (**171.82 ± 13.42.mg EAG/g EXS**).

L'analyse quantitative de flavonoïde a été réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), donc on obtient une valeur (**70.44± 0.13 mg EAG/g EXS**).

Par ailleurs, Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide, le résultat obtenu montre que l'extrait méthanolique d'*Solanum nigrum L.* est élevée l'environ (**94.788± 0.52 mg EAG/g EXS**).

Le potentiel anti radicalaire a été déterminé par la méthode de DPPH, CAT et test hémolyse le montre que l'extrait de *Solanum nigrum* présente des propriétés antioxydantes remarquables de l'ordre de (**47.19 ± 0.58 µg/ml, 41.62 ± 1.73 mg EAG/1g EXS, 20.15%**). Les capacités antioxydantes révélées *in vitro* de la partie aérienne de la plante peut être liée directement à sa richesse en polyphénols mais également à la structure de ces derniers. Plusieurs facteurs internes et externes qui contribuent dans les teneurs de substances bioactives (la solvant, les périodes de récolte, le patrimoine génétique et les méthodes d'extraction de ces substances).

Globalement, les résultats obtenus dans cette étude permettent de dire que l'extrait de *Solanum nigrum L.* contient des molécules très intéressantes qui peuvent être considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques divers, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer (Nyeem *et al.*, 2017), les maladies cardiovasculaires, réduire le vieillissement prématuré, elle est principalement causée par les radicaux libres: elle détruit le collagène (la protéine présente dans la peau et dans d'autres parties du corps) et la modifie, ce qui entraîne l'apparition de rides de la peau, et elle peut être considéré comme des anti inflammatoires en empêchant l'oxydation des graisses (Padmashree *et al.*, 2014).et comme des anti microbiennes. Aussi, elle peut trouver une application dans l'industrie alimentaire.

Sachant que notre pays possède une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constitué par des espèces médicinales, qui demandent d'être exploitées par les recherches en raison de son efficacité thérapeutique et pharmacologique, comme perspectives on propose d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antioxydant qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Enfin, nous recommandons une culture des plantes médicinales et alimentaires pour permettre à la population d'avoir des médicaments et des denrées alimentaires moins chers et d'éviter la disparition de certaines espèces intéressantes.

Références bibliographiques

1. **Abdul, H.; Et Naveed, A.(2018).** Comparative chemical investigation and evaluation of antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *Withania somnifera* (L.) Dunal and *Solanum nigrum* (L.) berries. Faculty of Pharmacy and Alternative Medicine The Islamia University of Bahawalpur 63100, Pakistan . Acta Pharm. 68 (2018) 47–60.
2. **Abirami A., Gunasekaran N., & Perumal S., 2014-** In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitory potential of fresh juice from Citrus hystrix and C. maxima fruits. Food Science and Human Wellness, (03): 18-22.
3. **Afonso,V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux Libre Dérivés De L'oxygène Et Superoxydes Dismutases : Role Dans Les Maladies Rhumatismales. *Revue Du Rhumatisme*, **74**, 636 – 643.
4. **Akroum, S. (2011).** Etude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Naturels. Thèse De Doctorat. Université Mentouri De Constantine. 125p.
5. **Alam, M.N., Roy,S ., Anisuzzaman , S. M., Rafiquzzaman. M.(2012).** Antioxidant activity of the ethanolic extracts of leaves, stems and fruits of *Solanum nigrum*.
6. **Alam,M.N., Roy,S., Anisuzzaman, S.A., Rafiquzzaman,M.(2012).** Antioxidant activity of the ethanolic extracts of leaves, stems and fruits of *Solanum nigrum*. Department of Pharmacy, Jahangirnagar University. volume 2 | Issue 3.
7. **Ammaan, M And Subramanian, S.,(2017).**Efficacy Of Organic Manures And Biofertilizers On Soil Microbial Count And Yield Of Black Nightshade (*Solanum Nigrum* L.). Int.J. Curr. Microbiol. App.Sci , 6(7): 1780-1786.
8. **Aref,M ., Et Heded, M.(2014).** Contribution À L'étude Phytochimique, Les Activités Biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) D'une Plante Médecinale *Cleome Arabica* L (Région D'oued Souf). Memoire De Master En Biochimie Appliquée, *Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued*.
9. **Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010).** Activit anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. Lebanese science journal,11 (1), 69 – 81.

10. **Bahorun, T., (1997).** Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne Une Source D'approvisionnement Potentielle. Université De Maurice. Amas, *Food And Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* , P 83.
11. **Barros ,L., Ferreira, MJ., Queiros ,B., Ferreira, I. C. F. R et Baptista, P .(2010).** Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 103, 413-419.
12. **Bekakra, M .,Et Merzoug, F.(2016).** Contribution À L'étude De La Phytochimie Et Biochimie La Plante (Larta) *Calligonum Comosum* L'her Dans La Région D'el-Oued. Memoire De Master En Biochimie Appliquée, *Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued*
13. **Benbrinis , S.(2012).**Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire de magister en biochimie .Université Ferhat Abbas, Setif.
14. **Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode Rapide D'évaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Orgnes D'un Forestier. *Le Cahier Des Techniques De l'Inra*, 79 – 82.
15. **Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhar, Z., Kilar, F., Felinger, A. (2010).** Determination Of Polyphenolic Compounds By Liquid Chromatography–Mass Spectrometry In Thymus Species. *Journal Of Chromatography A*.
16. **Boudjouref,M.,(2011).** Etude De L'Activité Antioxydante Et Antimicrobienne D'Extraits D'artemisia Campestris L. Thèse De Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 P.
17. **Bourgaud,F.,Gravot,A.,Milesi,S.,Gontier,E.(2001).** Production Of Plant Secondary Métabolites: A Historical Perspective,P840.
18. **Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Ed. Tec & Doc. 4ème Ed, Paris. France. 1288 P.
19. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 3ème Ed. Ed. Médicales Internationales And Tec & Doc Lavoisier, Paris. p658-666.
20. **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes Médicinales. 4ème Édition. Edition *Lavoisier Tec & Doc. Médicales Internationales, Paris*, P 261 , 308 , 571.
21. **Calixto, J. B. (2005).** Twenty-Five Years Of Research On Medicinal Plants In Latin America: A Personal View. *Journal Of Ethnopharmacology*, **100**, 131 – 134.

22. **Calsmiglia S., Busquet M., Cardozop W., Castillejos L., Ferret A, (2007).** Invited Review: Essential Oils As Modifiers Of Rumen Microbial Fermentation. *Journal Of Dairy Science*. Vol. (90): 2580–2595. *Care*, 12(8) : 553-564.
23. **Campisi, A., Acquaviva, R., Raciti, G., Duro, A., Rizzo, M., Santagati, N.A.(2019).** Antioxidant Activities Of *Solanum Nigrum* L. Leaf Extracts Determined In In Vitro Cellular Models . Article, University Of Catania. Italy. *Foods*, 8, 63.Pp2-12.
24. **Cazes, J. (2005).** Encyclopedia Of Chromatograph. Second Edition.Edition *Taylor & Francis*, P1250.
25. **Chaabi M., 2008.** Etude Phytochimique Et Biologique D'espèces Végétales Africaines :*Euphorbia Stenocla* Baill. (*Euphorbiaceae*), *Anogeissuslio Carpus* Guill. Etperr.(*Combrétaceae*), *Limoniastrum Feei* (Girard) Batt. (*Plumbaginaceae*). Thèse De Doctorat En Pharmaco Chimie, Université, Louis Pasteur Et Université Mentouri De Constantine (Alger): 179, 180.
26. **Chanvallon, C., Blanchemaison, P., Cance –Sanchez, B, (1994).** Les Flavonoïdes. *Act Med Angiologie* ; 12: 3846-50.
27. **Chelikani P., Fita I., Loewen Pc, (2004).** Diversité Des Structures Et Des Propriétés Entre Les Catalases. *Cell Mol Life Sci*. 2004; 61 : 192-208.
28. **Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008).** Les Polyphénols Du Raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
29. **Chouikh,A., Alia,F.,Neffar,S., Rebiai,A , Adjal, E., Chefrou,A. (2018).** Evaluation Of Phenolic Contents (Quantitative And Qualitative) And Antioxidant Activities In Different Physiological Phases Of *Genista Saharae* Coss. & Dur. Growing In The Sahara Of Algeria. *Analele Universităţii din Oradea, Fascicula Biologie*. Issue: 2, pp. 115-121.
30. **Chwalek, M., Plé, K., Voutquenne-Nazabadioko, L. (2004).** Synthesis And Hemolytic Activity Of Some Hederagenin Diglycosides . Article In *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*,Vol, 52(8) , P 965—971.
31. **Coelho, C.P., Gomes, D.C., Guilherme, F.A.G., Souza., L.F.,(2017).** Reproductive Biology Of Endemic *Solanum Melissarum* Bohs (Solanaceae) And Updating Of Its Current Geographic Distribution As The Basis For Its Conservation In The Brazilian Cerrado. *Braz. J. Biol*,Vol.77.No.4.Pp.809-819.
32. **Croteau,R.,Kutchan.T.M.,Lewis.N.G.,(2000).** NaturelProducts(SecondaryMétabolites).*Biochemistry And Molecular Biologie Of Plants*.1250-1318.

33. **Debray, M., Jacquemin, H., Razafindrambo, R. (1971).** Travaux Et Documents De l'Orstom. (Paris, N°8).
34. **Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux Libres Et Stress Oxydant (Aspects Biologiques Et Pathologiques). Tac & Doc.
35. **Dewick Pm. (1995).** The Biosynthesis Of Shikimate Metabolites. Nat. Prod. Rep. P12, 579-607.
36. **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna A., Stocker C., Vidal N., (2005).** Antioxidant Activity Of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chem.* Vol.(97): 654–660.
37. **Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A. Et Gmira, N.(2003).** Screening Phytochimique D'une Endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaea Lythroides*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 142: 61-78.
38. **Donatien .K, (2009).** Enquête Ethnobotanique De Six Plantes Médicinales Malliennes– Extraction Identification D'alcaloïdes –Caractérisation, Quantification De Polyphénols :Etude De Leur Activité Antioxydant. Thèse De Doctorat : Chimie Organique. Université Paul Verlaine De Metz–Upv-M. France. 2009. Page: 24,65.
39. **Ebrahimzadeh, M. A., Ehsanifar, S., et Eslami, B. (2009).** Sambucus ebulus elburensis fruits: A good source for antioxidants. *Pharmacognosy magazine*, 5(19),213.
40. **El-Meligy, R.M.,Awaad, A.S.,Soliman, G.A.,Kenawy, S.,Alqasoumi, S.I.,(2017).** Prophylactic And Curative Anti-Ulcerogenic Activity And The Possible Mechanisms Of Action Of Some Desert Plants. *Saudi Pharmaceutical Journal* ,Vol.25, Pp. 387-396.
41. **Fahmi F., Tahrouch S., Hatimi A., (2013).** Geoclimatic Influences On Flavonoids Contents Of The Leaves Of The Argan Tree Influences Géoclimatiques Sur La Composition En Flavonoïdes Des Feuilles De L'Arganier *Argania Spinosa*. *J. Mater. Environ. Sci.* Vol. 4 (6): 881-886.
42. **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, *C. R. Biologies*. Vol. (331). 372-379.
43. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaab ,M.et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C.R. Biologies*, 331,372-379.
44. **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. *C R Biol.* 331(5):372-9.

45. **Favier A, (2003).** Le Stress Oxydant. Interet Conceptuel Et Experimental Dans La Comprehension Des Mecanismes Des Maladies Et Potentiel Therapeutique. Actualite Chimique, 2003 ; 108-15.
46. **Ferhat, I., Et Ehyach R. (2017).** Etude De L'activite Anti-Inflammatoire Et Antioxydant d'*Artemisia Campestris* L Et *Spitzelia Coronopifolia* Désf Dans La Région d'El-Oued. Université Echahid Hamma Lakhdar ,El Oued.P 35-36.
47. **Gaetani G., Ferraris A., M Rolfo., Mangerini R., Arena S., Kirkman H, (1996).**Rôle Prédominant De La Catalase Dans L'élimination Du Peroxyd D'hydrogène Dans Les Érythrocytes Humains. Du Sang. 1996; 87 : 1595-9 .
48. **Gardès-Albert,M., Bonnefont-Rousselot,D., Abedinzadeh,Z ., Jore,D.(2003).** Espèces Réactives De L'oxygène Comment L'oxygène Peut-Il Devenir Toxique ?. Biochimie Métabolique Et Clinique (Ea 3617), Faculté De Pharmacie, 4 Avenue De L'observatoire, 75270 Paris Cedex 06,P91.
49. **Ghedadba N., Hambaba L., Aberkane M.C., Oueld-Mokhtar S.M., Fercha N., Bousselfela H., 2014.** Évaluation De L'Activité Hémostatique In Vitro De L'Extrait Aqueux Des Feuilles De Marrubium Vulgare L. Algerian Journal Of Natural Products. Vol. 2(2): 64-74. 150.
50. **Guignard, JI., (1996).** Biochimie Végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 P.
51. **Gurib-Fakim A., (2006).** Medicinal Plants: Traditions Of Yesterday And Drugs Of Tomorrow. *Molecular Aspects Of Medicine*. Vol. (27): 1-93.
52. **Hafaine, N., Ounnas,D(2017).** Contribution à la recherche de l'effet indésirable (hémoxytique) de la patrie aérienne des trois plantes médicinale in vitro Origanum Vulgare, Lavandula Steochas et Ammoides verticillata. Mimore de master biochimie appliqué. Universite L'arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi.
53. **Haleng,J., Pincemail,J., Defraigne.,J,O., Charlier,C., Chapelle,J,P.(2007).** Le Stress Oxydant Le Stress Oxidant, Les Demandes De Tirés À Part Sont À Adresser Au Pr. J.P. Chapelle, Service De Biologie Clinique, Chu Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique.P (628-638).
54. **Halliwell, B.(1999).** How To Characterize A Biological Antioxidant. *Free Radic Res Commun*, 1999, **9**, 1-32
55. **Hameed,A., Akhtar,N (2018).** Comparative Chemical Investigation And Evaluation Of Antioxidant And Tyrosinase Inhibitory Effects Of *Withania Somnifera* (L.) Dunal And *Solanum Nigrum* (L.) Berries. Faculty Of Pharmacy And Alternative Medicine The Islamia University Of Bahawalpur 63100, Pakistan. *Acta Pharm.* 68 .P 47–60.

56. **Harborne J.B. And Williams C.A. (2000).** Advances In Flavonoids Research Since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481–504.
57. **Harborne. J.B.(1973).** phytochemical method, A guide to modern. Techniques of plant Analysis, London, New York, Chapman and Hall, 278p.
58. **Hartmann, T. (2007).** From Waste Products To Ecochemicals: Fifty Years Research Of Plant Secondary Metabolism. *Phytochemistry*. P68, 2831–2846.
59. **Hartmann, T. (2007).** From Waste Products To Ecochemicals: Fifty Years Research Of Plant Secondary Metabolism. *Phytochemistry*. P68, 2831–2846
60. **Haslam E. (1994).** Natural Polyphenols (*Vegatable Tannins*): Gallic Acid Metabolism. *Nat. Prod.* P11, 41-66.
61. **Havsteen, B. H. (2002).** The Biochemistry And Medical Significance Of The Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
62. **Heim, E. K., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002).** Flavonoïds antioxydants: chemistry ; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572 – 584.
63. **Hopkins, W.G., (2003).** Université Des Sciences Et Technologie De Lille. Paris.: Edition De Boeck Supérieure. *Physiologie Végétale*. P 268 – 280.
64. **Islam, R., Uddin, N., Ashrafuzzaman, Hoque, I.U. (2018)** Phenolics And Carotenoids Contents And Radical Scavenging Capacity Of Some Selected Solanaceous Medicinal Plants. **Article** .*Journal Of Bangladesh Agricultural University* . *J Bangladesh Agril Univ* 16(1): 56–61.
65. **Jessica, T. (2010).** Optimisation Et Caractérisation C'un Extrait De Cassis Riche En Antioxydants Utilisable Comme Complément Alimentaire Et Etude De Ses Effets Sur La Vasorelaxation Dépendante De L'endothélium .Thèse En Vue De L'obtention Du Grade De Docteur En Sciences (Biochimie, Biochimie Moléculaire Et Cellulaire, Bioinformatique Et Modélisation). Universitaire Wallonie-Europe.
66. **Judd Ws, Campbell Cs, Kellogg Ea, Stevens P. (2002).** Botanique Systématique, Une Perspective Phylogénétique. Edition De Boeck Université .84-87 ,396-399.
67. **Kanoun, K. (2011).** Contribution A L'Etude Phyt Ochimique Et Activité Antioxydante Des Extraits De *Myrtus communis* L. (Rayhane) De La Région De Tlemcen (Honnaine). Université, Aboubekrbelkaid, Tlemcen.
68. **Khanbabae ,K., And Ree T.V. (2001).** Tannins: Classification And Definition. *Journal Of Royal Society Of Chemistry*. 18: 641-649. (Cited In Djemai Zoueglache S, 2008).

69. **Khattak,J.N.K., Anwar,Z., Aftab,S., Afzal,M., Islam,M., Khan,N.(2012).** *Solenum Nigrum* As Potent Therapy: A Review. *British Journal Of Pharmacology And Toxicology* 3(4): 185-189.
70. **Khima,S., Et Merabti ,C.(2016).** Evaluation De L'activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De *Calamintha Officinalis* Et *Abies Numidica*. Université A. MIRA – Bejaia.
71. **Koechlin-Ramonatxo, C. (2006).** Oxygène, Stress Oxydant Et Supplémentation Antioxydantes Ou Un Aspect Différent De La Nutrition Dans La Maladie Respiratoire. *Nutrition Clinique & Métabolisme*, **20**, 165 – 177.
72. **Krief, S. (2003).** Métabolites Secondaires Des Plantes Et Comportement Animal, Thèse Doctorat, Muséum National D'histoire Naturelle. 32p.
73. **Laamari, F., Et Mostefaoui, C. (2016).** Contribution A L'étude De Quelques Paramètres Biochimiques Et Biologiques (Antioxydante Et Anti Bactérienne) De *Oudneya Africana* R De La Région De Ghardaïa. Mémoire De Master En_Biochimie Appliquée, Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued .
74. **Laraba, M ; Serrat ,A ; Ouassaa, G.(2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydant des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de master en toxicologie et santé, Université des Frères Mentouri Constantine. P 40-41.
75. **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J Et Lee C.Y., (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals And A Higher Antioxydant Capacity Than Theas And Red Wine. *Journal Of Agriculture And Food Chemistry*. Vol. (3): 7292-7295.
76. **Li , H . B., Cheng , K .W., Wong, C . C., Fan , K . W., Chen ,F et Jiang , Y .(2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102,771-776.
77. **Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K. V., & Biro, L. (2003).** The Rol Of Antioxidant Phytonutrients In The Prevention Of Diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47, 119 – 125.
78. **Lv H, Zhang X, Chen X, Xie X, Hu C, Wen C and Jiang K (2013).** Phytochemical compositions and antioxidant and anti-inflammtory Activities of crude extracts from *Ficus Panduraa* H.(Moraceae),*Evidenced-Based Comlementary Alternat Med.*, 2(4):1-8.
79. **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** *Les Composés Phénoliques Des Végétaux : Un Exemple De Métabolites Secondaires D'importance Économique*. Ppur Presses Polytechniques.

80. **Maharana, L., Pattnaik, S., Kar, D. M., Sahu, P.K., Si, S. C.(2010).** Antioxidant Activity Of Aqueous Extract Of Aerial Parts Of *Mollugo Pentaphylla* Linn- An In vitro Study, *Pharmacology online* 3: 982-997.
81. **Makkar H., Becker K. (1997).** Degradation of quillaja saponins by mixed culture of rumen microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 25(4), 243-245.
82. **Malecky, M.(2008).** Métabolisme Des Terpénoïdes Chez Les Caprins. Thèse De Doctorat En Physiologie De La Nutrition Animale, De L'institut Des Sciences Et Industries Du Vivant Et De L'environnement ,Paris .
83. **Malesev, D. Et Kuntic V.(2007).** Investigation Of Metale- Flavonoid Chelates And The Determination Of Flavonoids *Via* Metal–Flavonoid Complexing Reactions. *Journal* .
84. **Manallah A, (2012).** Activités Antioxydante Et Anticoagulante Des Polyphénols De La Pulpe D'olive *Olea europaea* L. Pour Obtenir Le Diplôme De Magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- Sétif, 87p.
85. **Marc T., Gerard W., Denis L.(2001).** Classification des anti-inflammatoire, 4th ed.
86. **Mariod, A. A., Ramlah, M. I., Maznah, I., & Norsharina, I. (2010).** Antioxydant activities of phenolic rich fraction (PRFs) obtained from black mahlab *Monechma ciliatum* and white mahlab *Prunus mahaleb* seedcakes. *Food Chemistry*, 118, 120 – 127.
87. **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*. P51, 304–315.
88. **Maurice N., (1997).** L'herboristerie D'antan À La Phytothérapie Moléculaire Du Xxie Siècle. Ed. Tec Et Doc, Paris. France. Pp 12-14.
89. **Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A., (2013).** Étude De L'activité Antioxydante Et Antibactérienne Des Extraits D'un Ensemble Des Parties De La Fleur Du *Capparis Spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. Vol. (14): 49-60.
90. **Menvielle-Bourg, F. J. (2005).** Superoxide Dismutase (Sod), A Powerful Antioxidant, Is Now Available Orally. *Phytothérapie*, Paris, France. *Phytothérapie* Numéro 3:1- 4.
91. **Merghem, R. (2009).** Eléments De Biochimie Végétales(16).Ed, Bahaeddine. Algérie. Documentation. Paris: Lavoisier. p 23 – 158.
92. **Mohamed Amine Bouzid, (2014).** Exercice Physique, Marqueurs Antioxydants Et Peroxydation Lipidique: Effets De L'âge Et Du Niveau D'appétit Physique, Thèse Doctorat, Université De Lille 2.

93. **Mohammed, A.S ., Al-Dulami, M.A ., Saour,K.Y.(2009).** Physiochemical And Partial Purification Of Crude Alkaloid Compounds In Berries, Leaves And Roots Of(*Solanum Nigrum*) Plants. University Of Baghdad. Baghdad-Iraq.P 303-314.
94. **Moumene, F., Nouredin, N., Benali Toumi, F.,Dif, M., Rahmani, M., Rahmani, H., Mekhfi,N.,(2014).** Contribution To The Quantification And Antioxidant Activity Of Polyphenols From Cultivated And Spontaneous Garlic That Grow In The Western Of Algeria. *Global Journal Of Medicinal Plant Research*.2:5 2074-0883.
95. **Mpondo, E. M., Yinyang, J., & Dibong, S. D. (2015).** Valorisation Des Plantes Médicinales À Coumarines Des Marchés De Douala Est (Cameroun). *Journal Of Applied Biosciences*, 85(1), 7804-7823.
96. **Mukamel, S .(2000).** « Multidimensional Femtosecond Correlation Spectroscopies of Electronic and Vibrational Excitations », *Annual Review of Physics and Chemistry*, vol. 51, p. 691.
97. **Naczki M And Shahidi F, (2003).** Phenolics In Food And Nutraceuticals. Boca Raton, FL: Crc Press, P : 576 – 172.
98. **Naczki, M., Shahidi, F. (2004).** Extraction And Analysis Of Phenolics In Food. *Journal Of Chromatography A*. P1054, 95–111.
99. **Nagavani ,V., Madhavi ,Y.D., Bhaskarrao,P., Koteswara, R., Raghava-Rao ,T. (2010).** Free radical Scavenging Activity And Qualitative Analysis Of Polyphenols By RP-HPLC In *The Flowers Of Couroupitaquia Nensisabul.EJEA.F. Chem*, 9(9): 1471-1484.
100. **Nait Achour,K.,(2012).** Etude De La Composition Chimique Des Essences De Quatre Espèces D'eucalyptus Poussant Dans La Région De Tizi Ouzou. Mémoire De Magister En Biologie ,Université De Mouloud Mameri Tizi Ouzou.
101. **Namdeo A. G. (2007).** Plant Cell Elicitation For Production Of Secondary Metabolites. *Pharmacognosy Reviews*. Vol 1, 69-70.
102. **Narayana, K.R.,Reddy M.S.,Chaluvadi M.R., Krishna D.R.(2001).** Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects And Therapeutic Potential. *Indian Journal Of Pharmacology*.,33;2-16.
103. **Nathalie ,B., Jean-Paul ,C. (2006).** Méthode Rapide D'évaluation Du Contenu En Composés Phénoliques Des Organes D'un Arbre Forestier, P79.
104. **Newman, D. J., Cragg, G. M., & Snader, K. M. (2000).** The Influence Of Natural Products Upon Drug Discovery. *Natural Product Report*, 17, 215 – 234.
105. **Newman,D.J., Cragg,G.M., (2012).** Natural Products As Sources Of New Drugs Over The 30 Years From 1981 To 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.

- 106.Nkhili E-Z., (2009).** Polyphénols De L'Alimentation : Extraction, Interactions Avec Les Ions Du Fer Et Du Cuivre, Oxydation Et Pouvoir Antioxydant. Thèse De Doctorat En Sciences Des Aliments. Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc. 327 P.
- 107.Nyeem,A.B, M., Mamun Ur Rashid, A.K.M., Nowrose, M.,Abu Hossain, M.D.,(2017).** *Solanum Nigrum* (Maku): A Review Of Pharmacological Activities And Clinical Effects. International Journal Of Applied Research ,3(1): 12-17.
- 108.Orban, J. C. (2010).** Oxygène, Stress Oxydant. Chapitre : Désordres Métaboliques Et Réanimation, P, 427-437.
- 109.Ouedraogo Y., Nacoulma O., Guissou I.P., Guede Guina F.(2001).** Evaluation In Vivo Et In Vitro De La Toxicite Des Extraits Aqueux D'ecorces De Tige Et De Racines De *Mitragyna Inermis* (Willid).O.Ktz (Rubiaceae). *Pharm. Méd. Trad.* Vol. (11). 13-29.
- 110.Padmashree, A., Sharma, G.K., Semwal, A.D. and Mahesh, C. (2014)** Antioxygenic Activity of *Solanum nigrum* L. Leaves in Sunflower Oil Model System and Its Thermal Stability. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 1022-1029.
- 111.Parames wari.K., Sudheer, A., Kishori, B .(2012).** In Vitro Antibacterial Activity In The Extracts Of *Solanum Nigrum*. *Indian Streams Research Journal*.2: (7) 2230-7850.
- 112.Paris, M., Et Hurabielle,(1981).**Abrégé De Matière Médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. Pp: 102-103-104-107. 1981.
- 113.Paris,R.,Et Moyse,H.(1969).** Précis De Matière Médicinale. Paris : Masson;
- Kanoun, K. (2011).** Contribution A L'étude Phytochimique Et Activité Antioxydant Des Extraits De *Myrtus Communis* L. (Rayhane) De La Région De Tlemcen (Honaine).
- 114.Park.H. J. Et Cha.H. C. (2003).** Flavonoids From Leaves And Exocarps Of The Grape Kyoho.*Korean Journal Of Biological Society.*, 7 : 327-330.
- 115.Pastre, J.(2005).** Interet De La Supplémentation En Antioxydants Dans L'alimentation Des Carnivores Domestiques, Thése Doctorat Vétérinaire, *L'université Paul-Sabatier De Toulouse*, P15.
- 116.Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. Et Defraigne, J.O. (1999).** Méthodes L'évaluation Du Stress Oxydatif D'un Individu: Une Réalité Pour Le Médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5), 95-98.
- 117.Podsedek,A.,(2007).**Natural Antioxidants And Antioxidant Capacity Of Brassica Vegetables: A Review. *Lwt.* Vol. (40):1-11.

- 118.Price, M.L.,Van Scoyoc,S., Butler, L.G. (1978).** A Critical Evaluation Of The Vanillin Reaction As An Assay For Tannin In Sorghum Grain. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 1214-1218.
- 119.Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric Quantitation Of Antioxidant Capacity Through The Formation Of A Phosphomolybdenum Complex: Specific Application To The Determination Of Vitamin E. *Anal. Biochem*, 269, 337 – 341.
- 120.Raven., Evert, R.F., Eichhom S.E.(2000).** *Biologie Végétale Végétale*(6é Ed). (B.Jules., Et M Charles, Trad.). Paris. p32.
- 121.Richter, G., (1993).** *Métabolisme Des Végétaux. Physiologie Et Biochimie.* Ed. Presses Polytechniques Et Universitaire, Romandes. Suisse. 526 P.
- 122.Rira ,M .(2006).** Effet Des Polyphénols Et Des Tanins Sur L'Activité Métabolique Du Microbiote Ruminal D'Ovins. Thèse De Magister En Biochimie Et Microbiologie Appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 P.
- 123.Rizzo ,M., Campisi ,A., Acquaviva ,R., Raciti ,G., Duro , A.,Santagati ,N.A.(2019).**Articleantioxidant Activities Of *Solanum Nigrum L.* Leaf Extracts Determined In In Vitro Cellular Models ,University Of Catania, , Italy P.1-12.
- 124.Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal., & Lopez, H. J. (2010).** Antioxydant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research & Technology*, (3), 495 – 498
- 125.Ruby, Km., Dwivedi,J .,Chauhan,R.,Shori,A.(2012).** *Solanum Nigrum With Dynamic Therapeutic Role: A Review*, Banasthali University, Tonk, Rajasthan, 304022, India. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review And Research* , Issn 0976 – 044x.P65.
- 126.Rumana, I., Nesar Uddin, MD., Ashrafuzzaman, M.D.,Injamum Ul-Hoque, M.D.,(2018).** Phenolics and carotenoids contents and radical scavenging capacity of some selected solanaceous medicinal plants. *J Bangladesh Agril Univ* , VOL.16. NO.1. Pp.56-61.
- 127. Rumana, I., Nesar Uddin, Md., Ashrafuzzaman, M.D.,Injamum Ul-Hoque, M.D.,(2018).** Phenolics And Carotenoids Contents And Radical Scavenging Capacity Of Some Selected Solanaceous Medicinal Plants. *J Bangladesh Agril Univ*, Vol.16.No.1. Pp.56-61
- 128.Saffidine, K.(2015).** Etude Analytique Et Biologique Des Flavonoïdes Extraits De *Carthamus Caeruleus L.* Et De *Plantago Major L.* Thèse Doctorat Microbiologie, L'université Ferhat Abbas Sétif 1 L'université Ferhat Abbas Sétif 1,P26.

- 129.Saleem, T.S.M.,Chetty, C.M.,Ramkanth, S.,Alagusundaram, M.,Gnanaprakash, K., Thiruvengada, R.V.S.,Angalaparameswari, S.,(2009).** *Solanum Nigrum* Linn. *Phcog Rev*,Vol.3, Issue .6, P.342-345.
- 130.Samuels,J.(2015).** Biodiversity Of Food Species Of The Solanaceae Family: A Preliminary Taxonomic Inventory Of Subfamily Solanoideae.
- 131.Seidel , V . (2005).** Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. *Humana Press (Totowa)*, 27-37.
- 132.Shah,V.V., Patrekar,P.V.,Shah,N.D.(2013).** Medicinal Plants From Solanaceae Family. *Research J. Pharm. And Tech.* 6(2),P.143-151.
- 133.Sharma, M., Romana, M., Menaria, J., Devi, S., Ahmed Sheikh, M .(2014).** *In Vitro* Antioxidant Potential Of Various Extracts Of *Solanum Nigrum L.* The Pharmaceutical And Chemical Journal, 1(1):6-9.
- 134.Singh,P.(2017).** Effect Of *Solanum Nigrum* Glycoalkaloid On Liver Protein Of Albino Rats. International Journal Of Pharmaceutical, Chemical And Biological Sciences,I Ndia. Issn: 2249-9504.P346-351.
- 135.Singleton, V. L and Rossi, J., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acide reagents , Departement of viticulture and écologie of california davis CA London, Separation of volatil oil, p: 107-109.
- 136.Singleton, V.L., Orthofer, R., R.M (1999).** Lamuela-Raventos: Analysis Of Total Phenols And Other Oxidation Substrates And Antioxidants By Means Of Folin Ciocalteu Reagent. *Met. Enzym.*,299,152-178.
- 137.Slinkard, K and Singleton, V.L. (1977).** Total phenol analys: automation and Comparison Withmanual Methods. *Am. J. Enol. Viticult.* 28. 49-55.
- 138.Sridhar, T.M., Josthna, P., Naidu, C.V.(2011).** Antifungal Activity, Phytochemical Analysis Of *Solanum Nigrum* (L.) -An Important Antiulcer Medicinal Plant , Journal Of Ecobiotechnology , 3(7): 11-15.
- 139.Stanković M. S., (2011).** Total Phenolic Content, Flavonoïd Concentration And Antioxidant Activity Of *Marrubium Peregrinum L.* Extracts, *Kragujevac J. Sci.* Vol (33): 63-72.
- 140.Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L And Zhang Y. (2011).** Evaluation To The Antioxidant Activity Of Total Flavonoids Extract From Persimmon (*Diospyros Kaki L.*) Leaves. *Food Chemtoxicol.* 49: 2689-2696 .
- 141.Sun, Y., Jinlong, C., Aimin, L., Fuqiang, L. et Quanxing, Z.(2005).** Adsorption of resorcinol and catechol from aqueous solution by aminated hyper crosslinked polymers .*Reactive and Functional Polymers*, 64(3),P63–73.

- 142.Svoboda, K., And Svoboda ,T.(2001).** "Secretory Structures Of Aromatic And Medical Plants Microscopix,". Marc T, Gerard W, And Denis L, Classification Des Anti-Inflammatoire, P. 60, 2000.
- 143.Talbi,H., Boumaza,A., El-Mostafa,K.,Talbi,J.,Hilali,A.(2015).** Evaluation De L'activité Antioxydante Et La Composition Physico-Chimique Des Extraits Méthanolique Et Aqueux De La Nigella Sativa L. (Evaluation Of Antioxidant Activity And Physico-Chemical Composition Of Methanolic And Aqueous Extracts Of Nigella Sativa L.). ISSN : 2028-2508.P1111-1117.
- 144.Tato Rocha R.E., Cardenas V.E., Herrero H.E. (1994).** Selenium: The Physiopathological And Clinical Implications. Anales De Medicina Interna, **1**: 457–463.
- 145.Tirichine H.S., (2010).** Etude Ethnobotanique, Activité Antioxydante Et Analyse Phytochimique De Quelques Cultivars De Palmier Dattier (*Phoenix Dactylifera L.*) Du Sud-Est Algérien. Thèse De Magister En Biologie. Université D'oranes-Es Senia, Oran Algérie. 88 P.
- 146.Trease,E.,Et Evans, W.C .(1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 Th Edition.P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA Et Ogugduaja VO, 2004. Identification Des Principes Actifs De L'extrait De Feuilles De M. Balsamia (Baume Du Pomme). Journal Of Medicine And Scintific. 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682-4474.
- 147.Turkmen, N., Velioglu, Y., Sari, F.et Polat, G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. Molecules, **12**, 484-496.
- 148.Umaru, H. A.,Moses, M. A.,Zailani, H. A.,(2018).** Effect Of *Solanum Nigrum* Methanol Leaf Extract On Phenylhydrazine Induced Anemia In Rats. *Jordan Journal Of Biological Sciences*, Vol.11.No.1. Pp.65-71.
- 149.Urquiaga I. Et Leighton F. (2000).** Plant Polyphenol Antioxidant And Oxidative Stress. Biological Research, **33**(2): 55–64.
- 150.Valko M., Leibfritz D., Moncol J, Cronin Mt, Mazur M. And Telser J. (2007).** Free Radicals And Antioxidants In Normal Physiological Functions And Human Disease. The International Journal Of Biochemistry And Cell Biology **39**: 44-84.
- 151.Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free Radicals And Antioxidants In Normal Physiological Functionand Human Disease. Int J Biochem Cell Biol, **39**, 44 – 84.

- 152. Veerapagu ,M., Jeya ,K.R., Sankaranarayanan, A .,Rathika. A .(2018).** In Vitro Antioxidant Properties Of Methanolic Extract Of *Solanum Nigrum* L. Fruit. India,The Pharma Innovation Journal 2018; 7(5): 371-374.
- 153.Venkat Kumar, S., Karpagambigai, S., Jacqueline Rosy ,P., Rajeshkumar, S.(2017).** Phyto-Assisted Synthesis Of Silver Nanoparticles Using *Solanum Nigrum* And Antibacterial Activity Against *Salmonella Typhi* And *Staphylococcus Aureus*. *Mechanics, Materials Science & Engineering*, Vol 9. Doi:10.2412/Mmse.86.22.967.
- 154.Vermerris, W., et Nicholson,R.(2006).**Phenolic Compound Biochemistry. Ed,Springer:U.S.A.
- 155.Wu, X., Beecher G. R., Holden J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt S. E. And Prior R.L. (2004).** Lipophilic And Hydrophilic Antioxidant Capacities Of Common Foods In The United States. *J. Agricultural And Food Chem.* 52 : 4026 – 4037.
- 156.Zemali, D., Et Ouahrani,R.M.(2013).** Phytochemical Study Of Selected Medicinal Plantsolanum Nigrum, The Algerian Desert, Universitaire Ouargla, Ouargla, Algérie, Vol. 20, Pp 25-30.
- 157.ZHENG C. D. LI G. LI H. Q. XU X. J. GAO J. M. & ZHANG A. L. 2010-** DPPH-scavenging activities and structure-activity relationships of phenolic compounds. *Nat Prod Commun*, 5: 1762.
- 158.Zimmer,N.,Cordesse,R.(1996).**Influence Des Tanins Sur La Valeur Nutritive Des Aliments Des Ruminants.167-179.(Inra Productions Animales).




المراجع باللغة العربية

١. العابد إ.، 2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 9 .
٢. جديل ص.، 2015- تقدير المحتوى الفينولي و التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات *Pistacia lentisques L. Argania spinosa L. Artemisia campestris L.* أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة فرحات عباس، سطيف ص 85-101.
٣. علية ف. سعدون ن.، 2016- مساهمة في تتبع المحتوى الفينولي ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة لنبات المرخ *Genista saharae coss. et dur.* النامي في منطقة واد سوف خلال مراحل النمو المختلفة. مذكرة لنيل شهادة ماستر اكاديمي بيولوجيا و تثمين النبات، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي.
٤. فارح أ.، 2018- مسح فيتو كيميائي لبعض النباتات الصحراوية. مذكرة لنيل شهادة الماستر. جامعة العربي بن مهيدي ام لبواقي.

Annexe

Annexe I

les Appareils utilisés

Appareils utilisés	Photos originale
<p>Évaporateur rotatif de type Büchi Rotavapor R-200 (photo originale)</p>	
<p>Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS .JUNWAY 7300 (photo originale)</p>	
<p>Bain-marie de type MEMMERT</p>	

Etuve de type MEMMERT (photo originale)



Balance analytique(photo originale)



Centrifugeuse (photo originale)



Appareil d'infra-rouge .Agilent technologies cary 630 FTIR.
(photo originale)



Annexe II

les résultats des tests phytochimique *d'Solanum nigrum L.*

Métabolites secondaires	la coloration dans les tubes (photo originale)
<p><i>Phénols</i></p>	A photograph showing a test tube with a dark brown color change at the bottom, indicating a positive result for phenols. Next to it is a small reagent bottle with a black cap and a label that includes the word 'ANTHRA'.

Flavonoïde



Alcaloïdes



Saponine

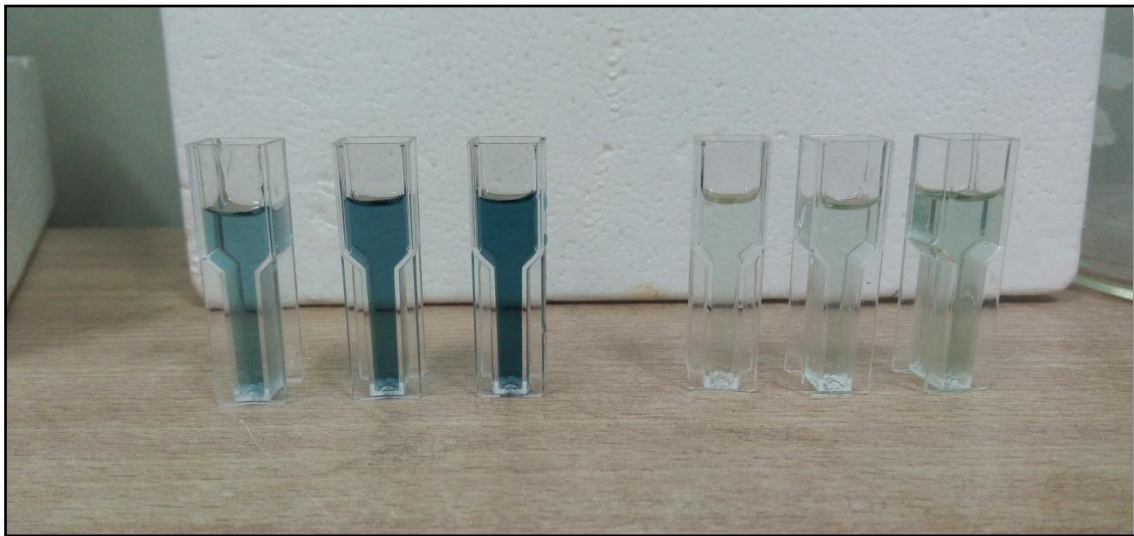


Annexe III

les résultats de coloration des différents concentration de teste DPPH(photo original)



les résultats de coloration des différents concentration de dosage de test CAT (photo original)



les résultats de coloration des différent concentration de dosage de flavonoïde (photo original)

