



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

SAHRAOUI Nabila meriem
OULD AISSA Hadja khouloud

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : **Nutrition et Pathologie**

THÈME

**ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET ÉVALUATION DE
L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES FEUILLES DE
GYMNEMA SYLVESTRE PROVENANT DE LA RÉGION DE
MOSTAGANEM**

Soutenue le 24 Juin 2025, devant le jury :

Qualité	Nom et Prénom	Grade	Etablissement d'origine
Présidente	ALACHAHER Fatima Zohra	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	BOUZIANE Nabil	MCB	Université de Mostaganem
Rapporteur	MIR Hakima	MCA	Université de Mostaganem

*Année Universitaire
2024/2025*

REMERCIEMENTS

Ce travail été réalisé au Laboratoire Des Microorganismes Bénéfiques, Aliments Fonctionnels et de la Santé, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

Nos plus vifs remerciements et toute notre reconnaissance vont à notre rapporteur de recherches, Madame MIR H., maître de conférences A à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Sa simplicité, sa compétence, sa rigueur scientifique, ses conseils éclairés ainsi que ses critiques nous ont été très bénéfiques. Sa présence à chaque étape de ce mémoire et la confiance qu'elle nous a accordée nous ont soutenues et motivées pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons nos respectueux remerciements à Madame ALACHAHER Fatima Zohra, maître de conférences B à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury.

Khouloud et moi avons le plaisir de remercier Monsieur BOUZIANE N., maître de conférences B à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, d'avoir bien voulu participer à ce jury et examiner ce travail.

Nous remercions également tous ceux – sans citer de noms, de peur d'en oublier – avec qui nous avons travaillé durant la réalisation de ce mémoire.

« À toutes et à tous, merci pour votre soutien précieux. »

NABILA & KHOULOUD

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

À toi, ma chère mère,

Source infinie d'amour, de sagesse et de courage. Chaque pas franchi sur ce chemin est empreint de ta bienveillance et de tes prières silencieuses. Tu es, et resteras toujours, ma première force.

À ma famille,

Pilier de mon équilibre, refuge dans les tempêtes et joie dans les jours de doute. Votre soutien indéfectible m'a donné la force de croire, de tenir, et d'atteindre.

Ikram, Didia, Sabria, Assia,

Quatre étoiles brillantes dans le ciel de ma vie. Votre amour, votre complicité et vos mots tendres m'ont accompagnée dans chaque moment de fatigue comme dans chaque victoire.

À ma petite nièce Célia

Toute petite, mais déjà si chère à mon cœur.

À ton sourire qui apaise, À ta présence qui illumine. Tu ne sais pas encore lire ces mots, Mais un jour, tu les découvriras. Et tu sauras que même si tu étais encore toute petite, Tu es déjà une source immense de joie et d'inspiration.

À ma binôme Khouloud,

sœur, amis, confidente, partenaire de travail et de vie.

Merci pour ta générosité, ton sérieux et ta précieuse présence tout au long de ce parcours. Ce mémoire est aussi le fruit de notre engagement commun.

*Un remerciement tout particulier à **Madame Karima**, technicienne de laboratoire, Pour sa disponibilité, sa bienveillance et son accompagnement tout au long de nos manipulations. Votre aide a été précieuse.*

NABILA

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

À ma chère mère,

Pour son amour infini, ses prières silencieuses, sa force et sa tendresse qui m'ont toujours portée.

Que Dieu te protège pour tout ce que tu as fait pour moi.

À mon père,

Pour sa patience, ses encouragements et ses sacrifices. Ton soutien m'a donné la force d'aller au bout de ce chemin.

À mon frère Allal,

Même éloigné par la distance, ton soutien a toujours été présent, profond et plus fort que tout. Merci d'être un repère solide.

A ma binôme Nabila ,

Ma binôme, ma meilleure amie, ma sœur de cœur , ma confidente Merci d'avoir su lire entre mes silences, de m'avoir tendu la main quand mes mots se perdaient.

Merci d'avoir été là, solide et sincère, quand j'avais besoin d'un appui.

Ton soutien m'a été précieux, ta présence un réconfort, et ton amitié... un trésor. Sans toi, ce chemin aurait été bien plus dur.

Avec toi, il a été plus lumineux

Et à ma cousine Dounia,

Pour ses conseils précieux, ses encouragements, sa présence constante et tout ce qu'elle m'a apporté durant cette aventure. Ta générosité et ton soutien ont été d'une Grande Valeur

À toute ma famille,

Pour leur présence bienveillante, leur affection et leurs encouragements sincères

À mes amies,

Pour leur écoute, leur motivation et leur soutien dans les moments de doute comme deréussite

KHOULOUD

SOMMAIRE

Introduction	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. les plantes médicinales	5
I.1. Définition de <i>Gymnemasylvestre</i>	5
I.2. Origine et répartition géographique	6
I.3. Usages de <i>Gymnema sylvestre</i>	6
I.4. L'utilisation de <i>Gymnema sylvestre</i> en Afrique du Nord.....	7
I.5. Description.....	8
I.5.1. Autres données botaniques.....	9
I.6. Les conditions de croissance.....	10
I.6.1. Récolte.....	10
I.6.2. Traitement après récolte.....	11
I.7. Propriétés de <i>G. sylvestre</i>	11
I.8. Composition chimique de <i>G. sylvestre</i>	12
Composés phénoliques	12
II.1. Composés phénoliques d'origine naturelle.....	12
II.2. Classification.....	14
II.2.1. Composés phénoliques simples.....	14
II.2.1.1. Phénols simples.....	15
II.2.1.2. Acides phénoliques.....	15
II.2.1.3. Acides hydroxybenzoïques.....	15
II.2.1.4. Acides hydroxycinnamiques.....	15

II.2.2. Coumarines.....	16
II.2.3. Polyphénols.....	16
II.2.4. Flavonoïdes.....	16
II.2.5. Tanins.....	16
II.3. Biosynthèse.....	17.

Matériel et Méthode

I. Matériel végétal.....	20
I.1. Objectifs de l'expérimentation.....	21
I.2. Préparation de l'extrait eau-méthanol de <i>Gymnema sylvestre</i>	21
I.3. Le rendement obtenu	21
II. Méthode.....	23
II.1. Quantification des composés antioxydants.....	23.
II.1.1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux.....	23
II.1.2. Détermination des teneurs en flavonoïdes.....	24
II.2. Évaluation de l'activité antioxydante.....	25
II.2.1. Test DPPH.....	25
II.2.2. Test FRAP.....	26
II.2.3. Méthode d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	27
III. Analyse statistique.....	28

Résultats et discussions

I.1. Détermination du rendement d'extraction.....	30
II.1. Dosage des polyphénols totaux.....	31
II.2. Teneur en flavonoïdes.....	32
II.3. Activité antioxydante (DPPH).....	34
II.4. Activité antioxydante (FRAP).....	37

II.5. Activité anti-inflammatoire.....	38
Conclusion.....	41
Les références bibliographiques	43

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Description géographique de <i>Gymnema sylvestre</i>	6
Figure 2: Plante <i>Gymnema sylvestre</i>	9
Figure 3: Structures générales des triterpènes oléanes isolés de <i>Gymnema sylvestre</i>	12
Figure 4: Principales classes de composés phénoliques	13
Figure 5: Structure du phénol	14
Figure 6: Identification structurale de certains composés phénoliques	14
Figure 7 : Feuilles fraîches de <i>Gymnema sylvestre</i>	20
Figure 8 : Matière végétale broyée	20
Figure 9 : Les étapes de préparation de l'extrait Eau-Méthanol de <i>Gymnema sylvestre</i>	21
Figure 10 : Les étapes expérimentales de <i>Gymnemasylvestr</i>	22
Figure 11 : L'extrait Eau-Méthanol de <i>Gymnema sylvestre</i>	22
Figure 12 : Dosage de Polyphénols totaux.....	24
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	32
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	34
Figure 15 : Régression linéaire des PI de la vitamine C.....	36
Figure 16 : Régression linéaire des PI de <i>Gymnema sylvestre</i>	37
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test FRAP.....	38
Figure 18 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA.....	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : . La liste des espèces et leur zones	10
Tableau 2 : Le rendement des extraits.....	31
Tableau 3 : Pourcentage d'inhibition (PI) des radicaux libres de la vitamine C	36
Tableau 4 : Pourcentage d'inhibition (PI) des radicaux libres de l'extrait de <i>Gymnema</i> <i>sylvestre</i>	36

LA LISTE DES ABREVIATIONS

G : *Gymnema sylvestre*

FRAP : front révolutionnaire antifasciste de Provence

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

Uv : rayons ultraviolets

NADPH : nicotinamide -adenine -dinucleotide-phosphate hydrogen

PAL : phase alternating line

H3PW12O4 : acide *phosphotungstique*

H3PMO12O40 : 'acide phosphomolybdique

ALCL3 : *Le chlorure d'aluminium*

IC50 : *La concentration inhibitrice médiane*

PI : Propriété Intellectuelle

AH : Attohenry

PH : Potentiel hydrogène

FE²⁺ : ion ferreux

FE³⁺ : l'ion ferrique

K3FE : Le ferricyanure de potassium

FECL3 : Trichlorure de fer

(CN)⁶⁻ : l'anion hexacyanoferrate

Min : Minute

MH : Muller-Hinton.

MG: Milligramme

H : Heure

G : Gramme

T° : Température

Résumé :

Cette étude porte sur la caractérisation phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire des feuilles de *Gymnema sylvestre* récoltées dans la région de Mostaganem (Algérie). Cette plante médicinale, largement utilisée en phytothérapie, est réputée pour ses propriétés antidiabétiques et ses effets bénéfiques sur le métabolisme. L'objectif de ce travail est de déterminer la richesse en composés bioactifs de cette espèce et de mesurer son potentiel biologique à travers des essais in vitro.

L'analyse phytochimique qualitative a permis d'identifier la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires, dont les polyphénols, les flavonoïdes. Les dosages quantitatifs ont été réalisés selon des méthodes spectrophotométriques standards :

- Les polyphénols totaux ont été dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu, les résultats exprimés en mg d'équivalent acide gallique (EAG) par gramme d'extrait.
- Les flavonoïdes totaux ont été déterminés par complexation à l'aluminium, avec des résultats exprimés en mg d'équivalent quercétine (EQ) par gramme.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée à l'aide de deux méthodes complémentaires :

- Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), permettant de mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres.
- Le test FRAP (FerricReducingAntioxidant Power), évaluant le pouvoir réducteur de l'extrait.

Les résultats ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles de *Gymnema sylvestre* présentent une teneur élevée en composés phénoliques et une activité antioxydante marquée, corrélée à la concentration en flavonoïdes et polyphénols. Ces données confirment le rôle important de ces molécules dans la neutralisation du stress oxydatif.

Par ailleurs, une évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro a été réalisée à travers l'inhibition de la protéine albumine sérique bovine (BSA) et de la protéinase. Les résultats ont révélé un effet inhibiteur dose-dépendant, traduisant une activité anti-inflammatoire notable, en particulier dans les extraits méthanoliques.

En conclusion, *Gymnema sylvestre* issue de Mostaganem se distingue par sa richesse en métabolites secondaires à fort potentiel antioxydant et anti-inflammatoire. Ces propriétés justifient l'usage traditionnel de la plante et ouvrent des perspectives intéressantes pour son intégration dans le développement de traitements naturels et compléments alimentaires à visée préventive et thérapeutique.

Les mots clés : DPPH ,FRAP ,*Gymnema sylvestre* ,antioxydante ,anti-inflammatoire

Abstract:

This study focuses on the phytochemical characterization and the evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activities of *Gymnemasylvestre* leaves collected from the Mostaganem region (Algeria). *Gymnemasylvestre* is a well-known medicinal plant traditionally used for its antidiabetic and metabolic-regulating properties. The primary objective of this research is to identify bioactive compounds and assess their biological potential through various in vitro assays.

Qualitative phytochemical screening revealed the presence of several classes of secondary metabolites, including polyphenols, flavonoids. Quantitative determinations were performed using standard spectrophotometric methods:

- Total polyphenol content was measured using the Folin–Ciocalteu method and expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) per gram of extract.
- Total flavonoid content was determined by the aluminum chloride method and expressed as mg quercetin equivalents (QE) per gram.

The **antioxidant activity** of the leaf extracts was assessed using two complementary methods:

- The DPPH radical scavenging assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) to evaluate free radical neutralization capacity.
- The FRAP assay (Ferric Reducing Antioxidant Power) to measure the reducing power of the extracts.

The results indicated that methanolic extracts exhibited higher levels of phenolic compounds and stronger antioxidant activity compared to aqueous extracts. A positive correlation was observed between polyphenol/flavonoid content and antioxidant efficacy, confirming the significant role of these compounds in oxidative stress reduction.

Additionally, the anti-inflammatory activity was evaluated in vitro using protein denaturation inhibition assays, specifically targeting bovine serum albumin (BSA) and protease enzymes. The findings revealed dose-dependent inhibition, highlighting a notable anti-inflammatory effect, particularly in methanolic extracts.

In conclusion, *Gymnema sylvestre* leaves from the Mostaganem region are rich in bioactive phytochemicals and demonstrate significant antioxidant and anti-inflammatory potential. These findings support the traditional use of the plant and underscore its promise as a natural source for therapeutic and nutraceutical applications.

Keywords : DPPH ,FRAP ,*Gymnema sylvestre* , Antioxidant ,Anti-inflammatory

المخلص

تركّز هذه الدراسة على التحليل الفيتوكيميائي وتقييم النشاطين المضادين للأكسدة والالتهاب لأوراق نبتة *Gymnema sylvestre* المُجمّعة من منطقة مستغانم (الجزائر). تُعدّ *Gymnema sylvestre* نبتة طبية معروفة تُستخدم تقليديًا لها من خصائص مضادة لمرض السكري ومنظمة لعملية الأيض.

الهدف الأساسي من هذا البحث هو التعرف على المركبات النشطة بيولوجيًا وتقييم إمكاناتها الحيوية من خلال مجموعة من التحاليل المخبرية *in vitro*.

أظهر الفحص الفيتوكيميائي النوعي وجود عدة فئات من المستقلبات الثانوية، بما في ذلك البوليفينولات والفلافونويدات. كما تم إجراء تحاليل كمية باستخدام طرق طيفية قياسية:

- تم تحديد المحتوى الإجمالي للبوليفينولات باستخدام طريقة فولين-سيوكالتيو، وتم التعبير عن النتائج بوحدة ميليغرام من مكافئات حمض الغاليك (GAE) لكل غرام من المستخلص.
- تم تحديد المحتوى الإجمالي للفلافونويدات بطريقة كلوريد الألمنيوم، وتم التعبير عن النتائج بوحدة ميليغرام من مكافئات الكيرسيتين (QE) لكل غرام.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الأوراق باستخدام طريقتين متكاملتين:

- اختبار تثبيط جذر الـ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) لقياس قدرة المستخلص على تحييد الجذور الحرة.
- اختبار FRAP (القدرة المضادة للأكسدة المرجعة للحديد) لقياس قدرة المستخلصات على الاختزال.

أظهرت النتائج أن المستخلصات الميثانولية تحتوي على مستويات أعلى من المركبات الفينولية وتُظهر نشاطًا مضادًا للأكسدة أقوى مقارنةً بالمستخلصات المائية. كما تم ملاحظة علاقة إيجابية بين محتوى البوليفينولات/الفلافونويدات والفعالية المضادة للأكسدة، مما يؤكد الدور المهم لهذه المركبات في تقليل الإجهاد التأكسدي.

بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب *in vitro* من خلال اختبارات تثبيط تحلل البروتين، باستخدام ألبومين مصّل الأبقار (BSA) وإنزيمات البروتياز كهدف. أظهرت النتائج تثبيطًا يعتمد على الجرعة، مما يُبرز تأثيرًا مضادًا للالتهاب، خاصة في المستخلصات الميثانولية.

في الختام، تُعتبر أوراق *Gymnema sylvestre* من منطقة مستغانم غنية بالمركبات الفيتوكيميائية النشطة، وتُظهر إمكانات واعدة كمضاد للأكسدة والالتهاب. تدعم هذه النتائج الاستخدام التقليدي للنبتة وتُبرز أهميتها كمصدر طبيعي واعد للتطبيقات العلاجية والمنتجات الغذائية.

الكلمات المفتاحية: مضاد للالتهاب، مضاد , *Gymnema sylvestre* , DPPH , FRAP للالتهاب

[Introduction]

Depuis des millénaires, l'humanité puise dans les ressources de son environnement pour prévenir et traiter de nombreuses maladies. Au cours des deux dernières décennies, la recherche en phytothérapie est devenue l'un des domaines majeurs d'intérêt pour la communauté scientifique (**Ekor et al., (2022)**). La phytothérapie est une forme de médecine qui repose sur l'utilisation des plantes, ou de leurs parties actives, pour leurs propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont communément appelées **plantes médicinales** (Niamassoumou,2020).

Les plantes médicinales occupent une place importante dans la pharmacopée traditionnelle et moderne, notamment dans la prévention et le traitement de nombreuses maladies chroniques. L'efficacité des plantes médicinales dépend de leurs composés, qui sont nombreux et très variés selon les espèces, renfermant une grande diversité de principes actifs (**Sasidharan et al., 2023**). Par ailleurs, il est essentiel de s'assurer de l'absence de toxicité des plantes utilisées. L'emploi de plantes médicinales locales, pour répondre à certains problèmes de santé, peut ainsi être envisagé comme une alternative aux médicaments conventionnels (**López-Alarcón & Denicola, 2020**).

Parmi ces plantes, *Gymnema sylvestre*, appartenant à la famille des Apocynaceae, est largement reconnue pour ses propriétés thérapeutiques, en particulier dans la gestion du diabète et des troubles métaboliques. Originaire d'Asie, d'Afrique et d'Australie, cette plante est utilisée depuis des siècles dans la médecine traditionnelle indienne (Ayurveda) et africaine pour ses effets hypoglycémisants et ses vertus antioxydantes (**Farzana et al., 2020**).

Gymnema sylvestre est particulièrement célèbre pour son composé bioactif principal, l'acide gymnémique, un triterpénoïde qui joue un rôle clé dans la réduction de l'absorption intestinale du glucose et dans la stimulation de la sécrétion d'insuline. En plus de cet effet hypoglycémiant, la plante contient une diversité de composés phytochimiques, notamment des flavonoïdes, des saponines, des tanins, des coumarines et des acides phénoliques, qui contribuent à ses nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment son activité antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et cardioprotectrice (**Kar et al., 2020**).

L'activité antioxydante de *Gymnema sylvestre* est particulièrement intéressante car le stress oxydatif est reconnu comme un facteur aggravant dans le développement et la progression du diabète ainsi que dans d'autres pathologies chroniques. Les composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les feuilles de *Gymnema* ont la capacité de neutraliser les radicaux libres, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs. Cette double action – hypoglycémiant et antioxydant – fait de *Gymnema sylvestre* une plante prometteuse pour la prise en charge naturelle du diabète et des complications associées (**Karthikeyan et al.,2019**).

Des études cliniques ont montré que l'extrait de *Gymnema* peut réduire significativement les niveaux de glucose sanguin chez les patients diabétiques de type 2, tout en améliorant le profil lipidique . Cependant, bien que prometteuse, l'utilisation de *Gymnema* doit être encadrée, car des effets secondaires peuvent survenir et son interaction avec d'autres traitements doit être surveillée (**Gunasekaran et al.,2019**).

La région de Mostaganem, en Algérie, est caractérisée par une biodiversité végétale riche, mais peu d'études ont été menées sur les plantes médicinales locales, notamment *Gymnema sylvestre*. Or, les conditions climatiques et pédologiques peuvent influencer la composition chimique et la qualité des plantes, ce qui justifie une étude spécifique sur les échantillons locaux. En effet, la concentration en composés bioactifs et l'intensité de l'activité antioxydante peuvent varier selon la provenance géographique, la saison de récolte et les méthodes d'extraction.

Cette étude vise donc à caractériser le profil phytochimique des feuilles de *Gymnema sylvestre* récoltées dans la région de Mostaganem et à évaluer leur capacité antioxydante par des méthodes spectrophotométriques et chromatographiques. Une meilleure connaissance de ces paramètres permettra de valoriser cette plante dans le cadre de la pharmacopée locale et d'envisager son utilisation dans des formulations phytothérapeutiques adaptées.

Objectifs de l'étude

Les principaux objectifs de ce travail sont :

- **Évaluer quantitativement la teneur en composés phénoliques totaux et flavonoïdes, reconnus pour leur rôle antioxydant.**
- **Déterminer la capacité antioxydante des extraits foliaires par des tests in vitro, notamment la réduction du radical libre DPPH, méthode largement utilisée pour mesurer l'activité antiradicalaire.**
- **Comparer les résultats obtenus avec ceux rapportés dans la littérature pour d'autres provenances et espèces proches, afin d'évaluer le potentiel thérapeutique spécifique des échantillons locaux.**

*Cette étude s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources naturelles algérienne,, en particulier des plantes médicinales peu étudiées. *Gymnema sylvestre*, par ses propriétés pharmacologiques, représente un candidat prometteur pour le développement de compléments alimentaires ou de médicaments phytothérapeutiques à base de plantes. La caractérisation précise de son profil phytochimique et de son activité antioxydante est une étape essentielle pour garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des préparations futures.*

[Revue Bibliographique]

I. les plantes médicinales

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes ont été une source inestimable de remèdes. Au fil des siècles, les sociétés humaines ont progressivement approfondi leur compréhension et leur utilisation des plantes médicinales dans le but de soulager les maux et de favoriser la santé. Ces végétaux thérapeutiques sont reconnus pour leurs propriétés bénéfiques et leurs remarquables caractéristiques biologiques (Pierre , 2019). Leur capacité à synthétiser une diversité de métabolites secondaires tels que les huiles essentielles, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les lignanes, les tanins, les stilbènes, entre autres, en font des ressources précieuses exploitées dans divers secteurs industriels notamment l'alimentation, la cosmétique et la pharmacologie.

Aujourd'hui, l'intérêt pour l'utilisation des plantes médicinales riches en métabolites secondaires ne cesse de croître car stimulé par leurs propriétés biologiques remarquables. Ces propriétés englobent une large gamme d'activités telles que les activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, antifongiques, cytotoxiques, anti-allergiques, antithrombotiques, antidiabétiques, neuroprotectrices, hépatoprotectrices, cardioprotectrices, immunostimulantes, analgésiques, sédatives et ;bien d'autres encore. La diversité de ces métabolites secondaires confère à chaque plante des caractéristiques spécifiques et des bénéfices potentiels pour la santé humaine (Rhind , 2019).

L'efficacité de ces métabolites secondaires est étroitement liée à leur structure moléculaire, complexe et variée. Cette complexité suscite un vif intérêt pour les techniques d'extraction et d'isolement des composés actifs à partir des plantes médicinales. Ces méthodes permettent non seulement de préserver l'intégrité des composés, mais aussi d'explorer de nouvelles avenues thérapeutiques et pharmaceutiques. En effet, la recherche dans ce domaine est en constante évolution, alimentée par la quête de solutions naturelles et durables pour répondre aux défis de santé contemporains(Chávez-Castillo *et al.*, 2020).

I.1. Définition de *Gymnema sylvestre*

Gymnema sylvestre est une plante ligneuse médicinale vivace à croissance lente grimpeur originaire du centre et de l'ouest de l'Inde, de l'Afrique tropicale et de l'Australie. La plante se trouve également dans certaines régions vallonnées du Pakistan. Il est considéré comme l'un des plantes aux puissantes propriétés antidiabétiques et utilisées dans les cultures folkloriques, ayurvédiques et systèmes homéopathiques de médecine. Il est également utilisé dans le traitement

de l'asthme, toux, troubles oculaires, inflammations, planning familial et morsure de serpent. De plus, il Possède antimicrobien diurétique stomachique antihypercholestre, les activités hépatoprotectrices et anti-saccharine (**Devangan et al., 2021**)

I.2. Origine et répartition géographique

Gymnema sylvestre a une vaste aire de répartition, qui s'étend depuis l'Afrique jusqu'en Arabie saoudite, en Inde, au Sri Lanka, au Vietnam et en Chine du sud, ainsi que du Japon (îles Ryukyu) aux Philippines, à la Malaisie, à l'Indonésie et à l'Australie. En Afrique, il est présent dans la plupart des régions d'Afrique de l'Ouest et s'étend vers l'est jusqu'en Éthiopie et vers le sud jusqu'en Afrique du Sud. (**Jiofack , 2010**)

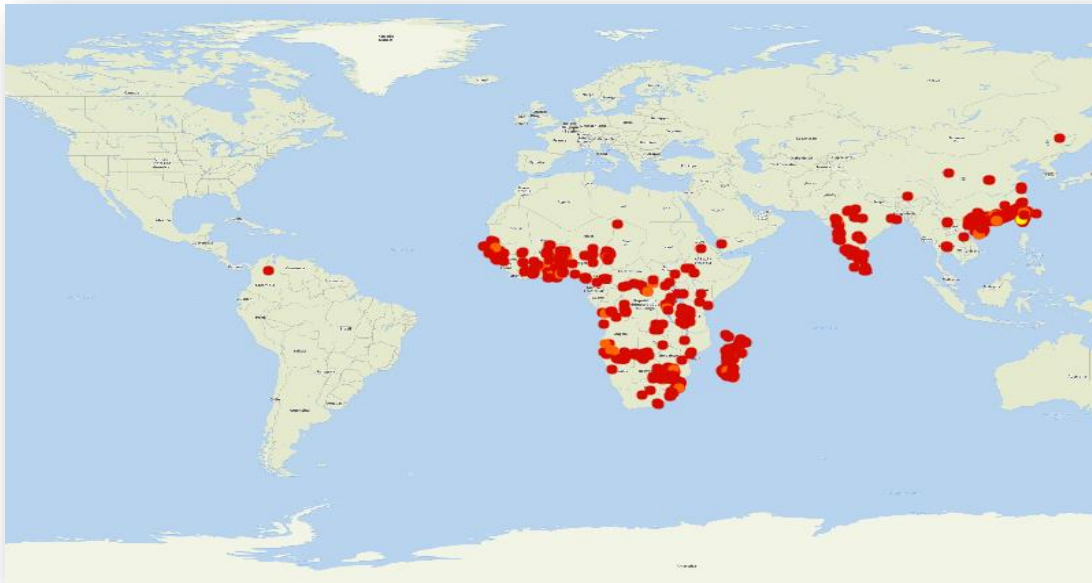


Fig.1. Description géographique de *G.sylvestre* (**Liede-schumann et al., 2022**)

I.3. Usages de *Gymnema sylvestre*

En Inde et en Chine, les feuilles amères de *Gymnema sylvestre* sont connues sous l'appellation de “destructeur du sucre”, car elles empêchent temporairement d'éprouver des sensations sucrées. L'usage par les herboristes de ces feuilles comme traitement contre le diabète sucré remonte à plus de 2000 ans. (**Senthilkumar, 2015**)

En Afrique de l'Ouest, les feuilles se prennent également contre le diabète, et l'on prête des vertus purgatives et émétiques aux feuilles et aux racines. Au Soudan, les feuilles broyées ou les racines en poudre s'appliquent sur les morsures de serpent. Dans l'est de l'Afrique, on frictionne des scarifications au flanc

avec des feuilles broyées pour traiter les points de côté. En Tanzanie, les racines cuites écrasées dans la nourriture se prennent pour traiter l'épilepsie. En Angola, des préparations de feuille et de tige se prennent contre le cancer. Au Botswana, des racines cuites écrasées ou de la poudre de racine s'emploient en externe pour traiter les furoncles. A Madagascar, l'infusion de ramilles feuillées se prend pour traiter la gonorrhée. Les feuilles fraîches se mastiquent pour traiter le diabète.

En Inde et en Chine, les racines et les feuilles servent par ailleurs à traiter toutes sortes d'affections, comme l'arthrite rhumatoïde, la goutte, l'inflammation des vaisseaux sanguins, les œdèmes, la fièvre, la toux, les hémorroïdes, les furoncles, les petites plaies, les piqûres d'insectes et les morsures de serpent, et comme stomachique (Shiyovich, 2010).

Récemment, *Gymnema sylvestre* a attiré beaucoup l'attention du fait que la poudre de feuille aiderait à contrôler le taux de glycémie de personnes souffrant de diabète de types 1 et 2, lorsqu'elle est associée à l'insuline. Elle entre en outre dans la composition d'additifs alimentaires comme remède pour la perte de poids car elle est créditée du pouvoir d'inhiber les envies de sucreries et aurait des effets lipidoréducteurs. Elle participe également à la prévention des caries. En période de grossesse ou d'allaitement, il est déconseillé de prendre cette plante car elle n'a pas suffisamment été étudiée et présente une nocivité potentielle pour le bébé. En Afrique de l'Ouest et dans toute l'Asie, les feuilles sont consommées en soupes ou comme légume cuit. En Namibie, on consomme le fruit grillé après l'avoir pelé et en avoir ôté les graines. Son goût est proche de celui de la pomme de terre (Gurav *et al.*, 2007).

I.4.1. Utilisation de *Gymnema sylvestre* en Afrique du Nord

L'utilisation de *Gymnema sylvestre* en Afrique du Nord — notamment au Maroc, en Tunisie et en Algérie — reste marginale et limitée principalement aux compléments alimentaires importés. Cette plante, originaire d'Asie, n'est pas encore intégrée dans la pharmacopée officielle de ces pays. (Mahjoub *et al.*, 2022)

sa culture locale est quasi inexistante en raison des conditions climatiques peu favorables et du manque de programmes agronomiques adaptés. Néanmoins, *Gymnema sylvestre* suscite un intérêt croissant dans le cadre de la médecine alternative, en particulier pour ses effets potentiels sur la régulation de la glycémie chez les patients diabétiques. On la retrouve parfois sous forme de gélules, tisanes ou poudres dans certaines herboristeries ou parapharmacies urbaines. Son intégration plus large dans le système de santé reste freinée par l'absence d'études locales, de reconnaissance réglementaire et de sensibilisation des professionnels de santé. Pourtant, face à la

prévalence croissante du diabète dans la région, cette plante représente une piste prometteuse pour la phytothérapie, à condition de développer des recherches locales et un encadrement adapté (**Belhouche et al., 2021**)

I.5.Description

Buisson rampant ou liane atteignant 3 m de haut, tige atteignant 15 mm de diamètre, s'enracinant aux nœuds, écorce grise, à poils courts devenant glabres, à lenticelles ; latex abondant dans toutes les parties. Feuilles opposées, simples et entières ; pétiole de 5–25 mm de long ; limbe ovale à elliptique, de 2–9 cm × 1–5,5 cm, base arrondie, cunéiforme ou cordée, apex arrondi à acuminé, glabre au-dessus, légèrement ou densément couvert de poils courts au-dessous (**Buccato et al., 2024**).

. Inflorescence : cyme ombelliforme axillaire, à 3–12 fleurs, atteignant 1,5 cm de diamètre ; pédoncule de 2–13 mm de long. Fleurs bisexuées, régulières, 5-mères, jaunâtres, parfumées ; pédicelle de 2–8 mm de long ; lobes du calice ovales, de 1–2,5 mm de long, apex obtus, poilus ; corolle campanulée, atteignant 5,5 mm de diamètre, tube de 2–2,5 mm de long, lobes d'environ 2,5 mm de long, lobes de la couronne d'environ 1,5 mm de long, avec une cannelure à l'intérieur, densément poilue ; ovaire supère, portion apicale de la tête du stigmate exserte du sommet de la colonne staminale. Fruit : paire de follicules, chacun lancéolé, de 5–10 cm × 6–10 mm, s'amenuisant progressivement à l'apex, vert pâle à beige ou brunâtre, contenant de nombreuses graines. Graines ovoïdes, aplaties, garnies d'une touffe de poils blancs à l'apex (**Pragya et al., 2017**)

I.5.1. Autres données botaniques

Le genre *Gymnema* comprend environ 20 espèces et est présent en Afrique (1 espèce) et dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie et de l'Australie. En 1995, il a été proposé que *Gymnema* soit inclus dans *Marsdenia*, qui représenterait alors un vaste genre pantropical de plus de 300 espèces. Cette proposition a été écartée parce que certaines nouvelles combinaisons n'ont pu être établies pour des espèces de l'Asie du Sud-Est. Une révision taxinomique de *Gymnema* et des genres apparentés pour l'Asie du Sud-Est est nécessaire pour confirmer cette conception.



Fig.2 .plante *Gymnema sylvestre* (Christiansen & Sherry ,2023)

Gymnema sylvestre pousse dans les forêts secondaires, les ripisylves et les savanes arbustives sèches, habituellement sur sol sableux ou limoneux. Il est présent de façon disséminée et localement abondant et commun. Il préfère des précipitations bien réparties dans l'année, de 600–1000 mm. (Sharma *et al* .,2024)

Tableau .1. la liste des espèces et leur zones (**Liedes et al., 2022**).

Nom scientifique	Répartition géographique
<i>Gymnema acuminatum</i>	Népal, nord de l'Inde, ouest de la Malaisie
<i>Gymnema brevifolium</i>	Australie
<i>Gymnema sylvestre</i>	Inde ,Afrique ,Chine du Sud, Sri Lanka
<i>Gymnema lacei</i>	Myanmar, Bangladesh
<i>Gymnema griffithii</i>	Thaïlande

I.6. Les conditions de croissance

Gymnema sylvestre présente une remarquable résistance aux variations de température, tolérant une plage allant de 5°C (41°F) à 43°C (109°F). Malgré cette tolérance, il est sensible aux températures plus froides, montrant souvent des signes de détresse tels que la décoloration des feuilles et le flétrissement s'il est exposé au froid prolongé. Dans des conditions trop chaudes, les symptômes incluent des brûlures sur les feuilles et une déshydratation (**Mohammad et al. , 2022**).

Pour prendre soin de *Gymnema sylvestre*, des mesures de protection comme le paillage et l'ombrage sont indispensables lors des conditions climatiques extrêmes. Sa large tolérance à la température le rend adapté à des environnements variés, mais la prudence est nécessaire en cas d'extrêmes thermiques pour maintenir sa santé et sa vitalité. (**Ashok ,2012**)

I.6.1. Récolte

La teneur des feuilles en acide gymnémique de 8 génotypes de *Gymnema sylvestre* récoltés en Inde a présenté un niveau élevé de variabilité d'un génotype et d'une saison à l'autre. La teneur en acide gymnémique allait de 4,3% à 8,2% d'un génotype à l'autre. Du point de vue saisonnier, on a constaté que la teneur moyenne en acide gymnémique de tous les génotypes était légèrement plus élevée pendant la saison des pluies (6,5%) que pendant les autres saisons. Dans un autre test sur 1 génotype, les feuilles de moins de 2 mois avaient une teneur en acide gymnémique bien plus élevée (7,1–7,6%) que les feuilles âgées de 3 à 4 mois (2,9–3,1%) (**Agrawal et al. , 2016**)

I.6.2. Traitement après récolte

Les feuilles ou les racines de *Gymnema sylvestre* peuvent s'utiliser soit fraîches soit séchées et réduites en poudre en vue d'un usage ultérieur. Il vaut mieux conserver le produit séché dans des récipients hermétiques (**Jiofack , 2010**).

I.7. Propriétés de G. sylvestre

➤ **Régulation de la glycémie**

Gymnema sylvestre est largement reconnu pour son action hypoglycémisante. Ses composés actifs, notamment les acides gymnémiques, réduisent l'absorption du glucose dans l'intestin et favorisent la sécrétion d'insuline, aidant ainsi à contrôler le taux de sucre dans le sang.

➤ **Diminution de l'appétence pour le sucre**

Le gurmarin, une molécule présente dans la plante, a la capacité de neutraliser temporairement la perception du goût sucré. Cela aide à réduire les envies de sucre, ce qui est utile dans les régimes visant à limiter les apports sucrés.

➤ **Soutien à la gestion du poids**

Grâce à son effet coupe-faim et à l'amélioration du métabolisme lipidique, *Gymnema sylvestre* peut jouer un rôle dans les programmes de perte de poids.

➤ **Activités antioxydantes et anti-inflammatoires**

La plante possède également des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui contribuent à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et à réduire les processus inflammatoires (**Farzana et al. ,2019**).

➤ **Usages traditionnels variés**

En médecine traditionnelle, notamment en Ayurveda, *Gymnema sylvestre* est utilisé pour traiter diverses affections telles que l'asthme, les infections, les douleurs articulaires et même les morsures de serpent (**Sahu et al., 2014**).

I.8. Composition chimique *G. sylvestre*

Le *G. sylvestre* contient des saponines triterpéniques appartenant aux classes des oléanes et des dammarènes. Parmi les autres constituants figurent les acides formique, butyrique et tartrique, les flavones, les anthraquinones, l'hentriacontane, le pentatriacontane, les α - et β -chlorophylles, la phytine, les résines, le δ -quercitol, le lupéol, les glycosides apparentés à la β -amyrine et le stigmastérol. L'extrait de plante est également positif aux alcaloïdes. De plus, les feuilles produisent des glycosides acides et des dérivés d'anthraquinone. Les activités pharmacologiques du GS sont listées ci-dessous. (Ha Thanh *et al.*, 2018)

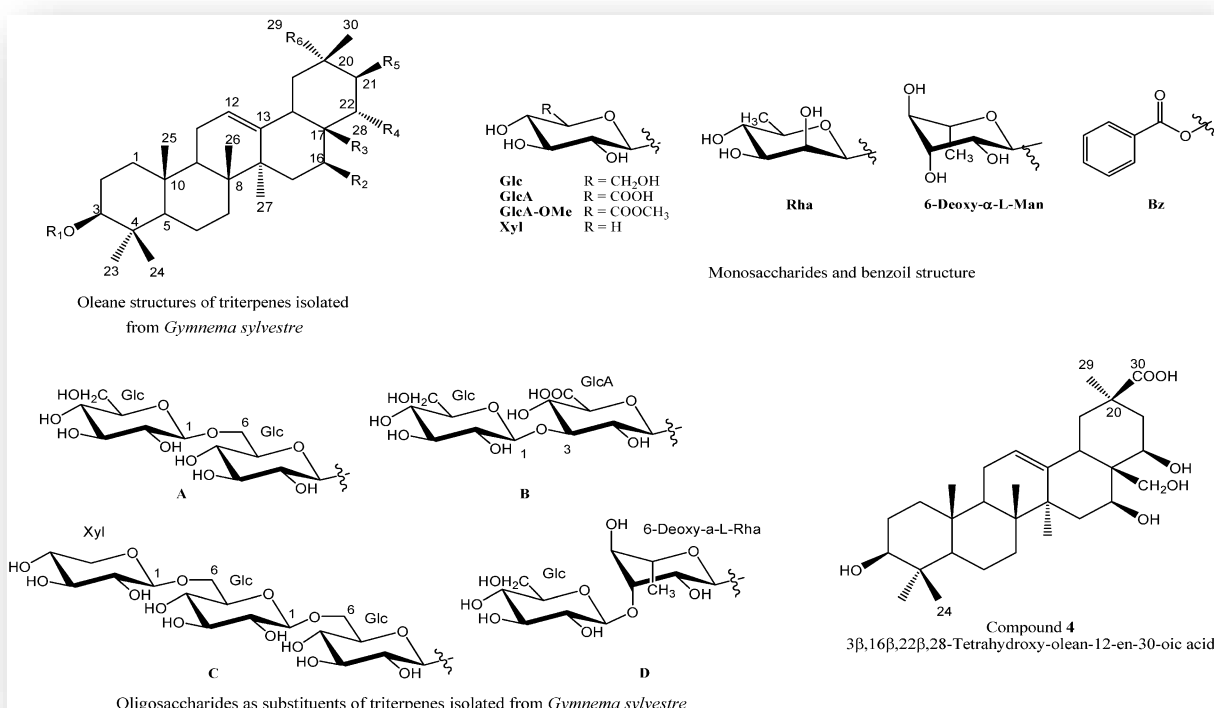


Fig. 3. Structures générales des triterpènes oléanes isolés de *Gymnema sylvestre*

II. Composés phénoliques

II.1. Composés phénoliques d'origine naturelle

Les plantes peuvent synthétiser plusieurs composés organiques appelés métabolites secondaires, soit au cours de processus métaboliques normaux, soit en réponse à certaines conditions environnementales telles que les blessures, la température, les rayons UV, les infections, entre autres.

Ces métabolites sont classés en différents groupes selon la présence de cycles phénoliques dans leur structure, ainsi que la nature des structures qui les stabilisent. Les composés phénoliques apparaissent sous forme de dérivés fonctionnels tels que les esters méthyliques, les esters et les glycosides. Ils sont également présents sous forme de conjugués avec des mono- et polysaccharides, qui se lient à un ou plusieurs composés phénoliques. Ils comprennent les flavonoïdes, les acides phénoliques, les phénols simples et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique. Les composés phénoliques sont répartis en différentes classes, comme illustré dans la Figure 4.

Ils sont toxiques pour les micro-organismes en raison du grand nombre de groupes hydroxyle présents sur les structures phénoliques. La structure de base du phénol ainsi que l'identification structurale de certains composés phénoliques sont présentées respectivement dans la Figure 5 et la Figure 6 (Gośliński *et al.*, 2021).

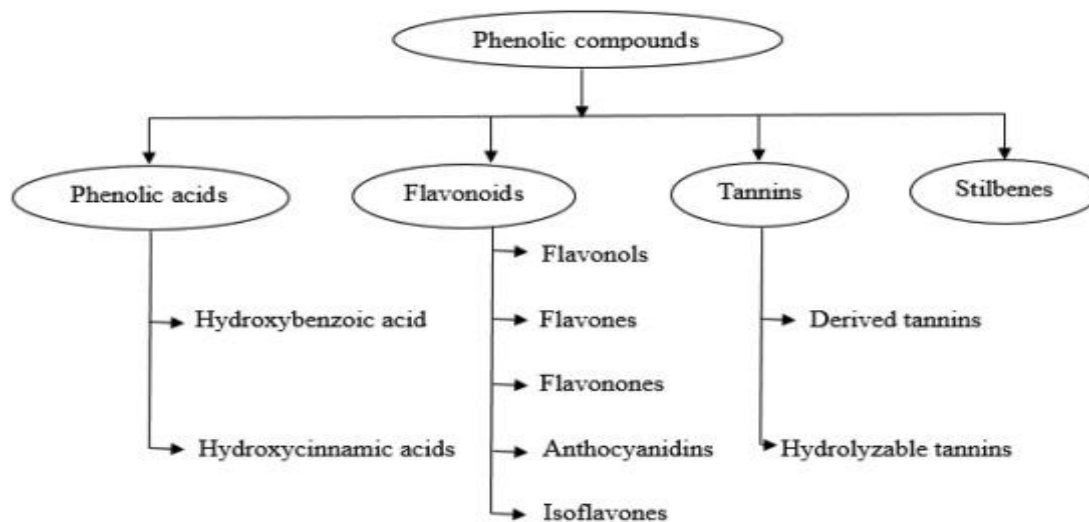


Fig.4. Principales classes de composés phénoliques.

Celles-ci incluent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les stilbènes.

Ces désignations font référence, par rapport à la position du groupe hydroxyle constituant le phénol (attribuée à la position 1), à une relation 1,2- (ortho), 1,3- (méta) ou 1,4- (para) entre les atomes de carbone du cycle.

Voici quelques exemples de composés phénoliques simples (**Vauzour, 2014**).

II.2.1.1. Phénols simples

Les composés phénoliques simples substitués peuvent être des hydroxyphénols ou des dihydroxybenzènes. Parmi les exemples, on trouve le catéchol (1,2-dihydroxybenzène), le résorcinol (1,3-dihydroxybenzène) et l'hydroquinone (1,4-dihydroxybenzène).

D'autres composés phénoliques simples substitués peuvent également être des dihydroxyphénols ou des trihydroxybenzènes. Par exemple : le pyrogallol (1,2,3-trihydroxybenzène), l'hydroxyquinol (1,2,4-trihydroxybenzène) et le phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzène).

II.2.1.2. Acides phénoliques

Les phénols qui contiennent un groupe acide carboxylique sont appelés acides phénoliques. Si le groupe fonctionnel acide carboxylique est directement lié au noyau phénolique, le composé phénolique est appelé acide hydroxybenzoïque. Lorsque le groupe fonctionnel acide carboxylique et le noyau phénolique sont séparés par deux atomes de carbone liés par une double liaison (liaison C=C), les composés phénoliques sont appelés acides hydroxycinnamiques (**Khater, 2011**).

II.2.1.3. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques sont des acides benzoïques substitués par un groupe hydroxyle. On peut également les considérer comme des phénols substitués par un groupe fonctionnel acide carboxylique directement lié au noyau phénolique. Le groupe hydroxyle dans les acides hydroxybenzoïques. Le groupe hydroxyle peut être en position ortho (o) (acide salicylique), méta (m) ou para (p). Les structures sont illustrées ci-dessous.

Les acides dihydroxybenzoïques sont des acides benzoïques substitués par deux groupes hydroxyle. Ces deux groupes hydroxyle peuvent principalement être situés en positions 2,3 ; 2,4 ; 2,5 ; 2,6 ; 3,4 ; et 3,5.

Les acides trihydroxybenzoïques sont des acides benzoïques substitués par trois groupes hydroxyle. Parmi les exemples, on trouve l'acide 2,4,6-trihydroxybenzoïque et l'acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque (acide gallique) (**Das et al., 2019**).

II.2.1.4. Acides hydroxycinnamiques

Lorsque le groupe fonctionnel acide carboxylique est séparé du noyau phénolique par une double liaison carbone-carbone (C=C), les acides phénoliques sont appelés acides hydroxycinnamiques. Les exemples d'acides hydroxycinnamiques incluent les acides 2-, 3-, et 4-hydroxycinnamiques présentés ci-dessous. D'autres exemples courants d'acides cinnamiques sont l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique (Hassaine, A. (2020)).

II.2.2. Coumarines

Les hydroxycoumarines sont des coumarines substituées par un groupe hydroxyle. Ce sont des exemples de composés phénoliques (Aitor *et al.*, 2021).

II.2.3. Polyphénols

Les composés phénoliques qui contiennent plus d'un groupe phénol sont appelés « polyphénols ». Les composés polyphénoliques possèdent généralement une structure de base de type C15 (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

II.2.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques dont la structure générale est illustrée ci-dessous. En général, les cycles A et C sont mono-, di- ou trihydroxylés. L'hétérocycle oxygéné B est habituellement un cycle pyrone, comme dans la lutéoline, mais peut aussi être un cycle pyrylium, comme dans la delphinidine.

Si le cycle C est attaché au carbone C2 du cycle B, le flavonoïde est un flavone (comme la lutéoline), un flavonol (comme le kaempférol), une anthocyanine (comme la delphinidine) ou un flavanone (comme la naringénine). Si le cycle C est attaché au carbone C3 du cycle B, alors le flavonoïde est une isoflavone, comme la daidzéine.

Les chalcones, comme la chalcone elle-même, sont une classe de flavonoïdes dans laquelle les cycles A et C sont séparés par une chaîne linéaire de trois carbones au lieu d'un cycle. La liaison entre C2 et C3 du cycle B est généralement une double liaison, comme dans les flavones, flavonols, chalcones et isoflavones. Cependant, cette liaison peut être simple, comme dans les flavanones (Ghnimi, 2015).

II.2.5. Tanins

Les tanins sont connus pour se lier aux protéines et aux acides aminés et les précipiter. Ils sont subdivisés en trois types : hydrolysables, condensés et complexes.

Les tanins hydrolysables peuvent être des gallotanins ou des ellagitanins. Les gallotanins sont des polyols substitués par des unités d'acide gallique. Les unités galloyles dans les gallotanins sont reliées entre elles par des liaisons depsidiques (esters). Le noyau polyol le plus courant est un D-glucose substitué par des unités d'acide gallique. L'acide tannique est un exemple de gallotanin.

De manière similaire aux gallotanins, les ellagitanins sont des composés hydrolysables tels que le 1,2,3,4,6-pentagalloyl-glucose. Cependant, contrairement aux gallotanins qui comportent des liaisons de type ester, les groupes galloyles adjacents dans les ellagitanins sont reliés par des liaisons carbone-carbone (C-C).

Les tanins condensés sont des composés phénoliques polymériques constitués d'unités de catéchine. Lorsqu'ils sont dépolymérisés, ils produisent des anthocyanidines. Ainsi, les tanins condensés sont appelés proanthocyanidines.

Les tanins complexes sont des gallotanins ou ellagitanins liés à une unité de catéchine (**Rira , 2019**).

II.3. Biosynthèse

Il existe deux voies générales pour la biosynthèse des composés phénoliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide acétique (**Marchica et al., 2020**). Dans la voie de l'acide shikimique, le phosphoénolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate réagissent en quelques étapes pour donner le 3-déshydroquinone.

La déshydratation par la shikimate déshydrogénase produit l'acide 3-déshydroshikimique. La réduction par le NADPH donne ensuite l'acide shikimique. L'acide 3-déshydroshikimique peut également conduire à l'acide gallique en plusieurs étapes. L'acide shikimique est ensuite converti en acide chorismique, lequel subit un réarrangement de Claisen pour produire l'acide préphénique. Ce dernier est alors transformé, par plusieurs réactions, en tyrosine.

L'acide aminé sert de point central et de précurseur essentiel pour la biosynthèse de divers composés phénoliques. Une autre voie menant aux composés phénoliques est la voie des phénylpropanoïdes.

Cette voie est essentiellement similaire à celle de l'acide shikimique jusqu'au stade de la L-phénylalanine, à partir duquel la voie des phénylpropanoïdes prend le relais.

La L-phénylalanine subit une désamination catalysée par l'enzyme phénylalanine ammoniac-lyase (PAL) pour donner de l'acide cinnamique. Une hydroxylation, suivie d'une conversion en coenzyme A, permet d'obtenir le p-coumaroyl coenzyme

Cette molécule constitue un point central dans la biosynthèse de divers composés phénoliques (**Ibrahim et al., 2020**).

Les composés phénoliques possèdent un large éventail d'activités biologiques telles que des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Ces propriétés permettent aux composés phénoliques de réduire diverses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer et l'hypertension. Ils peuvent donc être utilisés dans l'industrie pharmaceutique comme agents thérapeutiques.

Leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes permettent également aux composés phénoliques de jouer le rôle de conservateurs et d'additifs alimentaires. Ils ont donc également des applications dans l'industrie agroalimentaire. De plus, les composés phénoliques trouvent des applications dans les industries cosmétique et de l'emballage.

L'exploitation de tout le potentiel des composés phénoliques repose sur le développement de méthodes prudentes et efficaces pour leur détection, leur isolement et leur analyse. Une orientation clé réside également dans leur transformation synthétique et leur élaboration en de nouvelles molécules potentiellement plus actives sur le plan biologique. Par ailleurs, une autre perspective réside dans le développement de nouvelles méthodes pour la synthèse rapide des composés phénoliques (**Zieniuk et al., 2020**).

[Matériels et méthodes]

I. Matériel vegetal

Il est constitué de la plante gymnema (*Gymnema sylvestre*) qui a été achetée dans un marché local de MOSTAGANEM (Algérie) au mois de Décembre 2024. La plante a été ensuite identifiée au niveau du laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS). La partie sur laquelle nous avons basé notre travail est la partie aérienne de *Gymnema sylvestre* (feuilles, fleurs).



Fig.7. Feuilles fraîches de *Gymnema sylvestre*

Les feuilles de la plante ont été triées, nettoyées, puis séchées à l'abri de la lumière, pendant 48h à l'étuve (40°C), puis finement broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de diamètre. Les broyats obtenus ont été utilisés pour les différents dosages réalisés dans ce travail.



Fig.8. Matière végétale broyée

I.1.Objectifs de l'expérimentation

La présente étude a but de révéler le pouvoir antioxydant de la plante *Gymnema sylvestre*. L'étude expérimentale menée a permis quantifier quelques composés antioxydants tels que les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux par un dosage colorimétrique, puis évaluer l'activité antioxydante par deux techniques : le piégeage du radical libre (DPPH) et la réduction du fer (FRAP).

I.2.Préparation de l'extrait eau-méthanol de *Gymnema sylvestre*

Après broyage de *Gymnema sylvestre*, 30 g du matériel végétale et soumis a une agitation pendant 30 minutes à température ambiante, dans 300 ml du mélange eau-méthanol (187,5-112,5 ml) pendant 1 heure. L'extrait ensuite filtrés sur papier Whatman N°05, puis concentrés au Rotavapeur. La solution récupérée est séchée dans l'étuve à 37°C pendant 72h, c'est l'extrait brut eau-méthanol pour *Gymnema sylvestre* (**Karumi et al .,2004**).

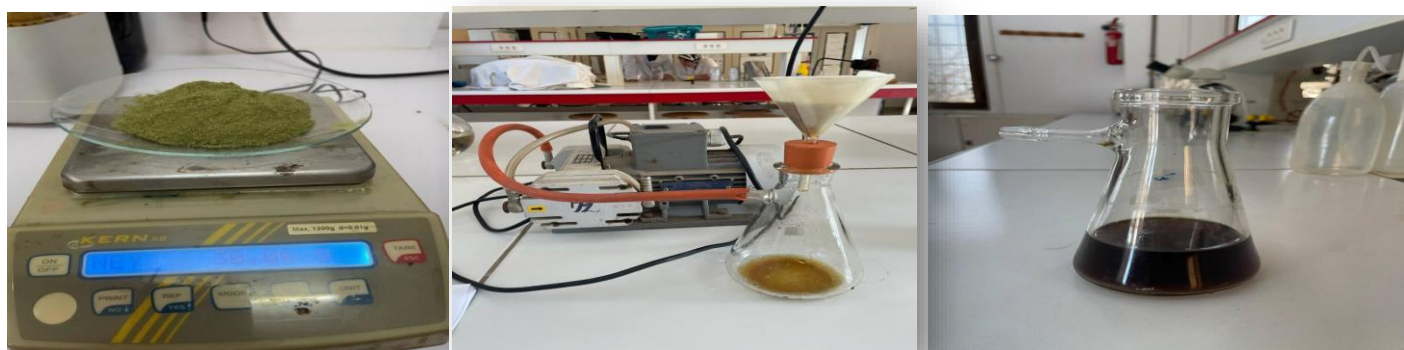


Fig.9. Les étapes de préparation de l'extrait Eau-Méthanol de *Gymnema sylvestre*

Les étapes de l'expérimentation sont présentées dans la figure 10 :

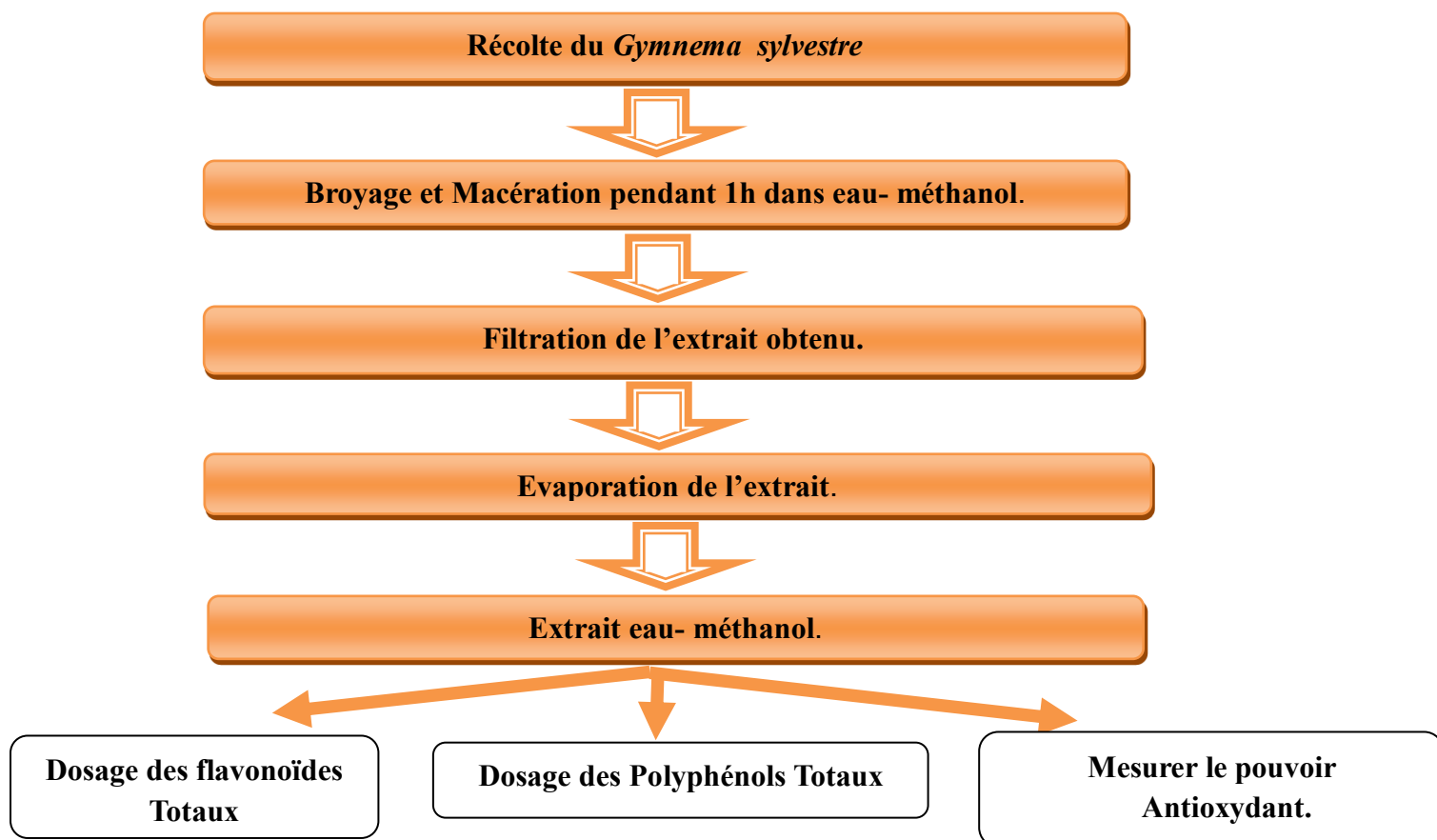


Fig.10.les étapes expérimentales de *Gymnema sylvestre*



Fig.11.L'extrait Eau-Méthanol de *Gymnema sylvestre*

I.3. Le Rendement Obtenue

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse des Polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traité. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : Poids du ballon après évaporation.

P2 : Poids du ballon avant évaporation.

P3 : Poids de la matière végétale de départ.

II. Méthode

II.1. Quantification des composés antioxydants

II.1.1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé, en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu proposée par Singleton et Rossi (1965) et adaptée . C'est une méthode spectrophotométrique basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu qui est un mélange de complexe d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide Phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune, formant un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu. Cette coloration bleue produite, proportionnelle au taux de composés phénoliques, possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Le dosage des polyphénols totaux (PT) est effectué par la comparaison de l'absorbance observée de l'échantillon à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentrations connues.

Un volume de 1 ml d'extrait est mélangé avec 1 mL du réactif de Folin-Ciocalteu et 10 mL d'eau distillée. Après 2 minutes d'incubation, 4 mL de NaCO₃ sont ajoutés et le mélange est ajusté à un volume final de 25 mL avec de l'eau distillée. Tous les échantillons sont incubés à température ambiante, dans l'obscurité pendant 1 heure et leurs absorbances sont lues à 765 nm contre un blanc (4 mL NaCO₃ + 1 mL de Folin-Ciocalteu, ajusté à 25 mL avec de l'eau distillée).

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait , est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire, réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les essais sont réalisés en triplicata et les teneurs en phénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par 100 gramme de miel (mg EAG /100 g d'extrait). Les étapes de dosage de Polyphénols totaux sont présentées dans la figure 12.

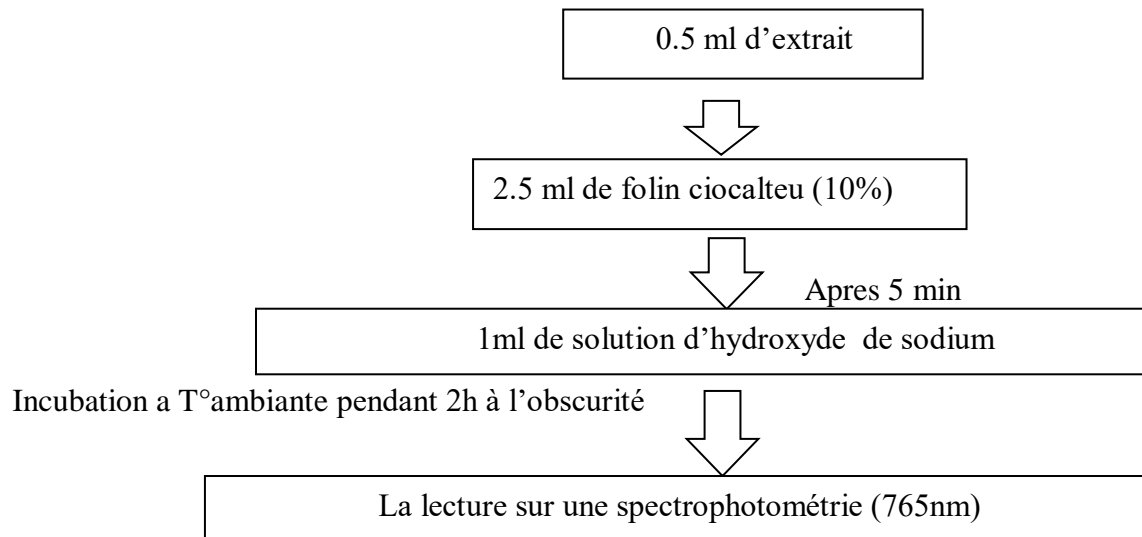


Fig.12.dosage de Polyphénols totaux

II.1.2.Détermination des teneurs en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est effectuée par une méthode colorimétrique basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes adaptés par **Zhishen *et al.*,(1999)**. Une quantité de 250 μL de l'extrait est ajoutée à 1250 μL d'eau distillée. Au temps zéro, 75 μL de nitrite de sodium NaNO_2 à 5 % est ajouté au mélange puis agitée. Après 6 min, 150 μL de trichlorure d'aluminium AlCl_3 ; 6 H_2O à 10 % (m/v) est rajouté et le mélange est vigoureusement agité. Après 5 min d'incubation à température ambiante, 500 μL d'hydroxyde de sodium NaOH (1 M) est additionné puis le volume total est ajusté à 2,5 mL avec l'eau distillée. Le blanc est préparé comme précédemment décrit en remplaçant l'échantillon par le solvant de solubilisation. L'absorbance de la solution obtenue est directement mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 510 nm.

Une courbe d'étalonnage ($y = a x + b$) établie par la catéchine dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. Les essais sont réalisés en triplicata et les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en milligramme équivalent de Quercétine par 100 g de plante (mg EQ/100 g).

II.2. Évaluation de l'activité antioxydante

Au vu de la complexité des processus oxydatifs et la nature diversifiée des antioxydants, avec à la fois des composants hydrophiles et hydrophobes, il n'existe pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être quantifiée d'une façon bien précise. Le plus souvent la combinaison de tests complémentaires est utilisée afin d'avoir une indication sur la capacité antioxydante des échantillons à tester (**Popovici et al., 2009**).

Concernant l'évaluation de l'activité antioxydante in vitro, différentes méthodes sont développées tels que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle), le FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) et d'autres tels que l'ABTS+• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonique). Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux ou la réduction de l'espèce oxydante (**Prior et al., 2005**).

II. 2.1. Évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH

De point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• est recommandé pour des composés contenant des groupes SH-, NH- et OH-. Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (**Popovici et al., 2009**).

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 515 nm. Quand une solution de DPPH• est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y a formation de la forme réduite le diphénylpicryl-hydrazine. Ceci provoque la perte de la coloration violette et l'apparition d'une coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 515 nm (**Brand-Williams et al., 1995**). L'activité de piégeage des radicaux déterminée par DPPH est exprimée par la valeur IC₅₀ (la valeur de concentration d'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH initial). Une faible valeur de la IC₅₀ indique une activité antioxydante plus élevée (**Brand-Williams et al., 1995**).

Le test est basé sur le protocole de **Brand-Williams et al., (1995)** en y apportant quelques modifications. Une solution de DPPH à 60 µM est préparée à l'avance. Une masse de 1,65 mg de

DPPH, de masse molaire 394,33 g/mol, est solubilisée dans 70mL de méthanol sous agitation pendant une heure à l'obscurité, et à température de 4 °C. Dans des tubes secs, des volumes de 1mL de chaque échantillon (Extraits) de concentrations différentes sont ajoutés à 2mL de la solution méthanoïque du DPPH. Parallèlement, un contrôle négatif de 2 mL de la solution méthanoïque de DPPH est préparé.

Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 10 secondes. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante, la lecture de l'absorbance contre un blanc en mélangeant de 2mL de méthanol avec 1mL de l'eau (solvant de solubilisation des échantillons) est faite pour chaque concentration à 515 nm par un spectrophotomètre UV Visible. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un anti-oxydant standard; La vitamine E dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Pour chaque concentration le test est répété 3 fois et l'activité anti-oxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (% PI) suivant l'équation suivante :

$$\% \text{ PI} = [(A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle négatif}] \times 100$$

; avec :

A contrôle négatif correspond à l'absorbance du DPPH après le temps de la réaction.

A échantillon correspond à l'absorbance de l'échantillon avec DPPH après le temps de la réaction.

L'activité antioxydante est exprimée ensuite par la détermination d'IC50, sachant que l'IC50 est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

II.2.2. Évaluation de l'activité antioxydant par le test FRAP

Largement utilisé pour la détermination de l'activité antioxydante dans de nombreux échantillons, le test FRAP repose sur le fait que le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) qui donne la couleur bleue. En effet, le Fe³⁺ participe à la formation du radical hydroxyle. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Doukani et al.,2014 ; Khalil et al.,2012**).

Le pouvoir réducteur du fer (Fe³⁺) dans les échantillons est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu, (1986)**. Un volume de 400 µL de l'échantillon (miels) à différentes

concentrations est mélangé avec 1 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 1 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 1 mL d'acide trichloroacétique à

10% est ajouté pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un aliquote (1 mL) de surnageant est combinée avec 1 mL d'eau distillée et 0,2 mL d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'échantillon par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique (Aasc) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés. La droite d'étalonnage est établie à partir des absorbances lues pour la gamme de solutions de

l'acide ascorbique utilisée comme composé de référence. Elle est de la forme :

$$Abs = a \times [Aasc] + b.$$

Chaque échantillon est testé, et l'absorbance qui en découle permet de déterminer sa concentration soit en μg d'équivalent Aasc en utilisant la formule suivante :

« a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite étalon.

En considérant en suite la concentration de l'échantillon étudié, on exprime alors l'activité antioxydante en μg d'équivalent acide ascorbique Aasc / 100 g de plante (**Doukani *et al.*, 2014**).

II.2.3.Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire

❖ Principe

Afin d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes, le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, décrit par Kandikattu, 2013, est utilisé. Le principe repose sur l'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) provoquée par la chaleur (72 °C), grâce aux extraits de plantes.

❖ Mode opératoire

- Une gamme de concentrations de chaque extrait végétal (de 0 à 10 mg/mL) est préparée.
- 1 mL de chaque dilution est mélangé à 1 mL de solution de BSA à 0,2 %, préparée dans du tampon Tris-HCl (0,05 M, pH 6,6).

- Le mélange est incubé à 37 °C pendant 15 minutes, puis à 72 °C pendant 5 minutes.
- Après incubation, le mélange est vortexé, refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Pour chaque concentration d'extrait, un blanc constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6) est préparé. Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du Tris-Hcl des résultats obtenus.
- Dans ce test, le diclofénac a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence. L'évaluation de son activité anti-inflammatoire a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles appliquées aux échantillons.
- Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Protection (\%)} = \frac{(\text{DO contrôle} - \text{DO blanc}) - (\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})}{(\text{DO contrôle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

DO Blanc : Absorbance de l'extrait sans BSA

DO Échantillon : Absorbance de l'échantillon ou standard (test)

DO Contrôle : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA

III. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de $M \pm ES$ de 3 essais par échantillon. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre les différents échantillons est effectuée en utilisant le test 't' de Student (test 't' est significatif à $P < 0,05$).

[Résultats et discussions]

I. Rendement d'extraction de *G.sylvestre* :

I.1. Détermination du rendement d'extraction:

Le poids des extraits secs sont déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant le transfert du filtrat à évaporer selon la méthode de **Ptichkina et al. (2008)**).

Tableau 2. Le rendement des extraits (%).

Extrait <i>G.sylvestre</i>	Rendement (%)
	21,9 %

Le rendement d'extraction méthanolique obtenu à 21,9 % pour *Gymnema sylvestre* est considéré comme élevé et tout à fait cohérent avec les valeurs rapportées dans la littérature scientifique, **Kumar et Bhowmik, (2010)** ont obtenu un rendement de 22,4 % en utilisant une macération avec du méthanol à 80 %, tandis que **Patel et al., (2011)**, ont rapporté un rendement de 20,8 % avec de l'éthanol à 70 % par Soxhlet. Selon **Michel et al. (2012)**, le rendement des extractions dépend de la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire. De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique de l'extrait préparé (**Tefiani, 2015**). Ces valeurs proches confirment l'efficacité des solvants alcooliques, en particulier du méthanol, pour l'extraction des composés bioactifs des feuilles de *G. sylvestre*. À titre de comparaison, l'extraction à l'eau donne des rendements plus faibles (souvent autour de 10 à 12 %), ce qui souligne l'intérêt de l'utilisation de solvants organiques polaires pour maximiser l'extraction. Ainsi, le rendement de 21,9 % obtenu est non seulement optimal, mais aussi comparable aux meilleurs résultats disponibles dans les études récentes.

II. Quantification des composés antioxydants

La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxylés phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$).

II.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode de quantification utilisée est largement reconnue comme l'une des plus appropriées pour le dosage des polyphénols totaux dans les extraits végétaux. Elle se distingue par sa simplicité, sa reproductibilité, ainsi que par sa capacité à limiter les interférences liées à la matrice souvent colorée des échantillons, grâce à l'utilisation d'une longueur d'onde d'absorption élevée (765 nm) (Huang *et al.*, 2005).

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme de matière végétale ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$), les concentrations en polyphénols totaux des extraits sont déduites après extrapolation sur la courbe étalon de l'acide gallique (Fig. 13).

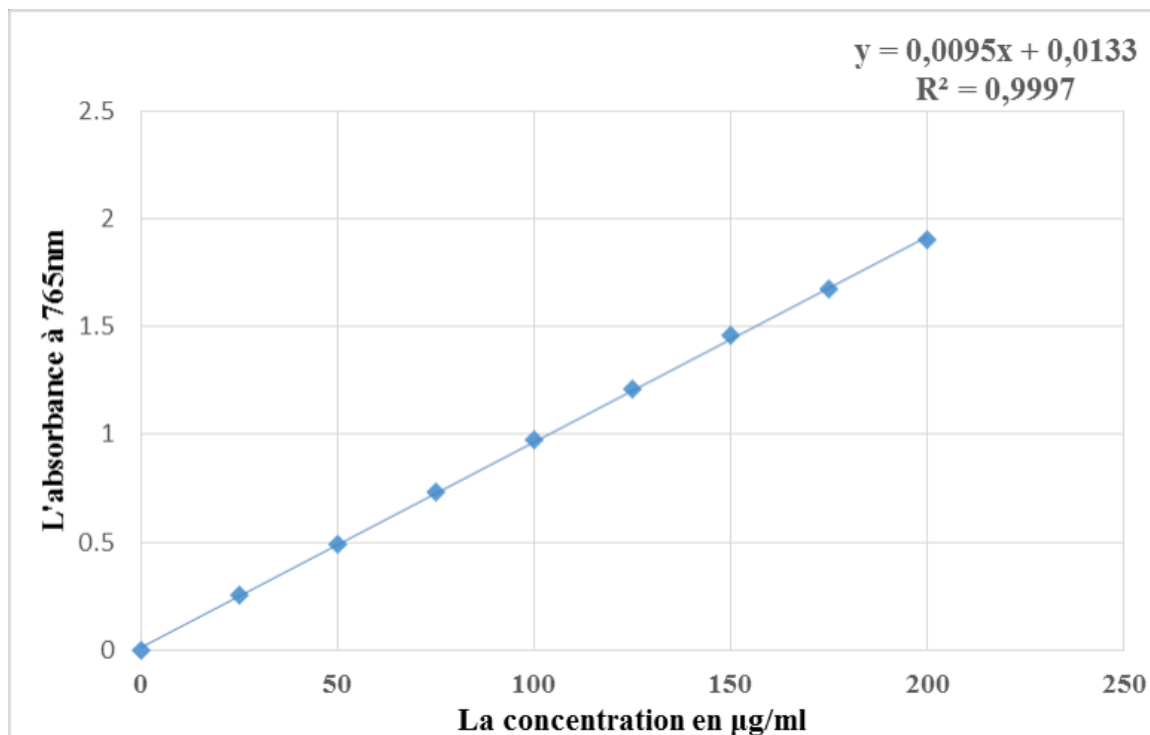


Fig.13. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantification des polyphénols a été effectuée à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu à 2 %. Bien que cette méthode soit simple, sensible et largement utilisée, elle présente un manque de spécificité vis-à-vis des polyphénols. En effet, le réactif peut également interagir avec d'autres substances telles que les protéines, les glucides, l'acide ascorbique ou encore certains composés soufrés, ce qui peut altérer la précision des résultats (**Singleton & Rossi., 1965**)

En ce qui concerne notre étude, La teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Gymnema sylvestre* est d'environ $10,89 \pm 0,94$ µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait. L'étude de (**Suraj, 2019**) a évalué la teneur totale en phénols à 20,20 µg EQ/mg. La quantité de polyphénols présente dans *Gymnema sylvestre* fluctue selon la nature de l'extrait et la technique analytique utilisée.

Des études récentes ont montré que les niveaux de composés phénoliques, très variable d'une espèce à l'autre et au sein. Une même espèce, en raison de facteurs externes (température, climat, etc.), génétiques (variété origine de l'espèce), physiologique (degré de maturité des agrumes, lieu de culture) et temps de stockage (**Gerbeaud , 2022**). L'amélioration de l'extraction passe par l'optimisation, d'une part du système de solvant et d'autre part des paramètres tels la température et le temps d'extraction. L'augmentation de la température et du temps d'extraction, augmentent la libération du contenu végétal dans le milieu. Néanmoins, une élévation importante de la température (au-delà de 100°C) aboutit à la dégradation des polyphénols (**Gerbeaud , 2022**) . La mise au point d'un solvant standard approprié à l'extraction de différents métabolites antioxydants à partir de la matrice végétale est impossible jusqu'à l'heure actuelle. Ainsi, le processus de criblage est important pour identifier le meilleur solvant approprié à une extraction spécifique et ainsi approcher un potentiel antioxydant optimal de l'échantillon étudié (**ADDAI et al, 2013**).

II.2. Taux de Flavonoïde totaux dans l'extrait *G.sylvestre*

Équations de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimées en µg d'équivalent de quercitrine par milligramme d'extrait de *Gymnema sylvestre*.

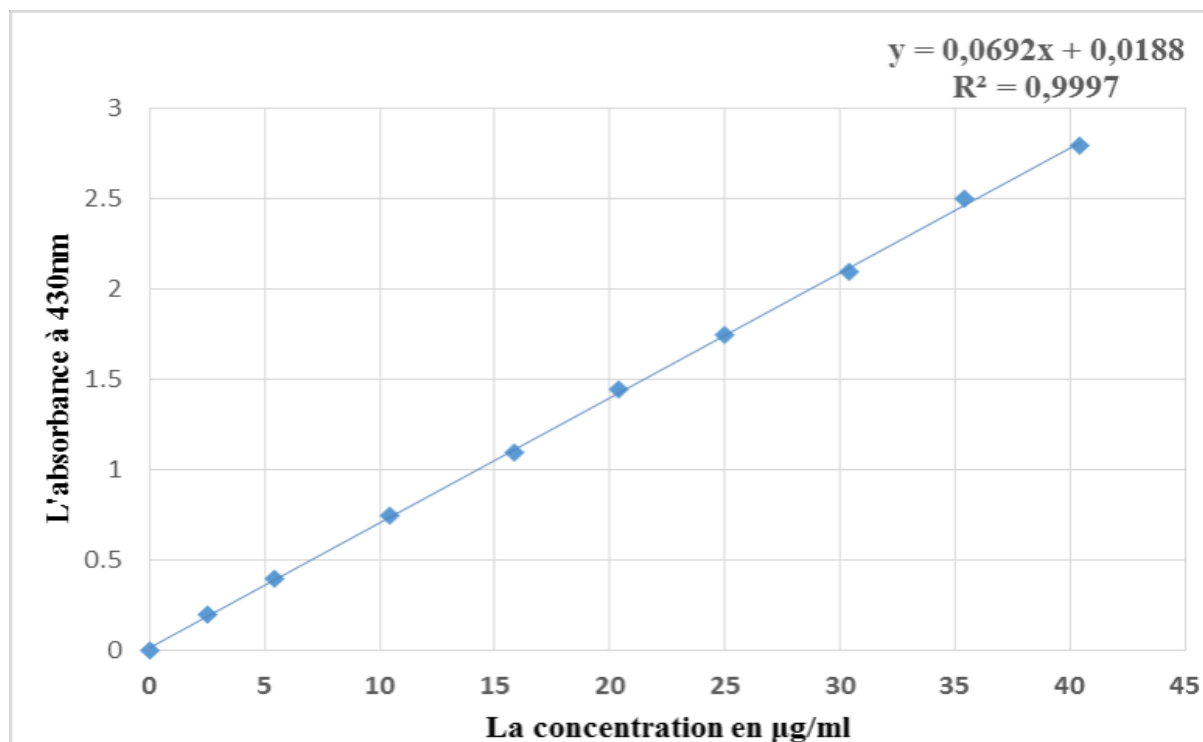


Fig.14.Courbe d'étalonnage de la quercétine

La teneur en flavonoïdes enregistrée dans cette étude est de $20,10 \pm 0,084 \mu\text{g EQ/mg}$ extrait de *G.sylvestre* est tout à fait cohérente avec les données rapportées dans la littérature, **Saneja *et al.*, (2010)**, ont quantifié une teneur en flavonoïdes de $20 \mu\text{g EQ/mg}$ dans un extrait méthanolique obtenu par macération à température ambiante, ce qui est très proche de nos résultat. De même, **Kamble *et al.*, (2011)**, ont trouvé une teneur de $20,2 \mu\text{g EQ/mg}$ dans un extrait végétale obtenu par Soxhlet à l'aide de méthanol, confirmant ainsi que ce solvant est efficace pour l'extraction de flavonoïdes, qui sont des composés polaires solubles dans les alcools légers. Par comparaison, des solvants moins polaires ou des extractions aqueuses donnent souvent des teneurs plus faibles (<1,5 %). Ainsi, nos résultat de 2,1 % s'inscrit dans la fourchette haute des extraits méthanoliques et témoigne d'une bonne efficacité d'extraction.

Due à l'exposition plus importante des plantes au soleil dans nos régions, ce qui favorise la production de flavonoïdes comme porteurs d'électrons pendant la photosynthèse (**Elicoh-Middleton *et al.*, 2000**). Ces molécules ont une très grande importance dans l'alimentation humaine car elles jouent le rôle d'antioxydants protecteurs des cellules et constituent une valeur ajoutée au miel (**Alan & Miller, 1996**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur les teneurs en flavonoïdes, des études ont montré que les facteurs extrinsèques et intrinsèques tels que des facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation des plantes et la durée de stockage ainsi que la méthode d'extraction utilisée, ont une forte influence sur le contenu en flavonoïdes ainsi les méthodes de stockage et l'exposition aux agrumes peuvent affecter la teneur en flavonoïdes (Fabianek., 2018).

II.3.Évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH

Le DPPH est un radical à base d'azote stable qui est largement utilisé pour tester le piègeur de radicaux libres et la capacité de diverses substances. Une forte activité de piégeage de DPPH confère des niveaux élevés d'activité antioxydante de l'échantillon. Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008).

Au cours de la réaction une dégradation de la couleur violette de la solution de DPPH en présence de l'échantillon et de la solution étalon (Vitamine C) peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à une longueur d'onde 515 nm et qui est dus à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants donneurs d'hydrogènes présents dans l'échantillon et dépendante de sa concentration.

L'CI50 qui représente la quantité d'un antioxydant nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH de 50%, est utilisé comme indicateur pour comparer la capacité antioxydante des échantillons dans lesquels l'échantillon avec le plus fort pouvoir antioxydant présente des valeurs plus faibles de l'CI50 en comparaison avec une référence qui est la vitamine C. Les résultats de l'activité antiradicalaire de la vitamine C de notre extrait, exprimés en PI (%), sont représentés sous forme de moyenne \pm écart type dans les tableaux suivants.

Tableau. 3. Pourcentage d'inhibition (PI) des radicaux libres de la vitamine C

[C] (mg.mL ⁻¹)	10	15	20
PI (%)	41,87 ± 4,31	37,00 ± 2,99	47,06 ± 2,42

Tableau. 4. Pourcentage d’inhibition (PI) des radicaux libres l’extrait de *Gymnema sylvestre*

[C] (mg.mL ⁻¹)	10	15	20
PI (%)	32,30 ± 4,81	65,56 ± 3,29	84,76 ± 4,03

Les valeurs des CI50 de notre extrait , est estimées graphiquement en utilisant la courbe de régression linéaire de pourcentages d’inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testées (Fig. 15)

Les CI50de la Vitamine C et de l’extrait sont déduites à partir des graphes ci-dessous.

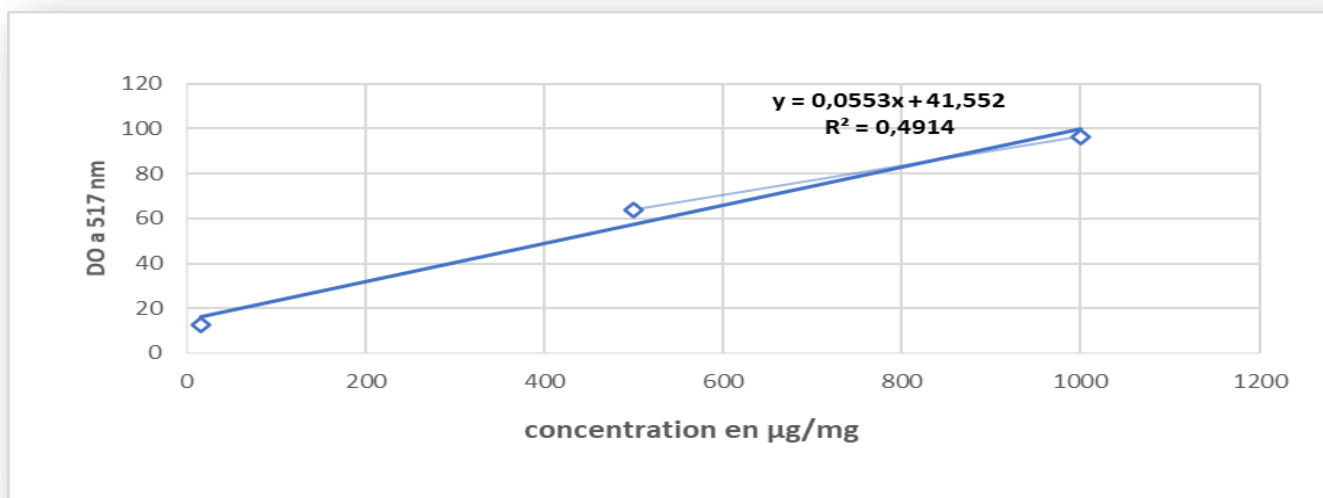


Fig.15. Regression linéaire des PI de la Vitamine C

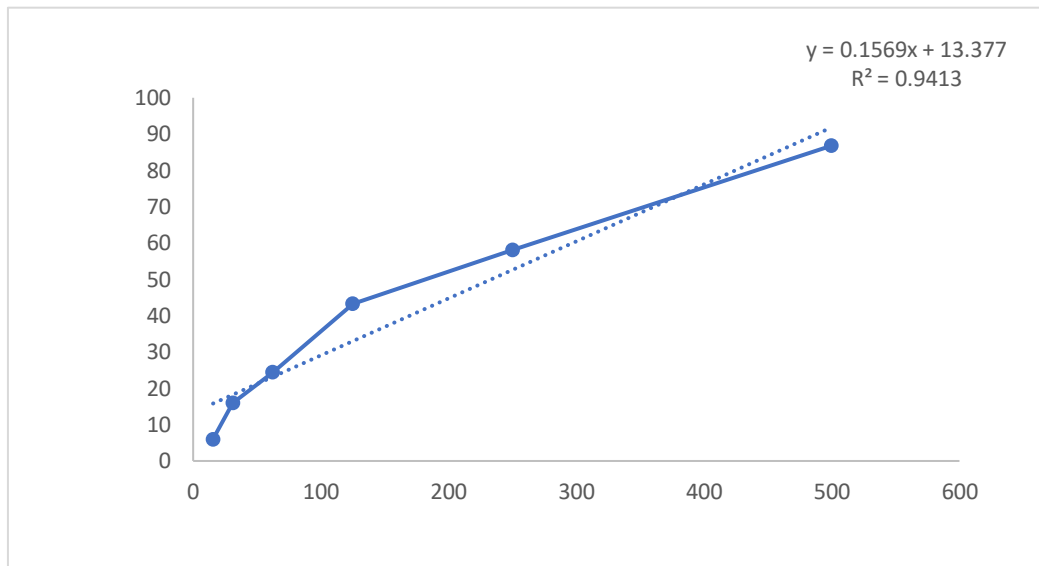


Fig.16. Régression linéaire des PI de *gymnema sylvestre*

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Gymnema sylvestre* a été évaluée par la méthode DPPH, donnant une valeur de $CI_{50} = 67,11 \pm 4,81 \mu\text{g/mL}$. Ce résultat s'inscrit dans la fourchette moyenne rapportée par plusieurs études antérieures .

Patil *et al.*, (2021) ont obtenu une CI_{50} de $59.09 \pm 4,81 \mu\text{g/mL}$ à partir d'un extrait hydroalcoolique, indiquant une activité antioxydante légèrement plus forte que celle mesurée ici. De manière similaire, (Chen & Guo 2017) ont rapporté une CI_{50} de $68,7 \pm 2,81 \mu\text{g/mL}$ contre l'enzyme α -glucosidase, très proche du résultat de la présente étude, bien que la méthode diffère légèrement (enzyme plutôt que radical libre).

D'autres études comme celle de (Keerthika *et al.* , 2021) ont trouvé des CI_{50} plus élevées, allant de $83,8 \pm 4,31 \mu\text{g/mL}$ (DPPH) pour des extraits éthanoliques, indiquant une activité plus faible que celle obtenue avec nos extrait méthanolique. À l'inverse, une étude récente (2024) utilisant également le méthanol a rapporté une CI_{50} plus basse ($48,34 \mu\text{g/mL}$), suggérant une activité antioxydante plus prononcée. Cette variation peut être attribuée à plusieurs facteurs : origine géographique des feuilles, méthode d'extraction, temps de macération, polarité du solvant, ou encore concentration de composés bioactifs tels que les flavonoïdes .

L'ensemble de ces résultats montre que l'extrait testé ici possède une activité antioxydante modérée, cohérente avec la littérature, et que le méthanol s'avère être un solvant efficace pour l'extraction des composés antioxydants de *Gymnema sylvestre*. Cette activité pourrait être exploitée dans des formulations thérapeutiques naturelles

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test FRAP

Le dosage FRAP donne une estimation directe des antioxydants ou réducteurs présents dans un échantillon en fonction de sa capacité à réduire le couple Fe^{3+}/Fe^{2+} . Ce test mesure le changement d'absorbance à 700 nm en raison de la formation de Fe^{2+} de couleur vert à partir de Fe^{3+} oxydé incolore par l'action des antioxydants donneurs d'électrons.

Une droite d'étalonnage (fig.28.) est établie à partir des absorbances lues pour la gamme de concentrations de l'acide ascorbique utilisée comme composé de référence de la forme :

$$y = 0,0029 x + 0,83 ; R^2 = 0,91.$$

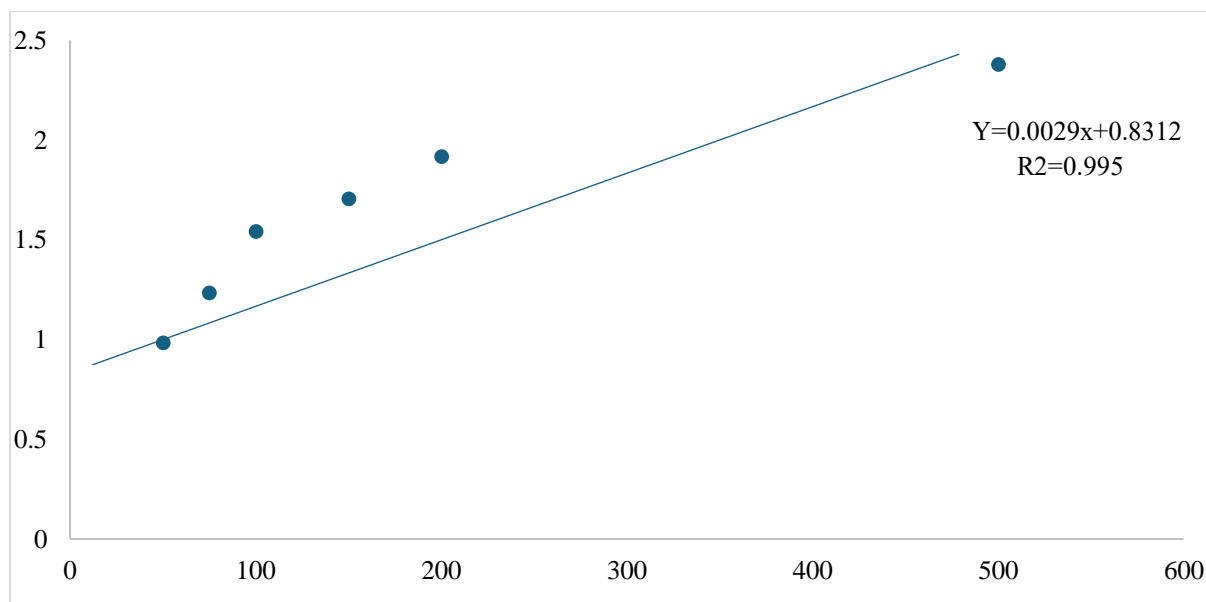


Fig.17. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test FRAP.

Premièrement, chaque échantillon est testé, et l'absorbance qui en découle permet de déterminer sa concentration soit en μg d'équivalent Aasc en utilisant les formules suivantes :

$$\text{concentration en } \mu g \text{ d'Eq (Aasc)} = (\text{abs}-b) / a$$

« a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite étalon. En considérant en

suite la concentration de l'échantillon étudié, le pouvoir réducteur signifie la capacité antioxydante et s'exprime en milligramme équivalent de l'acide ascorbique par 100 gramme du *G.sylvestre* pour échantillons du *G.sylvestre*. Une étude menée par Deepa et al. , (2011) a comparé le pouvoir antioxydant de plusieurs plantes médicinales, dont *Gymnema sylvestre*, en utilisant la méthode FRAP. Les résultats ont montré que L'extrait méthanoïque de feuilles de *Gymnema sylvestre* avait une activité FRAP comprise entre 500 et 700 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ d'extrait sec.

Ce résultat indique une capacité antioxydante significative, mais inférieure à celle d'antioxydants puissants comme la quercétine ou l'acide ascorbique. L'activité antioxydante était corrélée au contenu en polyphénols totaux, suggérant que des composés comme les flavonoïdes sont responsables de cette action. Cette capacité antioxydante modérée peut contribuer à l'effet protecteur de la plante contre le stress oxydatif, notamment dans le contexte du diabète, où les radicaux libres jouent un rôle pathogène important.

Le test FRAP confirme que *Gymnema sylvestre* possède des propriétés biologiques intéressantes, en complément de ses effets hypoglycémiantes. Cependant, le pouvoir antioxydant varie selon l'origine de la plante, le mode d'extraction et les conditions environnementales, ce qui appelle à la prudence dans la généralisation des résultats.

II.5. Activité anti-inflammatoire

Inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**Barros et al., 2008**). La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines in vivo. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines (Mizushima., 1964 ; Barros et al., 2008).

Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométacine n'inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (**Sangeetha et al., 2011**). Ils empêchent la dénaturation d'albumine traitée par la chaleur à pH physiologique.

La figure 18 représente la variation du pourcentage de protection vis-à-vis de la dénaturation thermique du BSA en fonction des différentes concentrations en extrait. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour le diclofénac, considérée dans ce test comme molécule de référence.

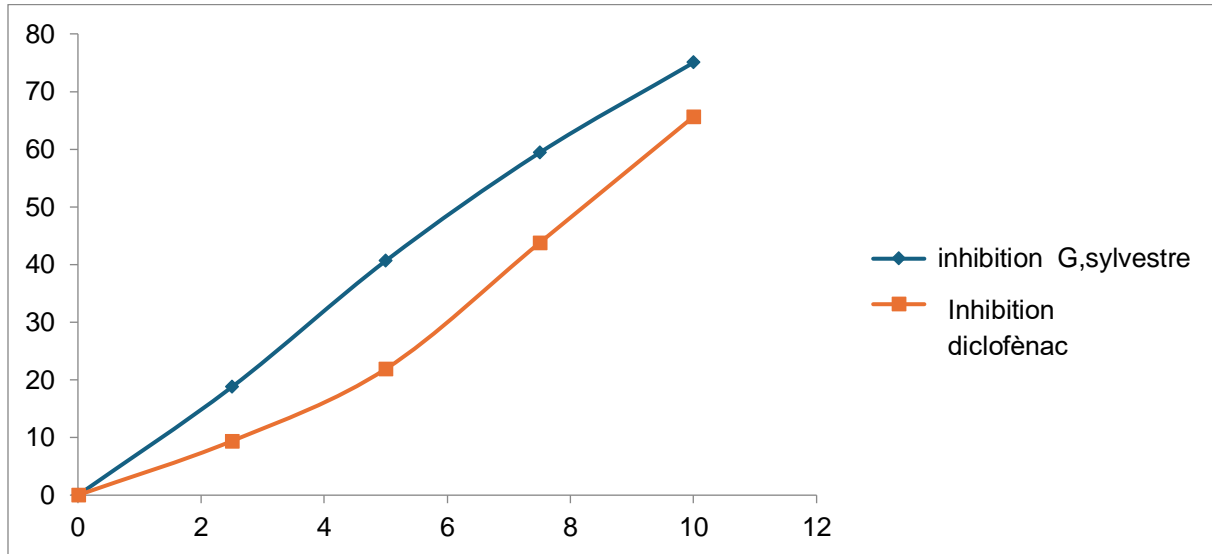


Fig.18. Pourcentages d'inhibition de la dénaturation du BSA

L'étude comparative de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de *Gymnema sylvestris* et du diclofénac a été réalisée à l'aide du test d'inhibition de la dénaturation des protéines, utilisant l'albumine bovine comme substrat. Les résultats montrent une inhibition dose-dépendante pour les deux substances. L'extrait de *Gymnema sylvestris* présente un pourcentage d'inhibition croissant allant de 18,75 % à 75,00 % entre 2,5 mg/mL et 10 mg/mL. De même, le diclofénac présente une inhibition croissante, mais plus modérée, allant de 9,38 % à 65,63 % sur la même plage de concentrations. Ces observations indiquent que l'extrait de *Gymnema sylvestris* possède une activité anti-inflammatoire notable, supérieure à celle du diclofénac dans ce modèle in vitro. Cette efficacité peut être attribuée à la présence de composés bioactifs tels que les saponines, flavonoïdes ou acides phénoliques, reconnus pour leur capacité à inhiber les processus inflammatoires, notamment en stabilisant les protéines contre la dénaturation. La dénaturation des protéines est un mécanisme central dans la genèse de l'inflammation, car elle active la production d'antigènes auto-immuns. Ainsi, la capacité de l'extrait à prévenir ce phénomène reflète son potentiel anti-inflammatoire. Il est à noter que l'extrait naturel n'a pas montré de toxicité visible dans cette gamme de concentration, ce qui suggère un bon indice de sécurité dans les conditions expérimentales utilisées. L'extrait de *Gymnema sylvestris* montre une activité anti-inflammatoire prometteuse in vitro, plus efficace que le diclofénac dans cette expérience. Ces résultats

encouragent à poursuivre des investigations *in vivo* et à caractériser les composés responsables de cette activité (**Mizushima *et al.*, 1969**).

[Conclusion]

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'évaluer le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire des extraits phénoliques de *Gymnema sylvestre* et de déterminer leur implication possible dans la prévention ou la modulation du diabète. À cette fin, une série d'analyses biochimiques a été menée, incluant la quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par les tests DPPH et FRAP, en complément d'un test d'activité anti-inflammatoire.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits de *Gymnema sylvestre* sont particulièrement riches en composés phénoliques et flavonoïdiques, reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé. L'activité antioxydante mesurée par le test DPPH a révélé une forte capacité de piégeage des radicaux libres, tandis que le test FRAP a mis en évidence un pouvoir réducteur important, témoignant de l'efficacité des composés extraits à neutraliser le stress oxydatif.

Ces propriétés antioxydantes sont d'un grand intérêt dans le contexte du diabète, une pathologie caractérisée par une hyperglycémie chronique souvent associée à un stress oxydatif élevé, lequel joue un rôle central dans l'apparition des complications vasculaires, neurologiques et rénales. De plus, l'analyse de l'activité anti-inflammatoire a montré une inhibition significative des médiateurs de l'inflammation, ce qui renforce l'hypothèse selon laquelle *Gymnema sylvestre* pourrait agir non seulement comme antioxydant, mais aussi comme agent modulant l'inflammation chronique, un facteur clé dans la progression du diabète de type 2.

En somme, nos résultats suggèrent que les extraits phénoliques de *Gymnema sylvestre* possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires notables, pouvant jouer un rôle important dans la lutte contre le stress oxydatif et l'inflammation liés au diabète. Ces données expérimentales soutiennent l'intérêt de cette plante médicinale comme adjuvant naturel dans la gestion du diabète. Néanmoins, des investigations complémentaires, notamment des études *in vivo* et cliniques, restent indispensables pour confirmer ces effets et en préciser les mécanismes d'action moléculaires.

Reference bibliographique :**A**

- **Aitor C.**, Maria João M., Eugenio U., and Lourdes S., (2021). Trending Topics on Coumarin and Its Derivatives in 2020. *Molecules*. 26, 501.2-15.
- **Albers, F.**, Gilbert, M., Goyder, D., Liede, S. & Venter, J., 2003. Asclepiadaceae. In: Hedberg, I., Edwards, S. & Sileshi Nemomissa (Editors). *Flora of Ethiopia and Eritrea*. Volume 4, part 1. Apiaceae to Dipsacaceae. The National Herbarium, Addis Ababa University, Addis Ababa, Ethiopia and Department of Systematic Botany, Uppsala University, Uppsala, Sweden. pp. 99–193
- **Amarowicz, R.**, Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, 551 – 562.

B

- **Bagad, Y. M.**, Umalkar, A. R., Tatiya, A. U., et Surana, S. J. (2011). Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *J pharm Res*, 4 :5,1326-132.
- **Barros, L.**, Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., et Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111 :1, 61-66.
- **Belščak-Cvitanović, A.**, Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* (pp. 3-44). Woodhead Publishing.

C

- **Chakrapani L. N.**, Periandavan K. (2018). Protective role of gymnemic acid in curbing high fat diet and high fructose induced pancreatic oxidative stress mediated type-2 diabetes in wistar rats. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 9 (5), 2130–2139. 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(5).2130-39 - DOI

- **Chen, W. & Guo, L. (2017).** *α-Glucosidase inhibitory activity of *Gymnema sylvestre* extract.* Chinese Medicine Journal.
- **Christiansen, Sherry.** “The Health Benefits of *Gymnema Sylvestre*.” Verywell Health, February 28, 2023. <https://www.verywellhealth.com/gymnema-sylvestre-4692940>
- **Chung, Y. C., Chang C. T., Chao W. W., Lin C. F., & Chou S. T. (2002).** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454 – 2458.

D

- **Das A. B., Goud, V. V., & Das, C. (2019).** Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages*, 285–323.
- **Deepa, M. A., Anuradha, C. V., & Kurian, G. A. (2011).** Evaluation of antioxidant potential of *Gymnema sylvestre* R. Br. using in vitro models. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, Vol. 8(1). DOI:10.2202/1553-3840.1431

F

- **Farzana Khan , Md Moklesur Rahman Sarker , Long Chiau Ming , Isa Naina Mohamed , Chao Zhao , Bassem Y Sheikh , Hiew Fei Tsong , Mohammad A Rashid.(2020).**Comprehensive Review on Phytochemicals, Pharmacological and Clinical Potentials of *Gymnema sylvestre*. *Front Pharmacol* .10:1223

G

- **Ghnimi, W. (2015).** Photochemical study of extracts from two Euphorbiaceae species: *Ricinus communis*. Evaluation of their anti-acetylcholinesterase activity (Doctoral dissertation, joint supervision). University of Lorraine, France.
- **Gośliński M, Nowak, D, Szewngiel, A.** Multidimensional Comparative Analysis of Bioactive Phenolic Compounds of Honeys of Various Origin. *Antioxidants*. 2021;10:530-544. <https://doi.org/10.3390/antiox10040530>.
- **Gunasekaran V., Srinivasan S., Rani S. S. (2019).** Potential antioxidant and antimicrobial activity of *Gymnema sylvestre* related to diabetes. *J. Med. Plants*. 7 (2), 05–11.

- **Gurav, S.,** Gulkari, V., Duragkar, N. & Patil. A., 2007. Systemic review: pharmacognosy, phytochemistry, pharmacology and clinical applications of *Gymnema sylvestre* R.Br. *Pharmacognosy Reviews* 1(2): 338–343.

H

- **Hadjadj Kouider 1** , Benaissa Mohammed , Mahammedi Mohammed Ouragh Abdelkader , Rahmou Abdelkarim.(2019).IMPORTANCE DES PLANTES MEDICINALES POUR LA POPULATION RURALE DU PARC NATIONAL DE DJEBEL AISSA (SUD OUEST ALGERIEN)
- **Hassaine, A. (2020).** Phenolic compounds, [pdf] P22
- **H. Jouad et al.** Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, car-diac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane) *J Ethnopharmacol* (2001)
- **Huang et al., 2005.** *Thymelaea hirsuta* (L.) end. Thymelaeaceae. A guide to medecinal plant in northafrica .publié par ilucn international malaga, spain

I

- **Ibrahim M A,** George R F, Abou-Sri S M, El-Moghazy S M: Synthesis of new phenolic compounds and biological evaluation as antiproliferative agents. *J.Chem. Res.* 2020;44:181-192. <https://doi.org/10.1177%2F1747519819895238>.

J

- **Jiofack Tafokou, R.B., 2010.** *Gymnema sylvestre* (Retz.) R.Br. ex Schult. In: Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l’Afrique tropicale), Wageningen, Pays-Bas

K.

- **Kamble, S. Y., Upadhye, A. S., & Mate, G. S. (2011).** *Pharmacognostic and phytochemical evaluation of Gymnema sylvestre R.Br. leaves.* *Pharmacognosy Journal*, 3(25), 32–36.

- **Kar P. P.**, Rath B., Ramani Y. R., Maharana C. S. (2019). Amelioration of Cyclophosphamide induced immunosuppression by the hydro-alcoholic extract of *Gymnema sylvestre* leaves in albino rats. *Biomed. Pharmacol. J.* 11 (1), 251–258. 10.13005/bpj/1635 – DOI
- **Karthikeyan M.**, Ahamed A. J., Karthikeyan C., Kumar P. V. (2019). Enhancement of antibacterial and anticancer properties of pure and REM doped ZnO nanoparticles synthesized using *Gymnema sylvestre* leaves extract. *SN Appl. Sci.* 1 (4), 355. 10.1007/s42452-019-0375-x - DOI
- **Keerthika, R., & al.** (2021). *Antioxidant profiling using DPPH and ABTS assays.* *Journal of Ethnopharmacology.*
- **Kumar, K. S., & Bhowmik, D.** (2010). *Traditional medicinal uses and therapeutic benefits of Gymnema sylvestre.*

L

- **Liede-schumann, S.,** Reuss, S., Meve, U., Gâteblé, G., Livshultz, T., Forster, P., Wanntorp, L. & Rodda, M. 2022. Phylogeny of Marsdenieae (Apocynaceae, Asclepiadoideae) based on chloroplast and nuclear loci, with a conspectus of the genera. *TAXON*, 71(4): 833-875. [<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/tax.12713>]

M

- **Marchica A,** Cotrozzi L, Detti R, Lorenzini G, Pellegrini E, Petersen M, Nali C: The biosynthesis of phenolic compounds is an integrated defence mechanism to prevent ozone injury in *Salvia officinalis*. *Antioxidants.* 2020;9:1274-1290. <https://doi.org/10.3390/antiox9121274>.
- **Mizushima, Y., & Kobayashi, M.** (1968). Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 20(3), 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1968.tb09718.x>

N

- **Niamassoumou M** . Etude phytomique et de l'activité antiradicalaire de *gymnema sylvestre* (RETZ.), schultz asclepiadaceae, utilisée dans le traitement traditionnel du diabète au mali .(2020).

O

- **Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001)**. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 4619 – 4626.
- **Ounjaijean S, Romyasamit C, Somsak V. (2021)**. Evaluation of Antimalarial Potential of Aqueous Crude *Gymnema Inodorum* Leaf Extract against *Plasmodium berghei* Infection in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 27:9932891.

P

- **Patel, R. P., & Patel, M. M. (2011)**. *Extraction, isolation and evaluation of antidiabetic activity of Gymnemic acid from *Gymnema sylvestre* R.Br. leaves.* **Pharmacognosy Journal**, 3(22), 41–45.
- **Patil, S. B., & al. (2021)**. *Evaluation of antioxidant activity of *Gymnema sylvestre* leaf extract.* *International Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- **Porchezian, E., & Dobriyal, R. M. (2003)**. A review on plants used in the traditional management of diabetes mellitus. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 1(2), 3-10.

R

- **Ramalingam R., Dhand C., Leung C. M., Ong S. T., Annamalai S. K., Kamruddin M., et al. (2019)**. Antimicrobial properties and biocompatibility of electrospun poly-ε-caprolactone fibrous mats containing *Gymnema sylvestre* leaf extract. *Mat. Sci. Eng.* 98, 503–514.
- **Rira, R. (2019)**. Hydrolysable and condensed tannins: a potential approach to reducing enteric methane production by ruminants in tropical environments (Doctoral

- dissertation). Doctoral School of Life and Health Sciences – Agronomy – Environment, France.

S

- **Saneja, A., Arora, S., & Kumar, A.** (2010). *Quantitative estimation and antioxidant potential of flavonoids from *Gymnema sylvestre* R.Br.* **Journal of Pharmacy Research, 3(9), 2317–2320**

- **Sangeetha, M,** Kousalya, K, Lavanya R, Cherukuru, S Chamundeeswari, D,
- UmaMaheswara, R. (2011). In-vitro Anti-inflammatory and Anti-Arthritic Activity of Leaves of CleodendronInerme. RJPBCS 2:1,822-827.
- **Sinsheimer, JE ; Manni, PE.** Constituants des feuilles de *Gymnema sylvestre* . *J. Pharm. Sci.* **1965** , *54* , 1541–1544.

V

- **Vauzour, D. (2014).** Polyphenols and neuroprotection: Where do we stand today? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 181–187.

Z

- **Zieniuk B,** Wolozynowska M, Bialecka-Floria E, Fabiszewska A: Synthesis of industriallyusefulphenolic compounds esters bymeans of biocatalystsobtainedwithwastefishoilutilization. *Sustainability*, 2020;12:5804-5832. <https://doi.org/10.3390/su12145804>.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم لعالي و البحث العلمي
جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علوم التغذية

ترخيص بالإيداع

اللقب: صحراوي
الاسم: نسالة
التخصص: التغذية والأحماض
تاريخ الإيداع: 09/07/2022
تأشير مدير المذكرة: D^r MIR HAKIMA



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم لعالي و البحث العلمي
جامعة عبد الحميد بن باديس - مستغانم

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علوم التغذية

ترخيص بالإيداع

اللقب: ولد عيسى
الاسم: حافة خلود
التخصص: التغذية والأعمال
تاريخ الإيداع: 09/07/2021
تأشيرة مدير المذكرة: Dr MIR HAKIMA

