

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Option : Bioprocédés et Technologie Alimentaire



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Composition phénolique et activité
antioxydante des extraits de feuilles d'une
plante médicinale du genre *Lycium***

Présenté par :
Azri Souhila & Belhadi Leila

Soutenu le: **21/06/2017**

Devant le jury composé de :

M ^{me} Boulekbache L.	MCA	Présidente
M ^{elle} Brahmi F.	MAA	Encadreur
M ^{elle} Mekhoukhe A.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères tout d'abord au bon DIEU pour la patience, le courage et la santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Notre profonde gratitude va à notre promotrice M^{elle} Brahmi F. Pour l'honneur qu'elle nous a fait de nous encadrer, pour ses précieux conseils, ses orientations et la confiance qu'elle a mis en nous, et pour avoir suivi notre travail avec une extrême bienveillance.

On tient également à exprimer nos sincères remerciements à :

M^{me} Boulekbache L. d'avoir accepté de présider le jury et de jurer notre travail.

M^{elle} Mekhoukhe A. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble de personnels de laboratoire 3BS.

En fin nous tenons à remercier tous nos amis(e), collègues et famille pour leurs soutiens tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Merci à vous tous.

Dédicaces

Je dédié ce modeste travail :

A mes chers et précieux parents, je vous remercie énormément pour votre encouragement et soutien, merci d'être toujours là pour moi, vous m'avez donné un bon modèle de labeur et de persévérance, de tendresse, d'amour et de force. Je suis fière de vous avoir comme parents.

A mes très chers adorables frères : Hachemi et Yassine

A mes oncles et leurs familles

A mes tantes et leurs familles

A mes très chers cousins et cousines

A mes deux grandes mères maternelles et paternelle

A la mémoire de mes deux grands-pères maternels et paternels

A toutes mes copines et amies

A mes collègues de la promotion Master 2 BTA

A ma binôme Souhila et sa famille

A tout ceux qui nous sont chers

Leila

Dédicaces

Je dédie de plus profond de mon cœur ce manuscrit :

A ma chère mère qui a toujours été là pour moi, je la remercie pour son encouragement et son soutien, que dieu l'accorde une longue vie.

A la mémoire de mon père.

A mes frères : Azzedine, Farouk et Abdelhak.

A mes sœurs : Nadia, Samira, Smina et Hassiba.

A mes très chères amies surtout : Sylia, Hanane, Akila et Kahina.

A ma chère binôme et amie Leïla et toute sa famille.

A toutes ma promotion BTA 2017

A tout ceux qui nous sont chers

Souhila

Liste des abréviations

BSA : Sérum Albumine Bovine

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent Acide Gallique

EAT : Equivalent Acide Tanique

EthOH : éthanol

EQ : Equivalent de Quercétine

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

MS : Matière sèche

MethOH : méthanol

PMf : Poids de matière fraîche

PMs : Poids de matière sèche

R : Ramification

SDS:Sodium Dodécyl Sulfate

TEA:Tri Ethanol Amine

T_H:Tanins hydrolysable

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique d'un tanin hydrolysable.....	6
Figure 2 : Photographies des arbustes de <i>Lycium</i>	11
Figure 3 : Photographies de la tige épineuse, feuilles et fleurs du genre <i>Lycium</i>	12
Figure 4 : Carte de distribution du genre <i>Lycium</i>	12
Figure 5 : Réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes.....	16
Figure 6 : Réduction du radical DPPH [•]	18
Figure 7 : Rendement d'extraction des différents solvants des feuilles de <i>Lycium</i>	20
Figure 8 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de feuilles de <i>Lycium</i> sp.	22
Figure 9 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de <i>Lycium</i> sp.	24
Figure 10 : Teneurs en tanins des extraits de feuilles de <i>Lycium</i> sp.	26
Figure 11 : Effet de la concentration des extraits sur l'activité antiradicalaire DPPH [•]	27
Figure 12 : Effet de la concentration des extraits sur l'activité de phosphomolybdate.	29

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques.....	3
Tableau II: Structures chimiques de quelques acides benzoïques.....	4
Tableau III : Structures chimiques des acides cinnamiques	5
Tableau IV : Structures chimiques des acides cinnamiques.....	5
Tableau V : Structure chimique des principaux monomères de tanins condensés	7
Tableau VI : Activités biologiques de quelques poly phénols dans l'organisme.....	9
TableauVII : Résultat aux DPPH [•] et phosphomolybdate	30
TableauVIII : Coefficients de corrélation entre les teneurs en composés phénolique et les activités antioxydantes	31

Remerciements
Dédicaces
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

Sommaire

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les composés phénoliques	3
I.1.1. Classification des composés phénoliques	3
I.1.1.1. Formes les plus simples	3
▪ Acides phénoliques et leurs dérivés phénol	4
▪ Flavonoïdes	5
I.1.1.2. Formes condensée	5
▪ Tanins	6
▪ Lignines	7
I.1.2. Activités biologiques des polyphénols.....	7
I.1.2.1. Chez les végétaux	7
I.1.2.2. Chez l'Homme	8
I.2. Antioxydants	9
I.2.1. Mesure de l'activité antioxydante	10
I.3. Généralités sur <i>Lycium</i>	10
I.3.1. Classification du genre <i>Lycium</i>	11
I.3.2. Caractéristiques du genre <i>Lycium</i>	11
I.3.3. Distribution du genre <i>Lycium</i>	12
I.3.4. Propriétés du genre <i>Lycium</i>	13
I.3.4.1. Les propriétés thérapeutiques du genre <i>Lycium</i>	13

Partie pratique

I. Matériel et méthodes.....	15
I.1. Récolte et traitement des échantillons	15
I.2. Test d'humidité	15
I.3. Procédés d'extraction	16
I.4. Dosage des composés phénoliques	16

I.4.1 Dosage des polyphénols totaux	16
I.4.2 Dosage des flavonoïdes	16
I.4.3 Dosage des tanins	17
I.5. Etude de l'activité antioxydante	18
I.5.1 Test au DPPH'	18
I.5.2 Test au phosphomolybdate d'ammonium	19
I.6. Etude statistique	19
II. Résultats et discussion	20
II.1. Humidité et séchage des échantillons	20
II.2. Rendement d'extraction.....	20
II.3. Dosage des composés phénoliques	22
II.3.1 Dosage des polyphénols totaux	22
II.3.2 Dosage des flavonoïdes	24
II.3.3 Dosage des tanins	26
II.4. Activités antioxydantes	27
II.4.1 Test au DPPH'	27
II.4.2 Test au phosphomolybdate d'ammonium	29
II.5. Etude de la corrélation entre les composés phénoliques et les activités antioxydantes ...	31
II.5.1 Corrélation entre les composés phénoliques et le test au DPPH'	31
II.5.2 Corrélation entre les composés phénoliques et le test au phosphomolybdate	31
Conclusion.....	33

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

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**). Les espèces du genre *Lycium* (Solanacées) sont bien connues en médecine traditionnelle et comme aliments fonctionnels (**Boulila et al., 2015**). Certaines études ont indiqué que les extraits de quelques espèces de ce genre possèdent une gamme d'activités biologiques, y compris les effets sur les maladies liées à l'âge, la régulation de taux de glucose chez les diabétiques, et ils sont dotés de propriétés antioxydantes et antitumorales (**Chen et al., 2008 ; Potterat et al., 2010**).

Ce genre a été identifié grâce à sa richesse en polysaccharides, protéines et polyphénols, qui sont responsables de beaucoup de leurs effets thérapeutiques (**Fukuda et al., 2001**). Une meilleure connaissance de la composition chimique et des activités biologiques de ces plantes peut contribuer à leurs utilisations comme source naturelle de substances phytochimiques aussi bien qu'à l'avancement agronomique et économique.

Les propriétés antioxydantes des principes actifs des extraits provenant de diverses sources végétales continuent à avoir un très grand intérêt comme supplément en médecine complémentaire. La plupart de ces extraits contiennent des polyphénols qui sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (**Mohammedi, 2013**).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et de la valorisation des substances bioactives telles que les substances naturelles douées d'activité antioxydante qui présentent un intérêt dans le domaine de la bio pharmacologie. Nous nous sommes intéressées à l'étude de la composition phénolique des feuilles d'une espèce du genre *Lycium*.

Les composés phénoliques peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par extraction avec des solvants organiques (**Vermeir et Nicholson, 2006**). Cependant, la procédure d'extraction est influencée par plusieurs paramètres tels que : la nature chimique de ces composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon, le temps d'extraction et la nature de solvant (**Nazck et Shahidi, 2004**). En outre, chaque matériel végétal a ses propriétés uniques en termes d'extraction de ces composés.

Par conséquent, l'objectif principal de ce travail est de choisir le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques des feuilles de *Lycium* sp. Quatre types de solvants connus

pour leur efficacité dans l'extraction des polyphénols sont utilisés. Il s'agit du méthanol, d'éthanol, d'acétone et de leurs mélanges à différentes proportions avec de l'eau (100, 70 et 30%, v/v) ainsi que d'eau.

Le choix s'est fixé en se basant sur (i) la quantification des certaines importantes classes de composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins) et (ii) sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante en utilisant deux techniques complémentaires qui sont la méthode de piégeage du radical libre DPPH[•] et le test au phosphomolybdate.

Dans ce contexte nous avons essayé de réaliser un travail qui comprend trois parties. La première est une étude bibliographique qui renferme une description de la plante étudiée et des informations sur les métabolites secondaires et l'activité antioxydante. La deuxième partie est expérimentale, consacrée à la présentation des travaux personnels, comporte : extraction des polyphénols par des solvants organiques ; détermination d'activité antioxydante par les méthodes de DPPH[•] et de phosphomolybdate. La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leur discussion et enfin un aperçu sur les résultats pertinents obtenus est donné en conclusion.

*Synthèse
bibliographique*

I. 1. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques correspondent à une très large gamme de structures chimiques. Ils sont utilisés par l'Homme dans des domaines aussi variés que l'agroalimentaire ou la pharmacologie (Macheix, 1990). Ils peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Harborne, 1989 ; Macheix et al., 1990) (Tableau I) quise différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C_6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...), enfin par des liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines).

Tableau 1 : Principales classes de composés phénoliques (Harbrones, 1989 ; Macheix et al., 1990).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C_6	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
$C_6 - C_1$	Acide hydroxy benzoïques	<i>p</i> -hydroxy benzoïques	Epices, fraise
$C_6 - C_3$	Acide hydroxy cinnamique coumarines	Acidecaféique scopoléitine	Pomme de terre, pomme, citron
$C_6 - C_4$	Naphtoquinones	juglone	Noix
$C_6 - C_2 - C_6$	Stilbènes	Resvératroles	Vigne
$C_6 - C_3 - C_6$	Flavonoïdes, Iso flavonoïdes	Quercétine, Cyanidine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs, soja, pois
$(C_6 - C_3)_2$	Lignanés	pinorésinol	Pin
$(C_6 - C_3)_n$	Lignines		Bois, fruits à noyaux
$(C_6 - C_3 - C_6)_n$	Tanins condensés		Raisin

I. 1.1. Classification des composés phénoliques

I. 1.1.1. Formes les plus simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol C_6 (ne sont pas présentes naturellement chez les plantes), aux flavonoïdes en C_{15} et à des molécules proches. Sans exceptions, ces substances sont présentes sous formes solubles dans les vacuoles (Farga, 2010).

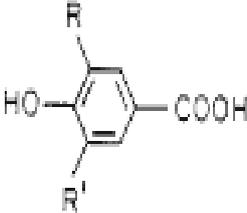
▪ **Acides phénoliques et leurs dérivésphénols**

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont généralement présents sous forme liée et sont généralement des composants de structures complexes comme les lignines et les tanins hydrolysables (Farga,2010).

✓ **Acideshydroxybenzoïques**

Les acide hydroxybenzoïque ont une structure de(C₆-C₁) provenant directement de l'acide benzoïque (Tableau II). Les structures des acides hydroxybenzoïquevarient selon les hydroxylations et les méthylations sur le cycle phénoliquearomatique, (Thomàs-Babernet al.,2000). Ils peuvent être présents sous forme soluble, conjugués avec des sucres ou des acides organiques ainsi liés à des fractions de la paroi cellulaire(Hakinnen,2000).

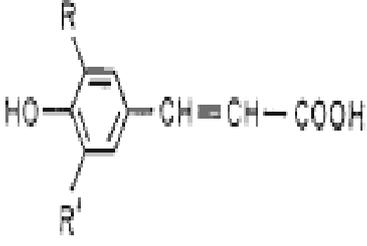
Tableau II : Structures chimiques de quelques acides benzoïques (Spanos et al., 1992).

Structure	Acide benzoïque	R	R'
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	H	H
	Acide protocatéchique	O	H
	Acide vanillique	OCH ₃	H
	Acide gallique	OCH ₃	OH

✓ **Acideshydroxycinnamiques**

Ils représentent uneclasse très importante dont la structure de base est de type (C₆-C₃).Ils ont une structure très variée (Tableau III) comme les acidescaféïques, féruliques et sinapiques (Bruneton,1999).Ils s'accumulent souvent sous forme d'estertartrique, d'acidescoutariques,et fertariquesrespectivement(Fraga,2010). Ces acides peuvent êtremodifiés, ou combinés avec des sucres : ester de glucose qui est le cas le plus fréquent(Bruneton,1999).

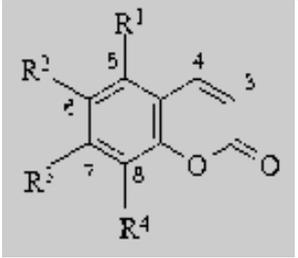
Tableau III : Structures chimiques des acides cinnamiques(Hakinnen, 2000 ;Spanos et al.,1992).

Structure	Acides cinnamiques	R	R'
	Acide <i>p</i> -coumarique	H	H
	Acide caféique	OH	H
	Acide férulique	OCH ₃	H
	Acide sinapique	OCH ₃	OCH ₃

✓ Coumarines

Les coumarines dérivent des acides cinnamiques ortho-hydroxylés, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide α -coumarique(Tableau IV)(Ribéreau-Gayon, 1968).

Tableau IV :Structures chimiques de quelques coumarines (Hakinnen, 2000 ;Spanos et al.,1992).

Structure	Coumarines	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
	Scopolétine	H	OCH ₃	OH	H
	fraxétine	H	OCH ₃	OH	OH

▪ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette à quinze atomes de carbone ($C_6 - C_3 - C_6$),correspondant à la structure du diphénylpropane(Santos-Buelga et Salbert,2000).Les flavonoïdes sont subdivisés en plusieurs classes dont les isoflavones, les flavonols,les flavones, les(prényl)chalcones et lesdihydrohalones ainsi que les anthocyanines /anthocyanidines(Santos-Buelga et Salbert,2000).

I. 1.1.2. Forme condensée

Ces composés généralementrésultent de la condensation de certaines formes simples. Dans tous les cas, les formes condensées sont particulièrement difficilesàétudier.

▪ **Tanins**

Les tanins sont des substances d'origine organique retrouvées dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.). Ils sont caractérisés par leur propriété de former des complexes avec les protéines et d'autres polymères tels que les polysaccharides. Les tanins sont considérés comme des composés phénoliques solubles dans l'eau, possédant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da (Ribereau-Gayon et al., 1982 ; Simon, 2003). Ils sont subdivisés en :

✓ **Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables (T_H) sont des esters d'acide phénolique (acide gallique ou ellagique) associés à un polyol (habituellement le glucose) (Figure 1) (Clifford, 2000).

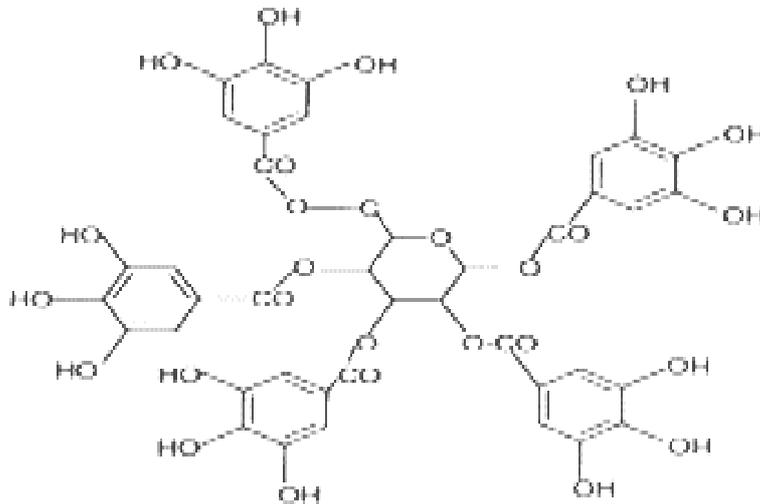


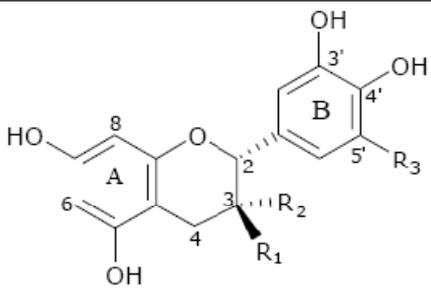
Figure 1 : Structure chimique d'un tanin hydrolysable (Pentagalloyle glucose) (Bennick, 2002).

✓ **Tanins condensés**

Leur structure complexe est formée d'unité répétitive monomérique (Tableau V) qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation et leur nombre de substituant galloylés. Parmi ces tanins condensés, deux classes sont distinguées : les procyanidines qui sont des polymères d'unité catéchine ou épicatechine, et les prodelphinidines qui elles sont constituées d'unité gallocatéchine et épigallocatéchine (Perret, 2001 ; Jourdes, 2003).

Dans chaque famille, le groupement hydroxyle en position 3 du cycle C peut être estérifié par l'acide gallique. La dénomination de ces deux familles provient de leur capacité à libérer en milieu acide à hautes températures les anthocyanidines correspondantes (Cheynier et al., 1998).

Tableau V: Structure chimique des principaux monomères de tanins condensés (Jourdes, 2003 ; Vivaset al., 2005).

Structure	Flavanoles	R ₁	R ₂	R ₃
	Catéchine	OH	H	H
	Epicatéchine	H	OH	H
	Gallocatechine	OH	H	OH
	Epigallocatechine	H	OH	OH

▪ Lignines

Les lignines sont des polymères phénoliques c'est le deuxième polymère abondant sur terre après la cellulose. Elles jouent un rôle important dans la formation d'une structure d'appui aux végétaux. Leur complexité chimique et leur structure irrégulière rendent les lignines extrêmement appropriées comme barrière physique contre les insectes et les mycètes (Ribéreau-Gayon, 1968).

I. 1.2. Activités biologiques des polyphénols

I. 1.2.1. Chez les végétaux

Ces métabolites sont doués de plusieurs rôles au sein de la plante, dont les plus importants sont :

- **La lutte contre les agents pathogènes**

Des recherches ont démontré que la teneur en polyphénols s'accroît si la plante est agressée par des bactéries, champignons, ou autre comme les rayons UV et élévation de la température (Mohammedi, 2005 ; Piquemal, 2008).

- **L'astringence et le goût**

L'astringence, qui constitue une part essentielle de la saveur dans les produits alimentaires tels que le café, le cacao, le vin ou certains fruits se traduit par un ensemble de sensation comprenant le dessèchement de la bouche. Cette propriété est associée aux tanins condensés

et aux paranthocyanidines, qui contribuent aussi à l'amertume (Guggenbuhl, 2003 ; Mohammedi, 2005).

- **La couleur de la plante**

Parmi les anthocyanidines, le groupe le plus connu est celui des anthocyanines, qui sont des pigments solubles dans l'eau, responsable de la couleur rouge, bleu et violette des fruits, légumes, fleurs et autres tissus végétaux (Mazza et al., 2004).

- **L'attraction et la pollinisation**

Les polyphénols et les flavonoïdes interagissent dans le phénomène d'attraction, la couleur de la plante est considérée comme un signal visuel insectes pollinisateurs (Marfak, 2003 ; Mohammedi, 2005). Dans certains cas, les flavonoïdes servent pour éloigner les prédateurs. Ils existent même des flavonoïdes qui sont toxiques pour certains insectes néfastes pour la plante (Marfak, 2003 ; Mohammedi, 2005).

I. 1.2.2. Chez l'Homme

Les études expérimentales *in vitro* ont indiqué une large variété d'activités biologiques (Tableau VI) (Xiao et al., 2007), attribuées aux polyphénols dans notre organisme, qui dépendent de la quantité consommée et la disponibilité biologique (Manach et al., 2004).

Tableau VI: Activités biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme.

Poly phénols	Activités biologiques	Références
Flavonoïdes	Anti tumorale, Antiparasitaire, Vaso-dilatatoire, Antibactérienne, Anti-carcinogène, Anti inflammatoire Analgésique, Hypotenseur, Antivirale, Diurétique, Antioxydant, Anti-thermogénique, Anti-thrombotique, anti-allergique.	-Wallgast,2000 -Hitara et al., 2009 -Tripoli et al.,2007 -Schon et al.,2004
Acides phénoliques (cinnamique et benzoïque)	Antibactériennes, Antiulcéreuses, Antiparasitaires Antifongiques, Antioxydantes.	-Gyrbuzi et al.,2009
Anthocyanes	Protection des capillaires et des veines, Antioxydants.	-Bruneton,1999
Tanins gallique et catéchique	Antioxydants	-Gyrbuzi et al.,2009

I.2. Antioxydants

L'oxydation est une des plus importantes manifestations à l'origine des détériorations des produits alimentaires et des cosmétiques (**Berset et Cuvelier, 2005**). Les dégradations oxydatives affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles des aliments et peuvent avoir des conséquences sur la santé du consommateur (**Velioglu et al., 1998**).

Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules. Il existe deux catégories de base d'antioxydants, d'origine naturelle et synthétique

(Sanchez et al., 2010). Les antioxydants naturels peuvent être des composés phénoliques (flavonoïdes et acides phénoliques), des composés azotés (alcaloïdes), des caroténoïdes ou des vitamines comme l'acide ascorbique. Alors que les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) ont été utilisés en tant qu'antioxydant depuis le début de ce siècle (Meddour et al., 2013).

À faible dose, les radicaux libres ne sont pas délétères puisqu'ils nous aident à lutter contre les virus et les microbes. En revanche, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme, les antioxydants interviennent pour les empêcher de nuire (Pincemail et al., 2002).

Un antioxydant est une molécule assez stable pour faire don d'un électron à un radical libre déchainé et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité à endommager. Ces antioxydants retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement par leurs propriétés de piégeage des radicaux libres. Certains de ces antioxydants, y compris le glutathion, l'ubiquinol et l'acide urique, sont produits au cours du métabolisme normal dans le corps (Popovici et al., 2009).

I.2.1. Mesure de l'activité antioxydante

De nombreuses méthodes de mesure du pouvoir antioxydant ont été mises au point ces dernières années. Il existe les mesures faites sur des matrices vivantes (mesure *in vivo*) et sur des matrices alimentaires (*in vitro*). Lors des mesures *in vitro*, l'activité antioxydante est évaluée en mesurant l'inhibition de l'oxydation d'un substrat déterminé. Le substrat est d'abord oxydé dans des conditions standard, puis l'étendue de l'oxydation à un point final est mesurée. De nombreuses méthodes ont été développées combinant des substrats, des initiations et des points finaux de mesure différents (Davalos et al., 2003) (Tsao et al., 2005).

La capacité antioxydante peut également être évaluée comme le potentiel à piéger des radicaux libres, en mesurant directement l'inhibition du radical lors de l'ajout du composé antioxydant. Ces tests utilisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), radical coloré stable, ou l'acide 2,2'-azino-bis-(ethylbenzthialozine-6-sulfonique) (ABTS⁺), dont le radical coloré peut être généré par réaction enzymatique (Rice-Evans et al., 1996).

I.3. Généralités sur *Lycium*

Le lyciet (*Lycium*) est un genre de plante de la famille des Solanacées. Il comporte 70 espèces d'arbustes épineux et de petits arbres (Figure 2). La plupart poussent dans les régions arides ou subarides et quelques-uns dans les régions côtières sur des sols

salés (Fukuda et al., 2001). Il est parfois appelé **couronne du Christ** ou **jasmin bâtard**. En arabe, il est appelé عوسج et en kabyle **ashoundjele** ([http : www. wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)).



Figure 2 : Photographies des arbustes de *Lycium* ([http: www. google image.com](http://www.google.com)).

I. 3.1. Classification du genre *Lycium*

Selon Cronquist (1981), le genre *Lycium* est classé comme suit :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae

I.3.2. Caractéristiques du genre *Lycium*

Le genre *Lycium* regroupe une centaine d'espèces herbacées et sarmenteuses, arbustes épineux et arbrisseaux. Leurs feuilles sont simples, alternes ou groupées, et courtement pétiolées. Le calice, plus petit que la corolle, comporte un tube relativement étroit qui se termine par cinq lobes étalés, en forme en cloche. Les fleurs sont petites, pourpres, violacées ou blanchâtres, isolées ou axillaires (Figure 3). Les cinq étamines sont fendues longitudinalement, de longueurs inégales, à anthères non conniventes. Le fruit est une baie globuleuse et charnue de couleur rouge à rouge-orangé, voire pourpre à maturité. Toutes les

espèces du genre *Lycium* peuvent être retrouvées dans les haies mais également comme plantes ornementales (Bonnier, 1990 ; Delaveau, 2003 ; Botineau, 2010 ; Maitre, 2011).



Figure 3: Photographies de la tige épineuse, feuilles et fleurs du genre *Lycium* ([http : www. google image.com](http://www.google.com)).

I.3.3. Distribution du genre *Lycium*

Le genre *Lycium* est probablement apparu dans le nouveau monde, y a 29,4 millions d'années, puis s'est dispersé vers l'Afrique méridionale et de là vers l'Eurasie et l'Australie. Les espèces de ce genre sont distribuées dans des régions tempérées et subtropicales (Figure 4). En Amérique du Nord et du Sud 20 et 30 espèces sont identifiées respectivement, en Afrique méridionale, 20 espèces sont répertoriées. Le nombre d'espèces qui se trouvent en Eurasie (de l'Europe à la Chine et au Japon) est de 10, et il est seulement de deux et d'un en îles du Pacifique et en Australie respectivement (Fukuda et al., 2001 ; Amagase et al., 2011).

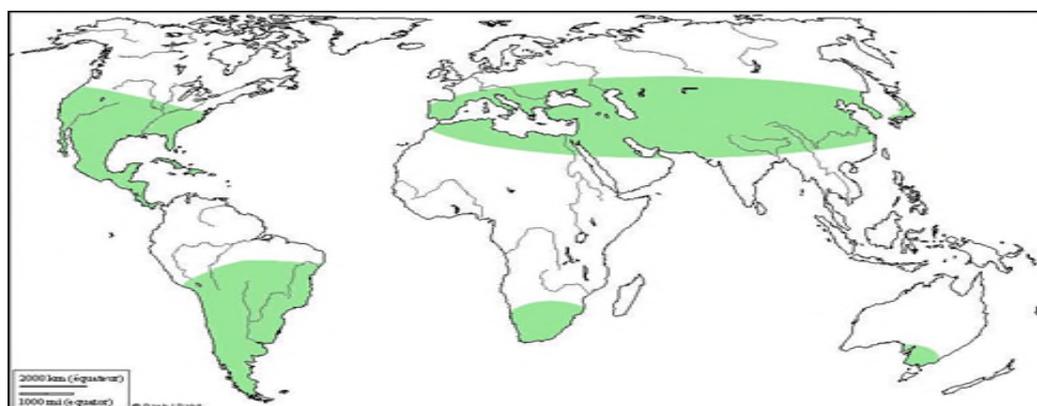


Figure 4: Carte de distribution du genre *Lycium* (Fukuda et al., 2001)

I.3.4. Propriétés du genre *Lycium*

Les jeunes pousses des espèces du genre *Lycium* sont parfois consommées comme asperges. Les feuilles peuvent être utilisées comme salade ou comme succédané du thé. La présence, dans la plante, d'alcaloïdes dont l'atropine est contestée. En revanche, elles contiennent des quantités notables de bétaines, structures proches de celle des alcaloïdes mais qui ne semblent pas poser de problèmes d'intoxication. Les données de la littérature les concernant sont très rares. L'ingestion de quelques baies (jusqu'à 5) n'entraînerait que de légers troubles digestifs, mais il semble plus prudent de considérer le fruit de ces plantes comme toxique à haute dose (plus de 10-15 baies) (Fukuda et al., 2001).

I. 3.1. Propriétés thérapeutiques du genre *Lycium*

- **Inhibition la croissance des cellules cancéreuses**

Accroît la sensibilité à la radiothérapie et renforce le système immunitaire de patients cancéreux et inhibe la croissance de cellules humaines de Leucémie et la prolifération cellulaire donc stimule l'apoptose médié par la P53 dans les cellules de Carcinome hépatocellulaire (Leroux, 2014). Une autre étude a examiné les effets d'un extrait de *Lycium* sur la prolifération cellulaire et l'apoptose de cellules de carcinome hépatocellulaire de rats et/ou d'humains. Les résultats ont montré que l'extrait de *Lycium* a inhibé la prolifération cellulaire et a stimulé l'apoptose médié par la P53 dans ces cellules (Chao, 2006).

- **Renforcement du système immunitaire**

Les glycopeptides de *Lycium* peuvent avoir un effet stimulant sur le système immunitaire en augmentant la réponse immunitaire. Ils favorisent notamment la fabrication et l'activation des lymphocytes T et des cellules naturel killer ainsi que la sécrétion, la prolifération et la différenciation des cytokines. En outre, les polysaccharides renforcent l'immunité par leurs effets antioxydants. Les propriétés d'immuno modulation présentées par le Goji nous mènent directement à un autre bienfait de ce fruit : son action contre le cancer (Amagase et al., 2011).

- **Effets régulateurs du diabète de type 2, hypolipémiant et antihypertenseur**

Des tests ont été faits sur des animaux ayant un diabète de type II, Leur alimentation était complétée avec des polysaccharides de *Lycium*. Après 3 semaines, les animaux avaient perdu du poids, le niveau de cholestérol avait baissé, ainsi que celui des triglycérides

et d'insuline. Les chercheurs en ont déduit que les polysaccharides du *Lycium* pourraient améliorer l'insulinorésistance(Wu, 2006).

▪ **Effet neuroprotecteur dans les maladies neurodégénératives**

Le peptide bêta-amyloïde (β -a) est néfaste pour le système nerveux. Par la formation de plaques, à l'origine de la maladie d'Alzheimer. L'effet neuroprotecteur des polysaccharides qui peuvent protéger les cellules neuronales contre la toxicité du β -a et contre l'apoptose. La toxicité du β -a par Le stress oxydatif, expliquent ce rôle neuroprotecteur(Yu, 2005).

▪ **Effet protecteur de la vision, contre le glaucome, la dégénérescence maculaire et la cataracte**

Les glycopeptides jouent un rôle protecteur des cellules ganglionnaires de la rétine. Donc permet de diminuer la perte des fibres nerveuses en cas d'hypertension oculaire, puisqu'elle protégerait les fibres saines avoisinantes par la neutralisation des composés neurotoxiques (glutamate, oxyde nitrique) excrétés lors de la destruction de ces fibres. Certains caroténoïdes qui présentent en quantité Importante dans la baie de Goji, comme la lutéine et la zéaxanthine constituent une source directe de nutriments et d'antioxydants pour les yeux et les protègent(Leroux,2014).

Partie
Pratique

I. Matériels et Méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Récolte et traitement des feuilles

Les feuilles de *Lycium* utilisées proviennent de la région de Smaoune de la willaya de Bejaia et ils ont été récoltés le mois de février 2017. Après avoir bien nettoyé avec de l'eau, nous avons procédé au séchage dans une étuve à une température de 40°C, jusqu'à stabilisation du poids. Après séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention des particules très fines. La poudre obtenue a été conservée dans un sachet en papier et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à extraction.

I.2. Test de l'humidité

Pour établir la teneur en eau des feuilles vertes, nous avons séchés des échantillons de 10 grammes dans une étuve à 105 °C pendant 4 heures (Brahmi et al., 2012). Le pourcentage d'humidité est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{\text{PMf} - \text{PMs}}{\text{PMf}} \times 100$$

PMf : Poids de la matière fraîche

PMs : Poids de la matière sèche

I.3. Procédé d'extraction

Le protocole suivi est celui de Szydłowska-Czerniak et al. (2012) et l'extraction a été réalisée en utilisant l'acétone, l'éthanol, le méthanol, à des polarités différentes (100 %, 70%, 30%) ainsi que de l'eau. Le matériel végétal (2g) est mis dans 20 mL de chaque solvant et la macération sous agitation est effectuée sur plaque agitatrice pendant 20 minutes à température ambiante. Ce procédé est réalisé trois fois, puis les extraits obtenus ont été combinés, après centrifugation (4500 tours/min) pendant 15 minutes et filtration avec du papier filtre standard. Ensuite, les filtrats obtenus ont été soumis à l'évaporation à 40 °C et les extraits secs ont été reconstitués avec les solvants utilisés pour l'extraction et conservés dans des flacons à 4 °C pour empêcher l'action des polyphénols oxydases qui dégradent les composés phénoliques.

Le taux d'extraction est déterminé en utilisant la formule suivante :

Taux d'extraction (%) = (poids du bécher après extraction – poids du bécher vide) / poids de l'échantillon * 100

I.4. Dosage des composés phénoliques

I.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est fait selon la méthode rapportée par **Dorman et al. (2003)**. Dans cette méthode, le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (**Ribereau-Gayon et al., 1982**).

Un volume de 100 μ L de chaque extrait est ajouté à 6mL d'eau distillée dans des tubes à essai. Ensuite, 500 μ L et 1500 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu et de mono-carbonate de sodium (20%) sont ajoutés respectivement et le tout est bien mélangé. A la fin, le volume est complété avec l'eau distillée jusqu'à 10 mL et la préparation est laissée incuber pendant 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, puis l'absorbance a été mesurée contre un témoin à 740nm.

Les concentrations en composés phénoliques sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique et sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par g de matière sèche (mg EAG/g MS).

I.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) citée par **Djeridane et al. (2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes, cette méthode spectrophotométrique est basée sur la capacité des flavonoïdes à se complexer avec le chlorure d'aluminium (Figure 5). L'aluminium perd deux électrons et s'unit à deux atomes d'oxygène du composé phénolique qui est dans ce cas donneur d'électrons (**Ribereau-Gayon, 1968**).

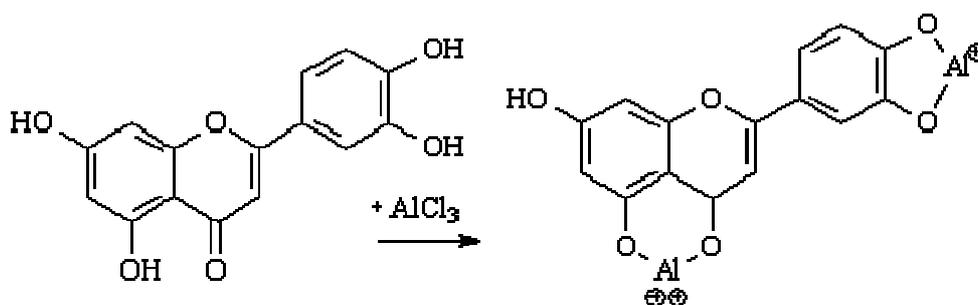


Figure 5:Réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes ([http : www. google image.com](http://www.google.com)).

A température ambiante, 1mL d'extrait est mélangé avec 1mL d'une solution de chlorure d'aluminium (2%). Une coloration jaune est observée immédiatement après l'ajout de la solution d'AlCl₃. Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 410nm contre un témoin.

Les résultats sont rapportés à une gamme d'étalonnage de quercétine, et exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

I.4.3. Dosage des tanins

Le dosage des tanins totaux est basé sur la formation d'un complexe tanins-protéines ; la détermination de la teneur en tanins précipités repose sur la précipitation de la protéine (sérum albumine bovine (BSA)) par les tanins (**Hagerman et butler, 1978 ; hagerman et butler, 1989**).

0,5 mL d'extrait est mélangé avec 1 mL de la solution de BSA, préparée dans un tampon acétate (pH 4,9 ; 0,20M). Le mélange est incubé à 4°C pendant 24h. Après une centrifugation à 14000 tr/min pendant 15 minutes, le surnageant a été écarté et le précipité a été dissout dans 2 mL de SDS/TEA. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 15 minutes, un volume de 0,5 mL de FeCl₃ a été ajouté, et le mélange agité vigoureusement par vortex, Puis l'absorbance a été mesurée à 510 nm contre un témoin et les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide tannique par un gramme d'échantillon (mg EAT/g MS).

I.5. Etude de l'activité antioxydante

I.5.1. Test au DPPH'

Le test du pouvoir anti radicalaire est réalisé selon la méthode utilisée par **Brahmi et al. (2015)**. L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH' (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), de formule brute C₁₈H₁₂N₅O₆. Le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert du radical H sur le DPPH' (violet) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPH-H (jaune) (Figure 6) ; la réduction du DPPH' en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH', mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (**Popovici et al., 2009**).

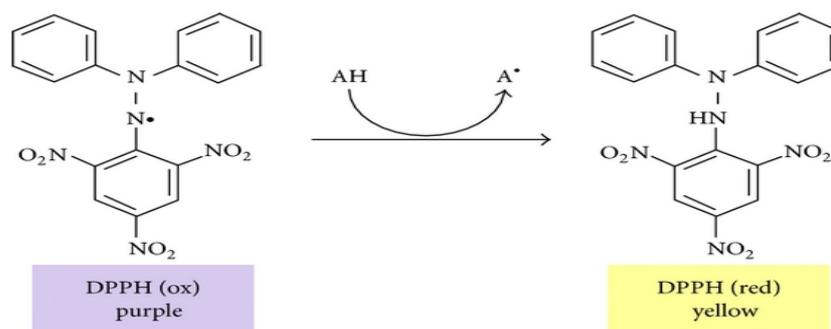


Figure 6 : Réduction du radical DPPH[•]([http : www. google image.com](http://www.google.com)).

La solution de DPPH[•] est préparée à la concentration de 10^{-3} M, 2mL de chaque extrait à différentes concentrations sont mélangés avec 150 μ L de la solution de DPPH[•] et le mélange est incubé pendant une heure à l'obscurité. La lecture se fait au spectrophotomètre à 517nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

La capacité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] (Annexe II) suivant l'équation :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}}{A \text{ contrôle}} \times 100$$

- **A contrôle** : correspond à l'absorbance du contrôle
- **A échantillon** : correspond à l'absorbance de l'échantillon

La concentration des extraits inhibant 50% du radical DPPH[•](IC₅₀) est déterminée pour une éventuelle comparaison entre les différents extraits.

I.5.2 Test au phosphomolybdate d'ammonium

Le test au phosphomolybdate a été estimé selon la méthode de rapportée par **Brahmi et al. (2012)**. Ce procédé est une méthode spectroscopique pour la détermination quantitative de la capacité antioxydante par la formation d'un complexe de phosphomolybdène. Le dosage est basé sur la réduction de Mo^{+6} en Mo^{+5} par l'analyse de l'échantillon et la formation subséquente d'un complexe vert phosphate- Mo^{+5} à pH acide ((**Nur Alam et al., 2013**)).

Un volume de 0,2 mL de l'échantillon est combiné avec 2 mL de réactif de molybdate (acide sulfurique à 0,6 M, sodium phosphate à 28 mM, et molybdate d'ammonium à 4 mM). Les tubes sont incubés dans un bain Marie à 90°C pendant 90 minutes. Après refroidissement de l'échantillon à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (Annexe II).

I.6. Etude statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne de trois essais \pm l'écart type. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA/MANOVA suivi du test LSD (comparaison planifiée). Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de $P \leq 0,05$.

II. Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Humidité et séchage des échantillons

Le séchage a une importance majeure pour l'extraction des polyphénols, car les cellules végétales contiennent différents types d'enzymes, susceptibles de provoquer des modifications des composés phénoliques contenus dans le matériel végétal, en particulier des polyphénols-oxydases et des glucosidases. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide du matériel végétal, aussitôt après sa récolte (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

Les résultats du test d'humidité montrent que les feuilles de *Lycium* étudié possèdent un taux faible d'humidité ($14,5 \pm 5,6\%$). Ce paramètre a une grande importance pour l'extraction des polyphénols, car sa présence est un élément gênant du rendement de l'extraction.

Le test d'humidité a une grande importance pour l'extraction des composés phénoliques, car la présence d'eau est un élément gênant du rendement de l'extraction. En effet, c'est une source de dégradation des polyphénols par oxydation (**Cork, 1991**).

II.2. Rendement d'extraction

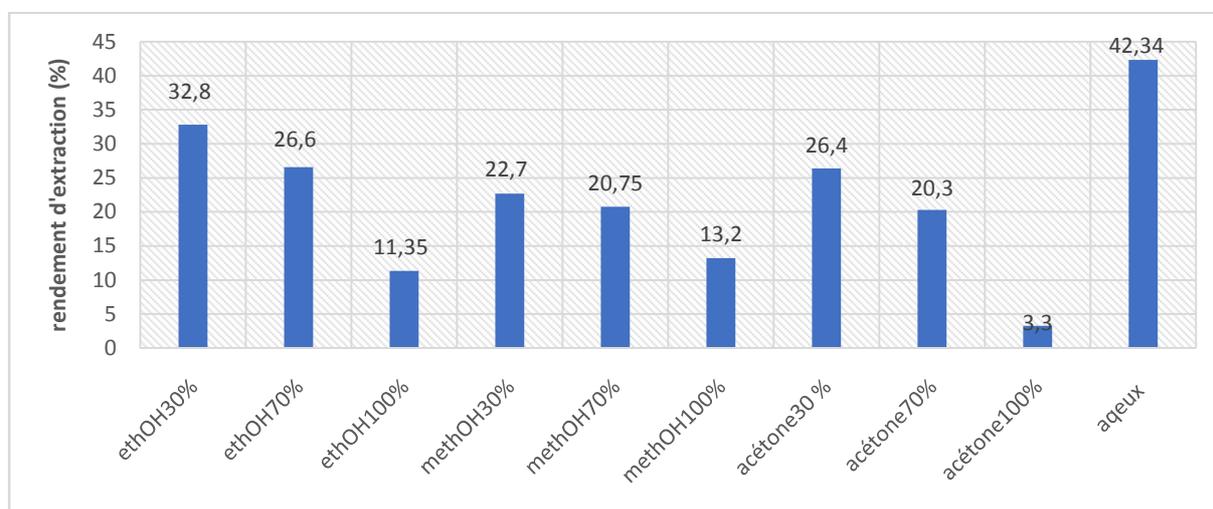


Figure 7 : Rendement d'extraction des différents solvants des feuilles de *Lycium*

En raison de son efficacité et de sa facilité de mise en œuvre, l'extraction solide-liquide est la technique la plus utilisée pour la récupération de molécules bioactives à partir de source végétale (**Leybros et Frémeaux, 1990**). D'après **Sun et Ho (2005)**, dans cette technique d'extraction, le méthanol, l'éthanol, l'acétone seuls ou mélangés avec de l'eau ainsi

l'eau sont les solvants généralement les plus utilisés pour extraire de diverses substances à partir de la matière végétale.

L'efficacité d'extraction est quantitativement liée au rendement d'extraction de l'échantillon (**López et al., 2011**). Ce dernier dépend de plusieurs facteurs tels que le type de solvant ainsi que sa polarité, la méthode d'extraction, le pH, le temps d'extraction, la température, aussi bien que la composition chimique de l'échantillon (**Goli et al., 2004**). Dans les mêmes conditions du temps, du pH et de la température, la composition chimique ainsi que les propriétés de solvants sont les deux facteurs les plus importants (**López et al., 2011**).

La méthode d'extraction menée à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable qui peut être induite par une température élevée lors d'extraction (**Lee et al., 2003**).

Les rendements d'extraction de ces échantillons varient d'un solvant à un autre avec un ordre décroissant suivant : extrait aqueux > extrait éthanolique à 30% > extrait éthanolique à 70% > extrait acétonique à 30% > extrait méthanolique à 30% > extrait méthanolique à 70% > extrait acétonique à 70% > extrait méthanolique à 100% > extrait éthanolique à 100% > extrait acétonique à 100% (figure 7).

Nous constatons que le rendement d'extraction dépend de la nature du solvant utilisé. Ce sont les solvants hydroalcooliques qui ont donné les rendements les plus importants. Tandis que, les solvants purs (méthanol, éthanol et acétone) ont révélé des rendements faibles. Selon **Hayouni et al. (2007)**, la variation des rendements de divers extraits est attribuée aux polarités de différents composés présents dans la plante.

L'eau est souvent utilisée comme solvant pour l'extraction de biomolécules à partir de sources végétales. Sa polarité permet de dissoudre beaucoup de composés phénoliques polaires. Pour extraire des composés peu polaires ou apolaires des solvants plus hydrophobes sont mieux adaptés. Les solvants tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, ainsi que leurs mélanges avec l'eau sont largement utilisés pour l'extraction des composés phénoliques. Les mélanges extraient souvent mieux les substances d'intérêt que les solvants purs (**Yilmaz et al., 2006 ; Pinelo et al., 2005 ; Penchev et al., 2010**). En outre, **Spigno et ses collaborateurs (2007)** ont démontré dans leur étude que l'addition d'une petite quantité d'eau au solvant organique crée habituellement un milieu plus polaire qui facilite l'extraction des polyphénols.

Ceci indique que la plupart des composants présents dans le *Lycium* sont probablement de nature hydrophile ou sont hydrosolubles.

Dans cette présente étude le rendement dépend de la polarité des solvants utilisés. Les meilleurs rendements sont attribués aux solvants les plus polaires et de telles résultats ont été rapportées dans la littérature (**Brahmi et al., 2012 ; Sultanine et al., 2009**). D'après, **Chirinoset al. (2007) ; Kimet al. (2007) ; Spigno et al. (2007) et Tabart et al. (2007)** l'addition de l'eau dans l'acétone, l'éthanol et le méthanol augmente énormément le rendement d'extraction.

II.3. Dosage des composés phénoliques

Plusieurs méthodes de dosage sont appliquées pour la détermination quantitative des différentes catégories de composés phénoliques de l'extrait de *Lycium* : polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins.

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

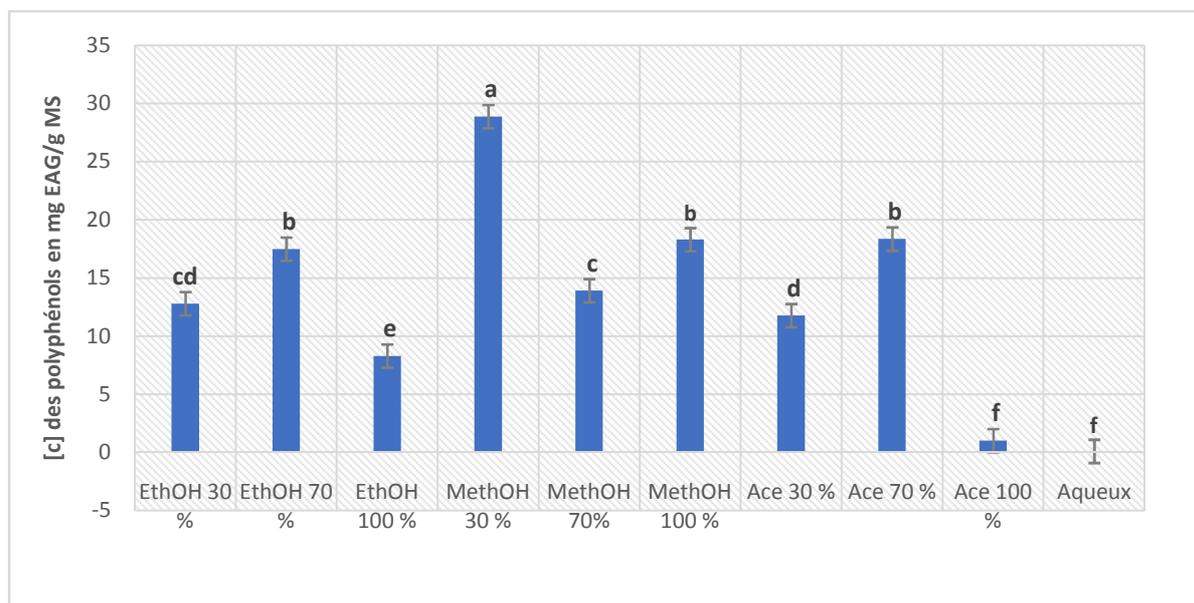


Figure 8 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de feuilles de *Lycium* sp.

Les barres verticales représentent l'écartype des cartes essais.

Les histogrammes qui portent la même lettre ne présentent pas une différence significative en composés phénoliques ($P < 0,05$).

Les composés phénoliques constituent une classe principale des antioxydants présents dans les plantes et sont généralement quantifiés par une méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (**Kanatt et al., 2007**). Après l'addition de la solution de carbonate de sodium et du

réactif de Folin-Ciocalteu à l'extrait des feuilles de *Lycium*, une couleur bleue est obtenue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration de l'extrait de la plante. La teneur en composés phénoliques de l'extrait est exprimée en mg EAG/g MS (Annexe I.1).

Les teneurs en polyphénols totaux montrent que l'extrait méthanolique à 30% de *Lycium* enregistré la valeur la plus importante ($28,88 \pm 1,79$ mg/g MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$, par contre la teneur la plus faible est attribuée par un extrait aqueux ($0,10 \pm 0,01$ mg/g) (Figure 8).

Mocan et al. (2015) ont quantifié les polyphénols totaux par HPLC des extraits éthanoliques à 70% des feuilles de deux espèces du genre *Lycium* qui sont *Lycium barbarum* et *Lycium chinense*. Ils ont trouvé que les deux espèces contiennent $3,17 \pm 0,03$ et $5,3 \pm 0,05$ g EAG /100g MS respectivement.

Dans une étude comparative de quelques baies comestibles sauvages de quelques plantes y compris *Lycium barbarum*, **Madhulika et al. (2015)** ont trouvé que la teneur en polyphénols des extraits méthanoliques purs des baies de cette plante est égale à $188,64 \pm 8,5$ mg EAG/g du poids sec). D'autre part, le contenu en polyphénol totaux des extraits éthanoliques à 70% des feuilles de *Lycium barbarum* déterminé en utilisant l'HPLC par **Dogan et al. (2004)** est égale à $61,59 \pm 1,68$ mg GAE/g MS.

Les résultats obtenus dans la littérature montrent des teneurs plus élevées à celles trouvées dans le présent travail, cette différence peut être due aux méthodes de quantification ainsi d'extraction adoptées par ces auteurs. L'origine géographique de la plante, la période de récolte, les réactifs utilisés, les géotypes et les périodes de végétation (**Caliskan et al., 2012**) peuvent également avoir un impact sur les teneurs en composés phénoliques. D'ailleurs, les changements de la phytochimie de la plante se produisent pendant la maturation du fruit ou d'autres tissus végétaux (**Patel et al., 2009**). En outre, certaines études ont établi que la concentration en polyphénols peut varier d'une partie à une autre de l'organisme végétal ou même dans différents organes de la même plante à différentes étapes de maturation (**Pineli et al., 2011**).

Dans nos conditions expérimentales, l'eau distillée n'est pas un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques des feuilles de *Lycium*, ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Mustafa et al. (2011)**. Cependant, nous avons noté que l'ajout de l'eau à la majorité des solvants utilisés permet d'obtenir de meilleures concentrations en polyphénols totaux. Dans le même contexte, **Mustafa et al. (2011)** ont démontré que l'incorporation du

méthanol à l'eau distillée améliore efficacement la solubilité des composés bioactifs. De plus, plusieurs auteurs ont montré que le système de solvant binaire (éthanol 30%, éthanol 70%, méthanol 30%, acétone 30% et acétone 70%) est plus performant et favorable pour l'extraction que le système de solvants purs (éthanol 100%, méthanol 100%, acétone 100% et l'eau distillé) (Nawaz et al., 2006 ; Yang et Zhang, 2008).

Toutefois, les résultats du dosage des composés phénoliques n'indiquent pas les valeurs exactes de leurs teneurs, puisque malgré sa grande sensibilité, la méthode de Folin-Ciocalteu peut présenter des problèmes d'interférence, en effet le réactif Folin-Ciocalteu peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane), les sucres réducteurs (glucose et le fructose) (Boizot et Charpentier, 2006).

II. 3.2. Dosage des flavonoïdes

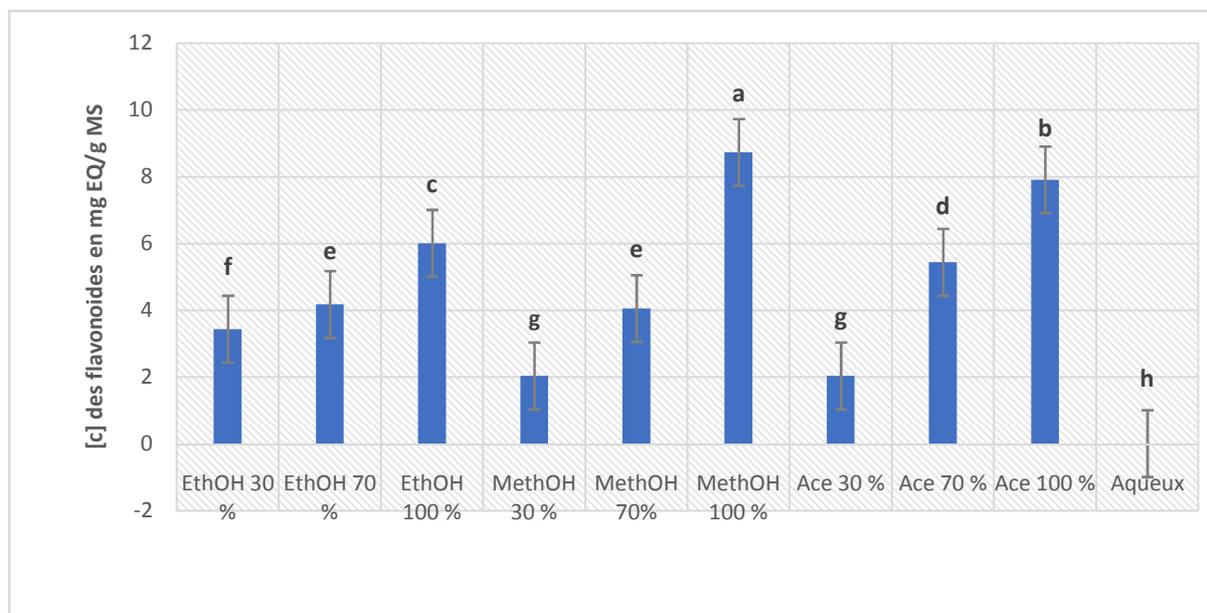


Figure 9 : Teneurs en flavonoïdes des extraits de *Lycium* sp.

Les barres verticales représentent l'écartype des cartes essais. Les histogrammes qui portent la même lettre ne présentent pas une différence significative en composés phénoliques ($P \leq 0,05$).

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils se trouvent dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants des chromoplastes (Fukumoto et al., 2000).

Au cours du dosage, une couleur jaunâtre est obtenue après l'addition de la solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), dont l'intensité varie en fonction de la concentration du

standard (quercétine) ou de l'extrait de plante (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La concentration moyenne de l'extrait en flavonoïdes a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage, utilisant la quercétine comme standard (Annexe I.2).

Dans la présente étude, le contenu des flavonoïdes d'extraits de *Lycium* obtenu à partir des différents solvants était expérimentalement déterminé. La concentration la plus élevée des flavonoïdes a été obtenue à partir de l'extrait méthanolique pur (100%) ($8,73 \pm 0,16$ mg EQ/g MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Tandis que, l'extrait aqueux a révélé la plus faible teneur ($0,02 \pm 0,07$ mg EQ/g MS) (figure 9).

Ghasemzadeh et ses collaborateurs (2011), ont trouvé que le méthanol est le solvant le plus efficace à extraire les flavonoïdes à partir du gingembre.

Les extraits obtenus avec les solvants purs ont donné les quantités les plus élevées en flavonoïdes avec une différence significative à $P \leq 0,05$ comparativement aux mélanges solvants/eau.

Selon **Abaza et al (2011)**, la polarité des solvants joue un rôle principal dans la solubilité des composés phénoliques. Les solvants les moins polaires sont considérés appropriés à l'extraction des phénols lipophiles. Ceci peut également être explicité par la nature des flavonoïdes présents dans la plante étudiée qui sont probablement sous forme glycosylés ou méthylées apolaires. D'après **Abaza et al. (2011)** les isoflavones, les flavanones et les flavonols qui renferment dans leurs structures un nombre élevé de groupement méthylés ont tendance à être solubles dans les solvants purs.

Selon **Dong et al. (2009)**, la teneur en flavonoïdes des extraits de *Lycium barbarum* obtenue par l'HPLC est égale à $43,73 \pm 1,43$ mg équivalent rutine/g du poids sec).

Mocan et ses collaborateurs (2015) ont effectué une étude sur deux espèces du genre *Lycium* (*L. barbarum* et *L. chinense*), ils ont déterminé la teneur en flavonoïdes avec HPLC des extraits éthanoliques à 70% de feuilles de ces deux espèces et ils ont trouvé des teneurs de $2,77 \pm 0,01$ et $4,37 \pm 0,06$ g équivalent rutine /100g respectivement. De plus, selon **Madhulika et al. (2015)**, la teneur en flavonoïdes des extraits méthanoliques purs de feuilles de *Lycium barbarum* est égale à 340 ± 15 mg équivalent de quercétine/g du poids sec.

Cette différence peut être due aux protocoles d'extraction et du dosage ainsi qu'au standard utilisés. D'autres facteurs peuvent également avoir un effet sur les teneurs en flavonoïdes tels que la saison de la récolte, l'âge des feuilles et l'origine de la plante. En effet,

les facteurs environnementaux influencent la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires de la plante (Dong et al., 2009).

II. 3.3. Dosage des tanins

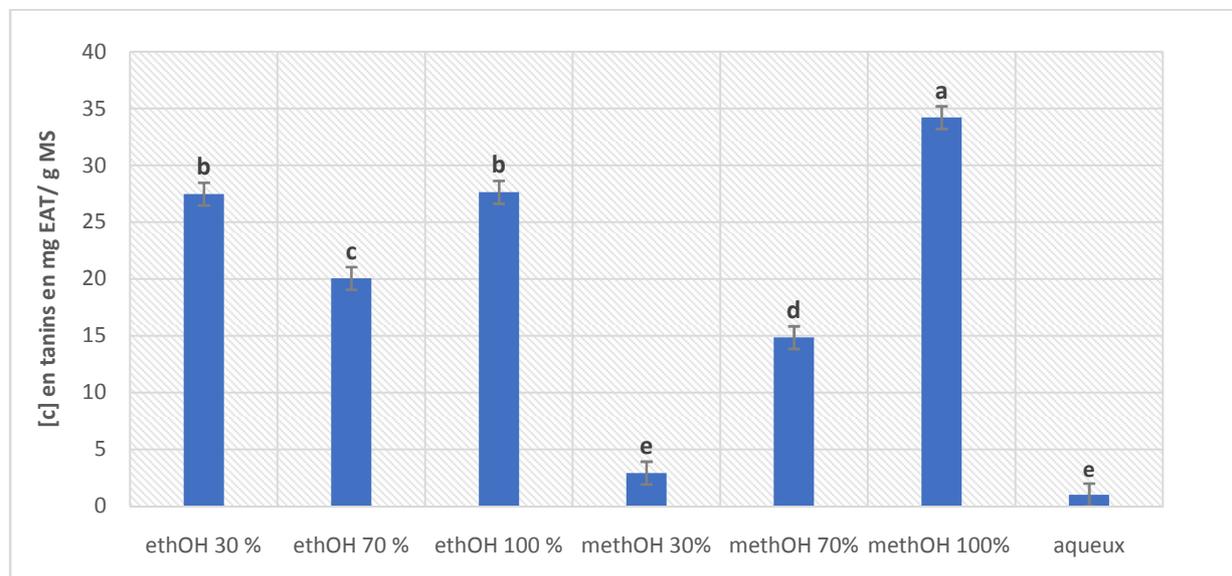


Figure 10 : Teneurs en tanins des extraits de feuilles de *Lycium* sp.

Les barres verticales représentent l'écartype des cartes essais. Les histogrammes qui portent la même lettre ne présentent pas une différence significative en composés phénoliques ($P < 0,05$).

La méthode utilisée pour le dosage des tanins est basée sur la capacité des tanins à former des complexes insolubles avec les protéines (BSA) et de former des solutions colorées avec certains métaux (Adams et Herbertson, 1999). Le chlorure ferrique ajouté réagit avec les tanins contenus dans le précipité pour former par chélation un complexe de couleur marron clair. L'intensité de la coloration varie en fonction de la concentration en acide tannique utilisé pour la réalisation de la courbe standard (Annexe I.3). La stabilité de ce réactif (chlorure ferrique) a été maintenue en ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique, pour empêcher la formation d'hydroxyde de Fer.

D'après Hagerman et Butler.(1981) et Adams et Herbertson.(1999), après incubation à 4°C pendant 24h, un précipité blanc a été formé qui correspond aux protéines précipitées par les tanins de l'extrait ; le complexe tanin - protéine pourrait être plus stable à basse température (Hagerman et Butler, 1978).

L'analyse statistique révèle que la teneur en tanins varie selon le type de solvant utilisé. Dans cette présente étude l'extraction par le méthanol(100%) a donné la teneur la plus élevée avec une différence significative à $P \leq 0,05$ en tanins qui est de $34,21 \pm 1,71$ EAT mg/g

de matière sèche. Par contre la plus faible concentration en tanins est retrouvée dans l'extrait aqueux ($1,00 \pm 0,09$ mg EAT/g du poids sec). L'effet de solvant peut être expliqué par le fait que les tanins sont plus solubles dans du méthanol (figure 10).

A notre connaissance, aucune étude bibliographique sur les bases de données investies n'a cité le taux des tanins dans les espèces du genre *Lycium*.

II. 4. Activité antioxydante

C'est la capacité de capter ou de piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant. Nous avons utilisé deux méthodes différentes et complémentaires pour étudier l'activité antioxydante, le test de DPPH[•] et le test de phosphomolybdate.

II. 4.1. Activité scavenger du radical libre DPPH[•]

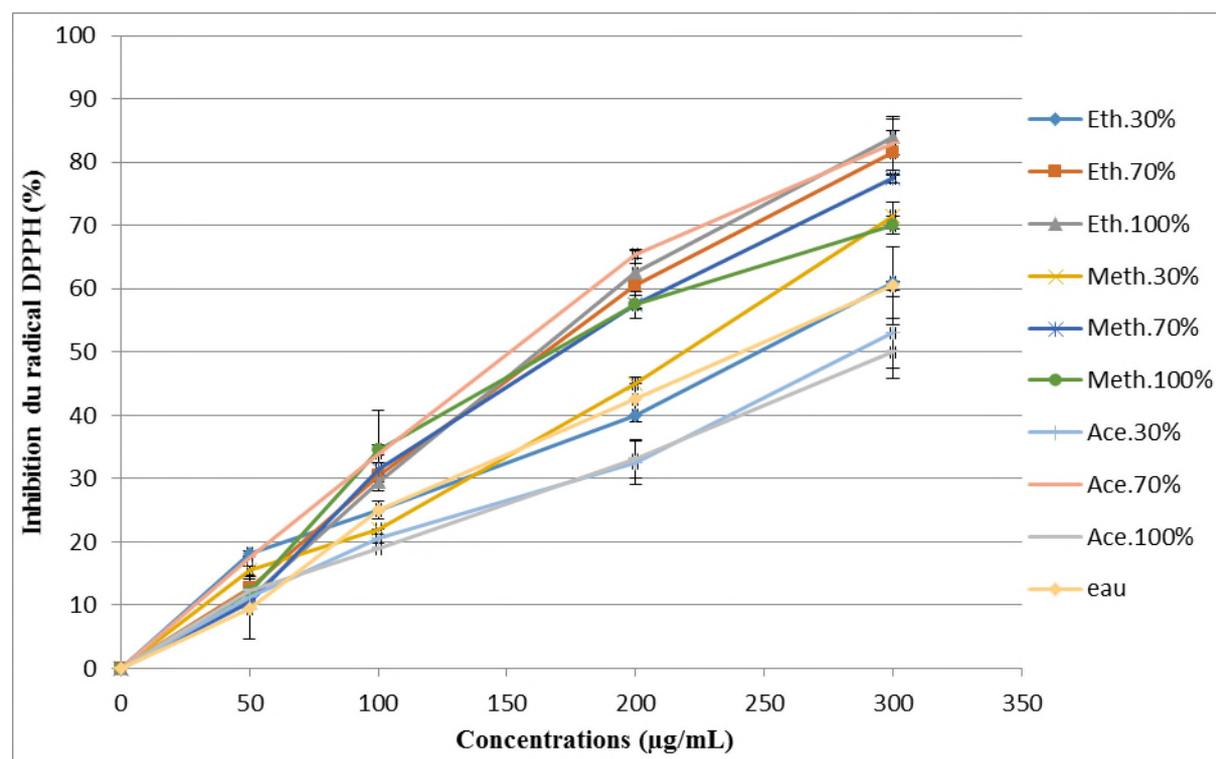


Figure 11: Effet de la concentration des extraits sur l'activité antiradicalaire DPPH[•].

L'action de radical-scavenging de proton est connue pour être l'un de divers mécanismes pour l'anti-oxydation. Le DPPH[•] est l'un des composés qui possèdent un radical libre de proton et montre une absorption caractéristique à 517 nm avec une

coloration pourpre. Quand il est réduit en présence de donneur de proton ou d'électron, sa couleur pourpre vire rapidement au jaune (Lai et al., 2001).

Plusieurs techniques ont été utilisées pour mesurer les activités antioxydantes d'extraits de plantes. Cependant, la méthode au DPPH[•] est largement employée en raison de sa simplicité, stabilité, exactitude et reproductibilité (Stratiletal., 2006).

D'après la figure 11, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] par les différents extraits de *Lycium* sp augmente avec l'augmentation de la concentration. En outre, selon les résultats trouvés, l'extrait acétonique (70%) est doté d'un pouvoir antioxydant important avec la plus faible valeur d'IC₅₀ qui est de 60,46 ± 1,18 µg/mL. Ceci est suivi de l'éthanol 100% et 70% sans différences significatives à P ≤ 0,05. Toutefois, l'extrait acétonique (100%) a révélé le pouvoir le plus faible avec une valeur d'IC₅₀ la plus élevée qui est égale à 114,43 ± 11,93 µg/mL (Tableau VII).

L'activité antioxydante des extraits étudiés dépend de la structure chimique des composés phénoliques et de la disponibilité des groupes d'hydroxyle phénoliques qui ont la capacité de donner leur électron ou hydrogène formant de ce fait un produit final stable (Jayaprakasha et al., 2008). Il a été rapporté que les polyphénols sont des donneurs efficaces d'atome d'hydrogène au radical DPPH[•] en raison de leurs structures chimiques (Erol et al., 2010).

Nos résultats ont prouvé que l'extrait acétonique à 70% a montré une activité antioxydante sensiblement plus haute que les autres systèmes de solvant choisis. Les mélanges d'acétone-eau se sont précédemment avérés de bons systèmes de solvants pour l'extraction des antioxydants polaires (Althman et al., 2009).

Madhulika et al. (2015) ont évalué l'activité antioxydante par la méthode au DPPH[•] des extraits méthanoliques purs de *Lycium barbarum*, et ils ont trouvé une IC₅₀ égale à 83,29 µg/mL. De même, Mocan et al. (2014) ont étudié l'activité antioxydante avec cette méthode des extraits éthanoliques à 70% des feuilles de deux espèces du genre *Lycium* (*L. barbarum* et *L. chinense*). Ils ont noté que les extraits des deux plantes sont dotés d'une importante activité. Néanmoins, nous ne pouvons pas effectuer une comparaison avec leurs résultats car ils les ont exprimés en µg équivalent quercétine/mg de plante. Dans une étude plus récente (2015), ces mêmes auteurs ont enregistré des concentrations permettant d'inhiber le radical DPPH[•] de 124,06 ± 5,34 et 51,01 ± 2,54 µg/mL pour *L. barbarum* et *L. chinense* respectivement.

Généralement la capacité antioxydante augmente avec l'augmentation de la teneur des composés phénoliques (Anderwulan et al., 1999 ; Tsaliki et al., 1999).

L'accessibilité aux sites actifs de l'oxydation est un facteur critique pour l'efficacité de l'antioxydant (Frankel, 1998).

II.4.2. Test au phosphomolybdate d'ammonium

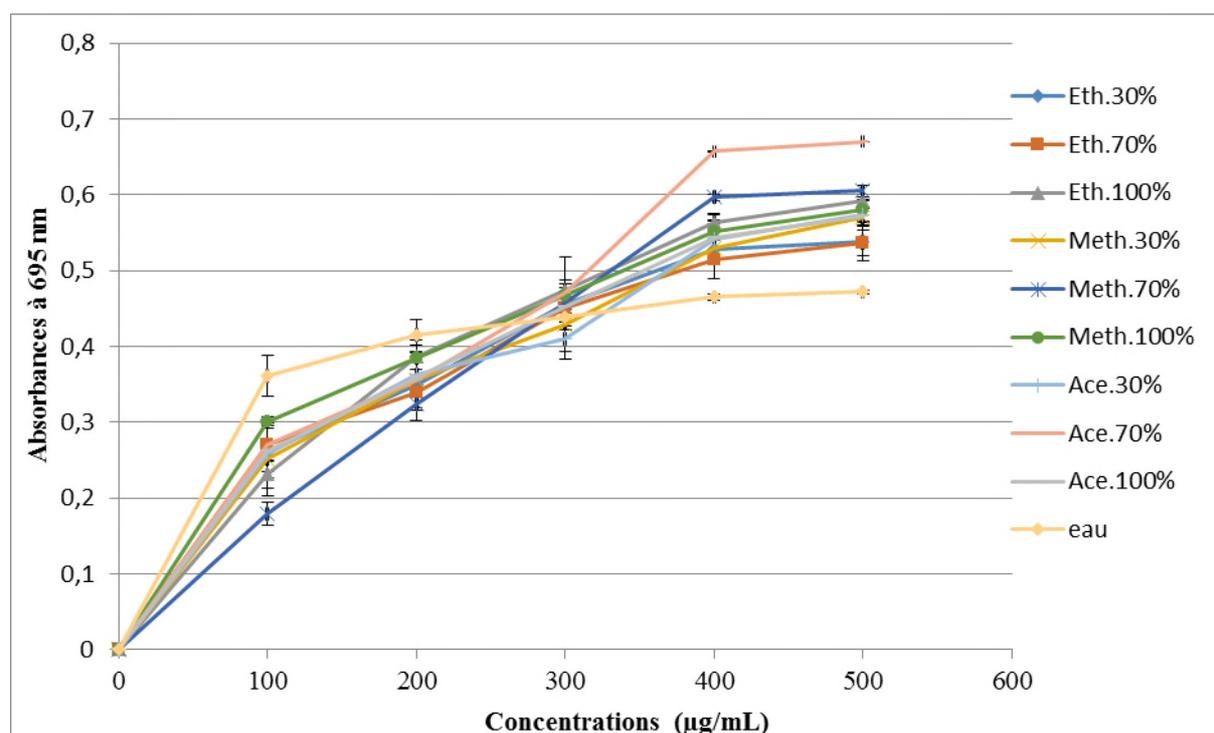


Figure 12 : effet de la concentration des extraits sur l'activité de phosphomolybdate.

Le test au phosphomolybdate a été introduit pour la mesure de l'activité antioxydante de différents extraits de *Lycium*. C'est une méthode spectroscopique basée sur la réduction, la détermination quantitative de la capacité antioxydante est mesurée par la formation d'un complexe de phosphomolybdène (Brahmi et al., 2012).

D'après la figure 12, l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration pour tous les extraits de feuilles de *Lycium* testés. Les valeurs d'IC₅₀ ont montré que l'extrait acétonique (70%) possède une très forte capacité antioxydante ($28,60 \pm 0,67 \mu\text{g/mL}$) avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Par contre l'extrait aqueux a enregistré la plus faible activité ($51,05 \pm 4,40 \mu\text{g/mL}$) (Tableau VII).

A notre connaissance, aucune étude bibliographique sur les bases de données investies n'a cité le test au phosphomolybdate pour tester l'activité antioxydante des espèces du genre *Lycium*.

Tableau VII : résultat aux DPPH[•] et phosphomolybdate.

Extrait	Test au DPPH [•]	Test au phosphomolybdate
	IC ₅₀ (µg/mL)	
Ethanol 30 %	91,42 ± 6,60 ^e	36,29 ± 3,46 ^{cd}
Ethanol 70 %	65,54 ± 3,46 ^{abc}	37,58 ± 2,30 ^d
Ethanol 100 %	62,32 ± 5,22 ^{ab}	32,46 ± 0,15 ^b
Méthanol 30 %	79,25 ± 1,63 ^d	34,70 ± 0,55 ^{bc}
Méthanol 70 %	68,60 ± 0,77 ^{bc}	32,71 ± 0,42 ^b
Méthanol 100 %	71,95 ± 1,97 ^c	32,65 ± 0,23 ^b
Acétone 30 %	108,96 ± 12,64 ^f	35,29 ± 1,48 ^{cd}
Acétone 70 %	60,46 ± 1,18 ^a	28,60 ± 0,67 ^a
Acétone 100 %	114,43 ± 11,93 ^f	34,30 ± 2,14 ^{bc}
Aqueux 100 %	88,57 ± 0,25 ^e	51,05 ± 4,40 ^e

II.5. Etude de la corrélation entre les composés phénoliques et les activités antioxydantes

Afin de déterminer si les composés phénoliques quantifiés par différentes techniques sont responsables de l'activité antioxydante des extraits de *Lycium*, nous avons effectué une corrélation entre les valeurs de capacité antioxydantes calculées par les deux méthodes (la méthode DPPH[•] et la méthode au phosphomolybdate) et le contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins de différents extraits. Ainsi, des courbes de régression linéaire (Annexe III) ont été générées et leur relation a été étudiée.

Tableau VIII : coefficients de corrélation entre les teneurs en composés phénolique et les activités antioxydantes.

	Test au DPPH [•]	Test au phosphomolybdate
Polyphénols totaux	0,422	0,447
Flavonoïdes	0,233	0,626
Tanins	0,358	0,573
Moyenne des corrélations	0,337	0,548

II. 5.1. Corrélation entre les composés phénoliques et le test au DPPH[•]

Il existe une faible corrélation entre les teneurs en composé phénolique des échantillons et l'activité scavenger du radical libre DPPH[•]. Le coefficient de corrélation entre les polyphénols totaux et ce test est égal à 0,422, par contre les flavonoïdes a révélé un coefficient encore plus faible qui est de 0,233. Le coefficient de corrélation entre les tanins et le test au DPPH[•] est égale 0,358. Par conséquent, le coefficient de corrélation moyen obtenu est seulement de 0,337 (Tableau VIII).

Cela peut s'expliquer par le fait que d'autres métabolites à part les composés phénoliques sont impliqués dans le piégeage du radical DPPH[•]

II. 5.2. Corrélation entre les composés phénoliques et le test au phosphomolybdate

Le coefficient de corrélation trouvé entre le test au phosphomolybdate et le teneur en flavonoïdes est de 0,626. Il est suivi par celui entre les tanins (R=0,573), et celui des polyphénols totaux (R=0,447) avec ce test. Le coefficient de corrélation moyen entre l'activité antioxydante au phosphomolybdate et les teneurs en composés phénolique est donc de 0,548 (Tableau VIII).

Ces observations montrent que les flavonoïdes sont les plus impliqués dans l'activité antioxydante évaluée par le test au phosphomolybdate. Selon **Yang et al. (2008)** et **Marinova (2009)** l'activité antioxydante des extraits de *Lycium barbarum* déterminée par le test au DPPH[•], est fortement corrélée avec la teneur en flavonoïdes. Comme particularité, les feuilles du *Lycium barbarum* contiennent des quantités importantes en flavonoïdes où le composé principal étant la rutine. Les concentrations élevées en rutine sont responsables de la forte activité scavenger du radical DPPH[•] (**Yang et al., 2008**).

Conclusion

Les plantes renferment une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes ...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques (antitumorale, antivirale, antioxydante, antimicrobienne...). La valorisation de ces principes actifs d'origine naturelle représente donc un potentiel économique énorme.

Le présent travail effectué sur les feuilles d'une espèce du genre *Lycium* est constitué de deux parties afin d'optimiser le solvant d'extraction. D'une part le dosage des composés phénoliques et d'autre part l'étude de l'activité antioxydante *in vitro*. Les solvants utilisés sont les plus recommandés dans la littérature qui sont le méthanol, l'éthanol, l'acétone avec leurs mélanges avec l'eau à 30 et 70%, l'eau seule est également utilisée pour une éventuelle comparaison.

Au préalable et afin de suivre le séchage des feuilles de la plante étudiée, un test d'humidité est réalisé. Ce test a montré que ces feuilles renferment une teneur faible d'eau dont le pourcentage d'humidité est seulement de 14,5%.

La présence des différentes classes de composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tanins) dans les extraits de feuilles de *Lycium* a été mise en évidence par différents dosages. Une différence significative à $P \leq 0,05$ est notée entre les différentes concentrations trouvées. La teneur en phénols totaux varie de $0,10 \pm 0,01$ pour l'extrait aqueux à $28,88 \pm 1,79$ mg EAG/g MS pour l'extrait méthanolique à 30%, et la teneur en flavonoïdes varie de $0,02 \pm 0,07$ pour l'extrait aqueux à $8,73 \pm 0,16$ mg EQ/g MS pour l'extrait méthanolique à 100%. Concernant les tanins les teneurs varient de $1,00 \pm 0,09$ à $34,21 \pm 1,71$ EAT mg/g MS. La variabilité des concentrations en phénols totaux, flavonoïdes, et tanins des différents extraits dépend du solvant d'extraction et de sa polarité.

Les différents extraits testés ont manifesté une activité antioxydante mesurée *in vitro* par les tests au DPPH[•] et au phosphomolybdate d'ammonium. Tous les extraits de feuilles de *Lycium* étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH[•] qui augmente en fonction de la concentration. Le meilleur résultat est obtenu avec l'extrait acétonique 70% avec une IC₅₀ de $60,46 \pm 1,18$ µg/mL, alors que l'extrait aqueux a révélé la plus faible activité scavenger avec l'IC₅₀ la plus élevée ($114,43 \pm 11,93$ µg/mL). Dans le test au phosphomolybdate, c'est toujours l'extrait acétonique 70% qui a montré une forte capacité antioxydante et l'extrait

aqueux a enregistré une faible, leurs IC_{50} sont respectivement de $28,60 \pm 0,67$ et $51,05 \pm 4,40$ $\mu\text{g/mL}$.

Les corrélations entre les teneurs en différents composés et l'activité antioxydante ont révélé de faibles coefficients de corrélation, ce qui démontre que d'autres composés en plus des composés phénoliques sont impliqués dans l'activité antioxydante exercée par les extraits de *Lycium*.

Nos données analytiques ont montré que les mélanges de solvants organiques avec l'eau sont plus efficaces dans l'extraction des antioxydants des feuilles de *Lycium* originaire de Bejaïa. En outre, nous avons déduit que ces feuilles représentent des sources appréciables en antioxydants (composés phénoliques) ce qui valide en partie l'utilisation traditionnelle de cette plante à plusieurs vertus.

Afin de compléter cette étude, il serait utile de faire :

- ✚ Identification de l'espèce étudiée appartenant au genre *Lycium*.
- ✚ Identification et quantification de différents constituants phénoliques.
- ✚ Identification, quantification et caractérisation des constituants non phénoliques solubilisés par les solvants d'extraction.
- ✚ Utilisation de l'activité antioxydante *in vivo* des extraits et effet sur la qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique des aliments.
- ✚ La maîtrise des techniques d'extraction de ses molécules bioactives.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

ABAZA L, BEN YOUSSEF N, MANAI H, HADDADA FM, METHENNI K, ZARROUK M.2011. Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities, 62 (1), pp: 96 – 104.

ADAMS D.O, HARBERTSON J.F.1999. Evolution of skin and seed tannins in pinot noir berries during ripening: Application of a simple assay to a difficult problem. In “2nd Joint Burgundy-California-Oregon Winemaking symposium”. UC Davis Cooperative Extension, 8-9, pp: 26-29.

ALOTHMAN M, BHAT R, KARIM A.A.2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chemistry. 115, pp: 785 – 788.

AMAGASE H, FARNSWORTH N. 2011. A review of botanical characteristics, photochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium* fruit (Goji). Food Research International. 7 (44), pp: 1702-1717.

ANDARWULAN N, FARDIAZ D, WATTIMENA G. A, SHETTY K. 1999. Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47, pp: 3158-3163.

B

BENNICKA. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. Crit Rev Oral Biol Med. 13(2), pp: 184-196.

BERSET C, CUVELIER M.E. 2005. Phenolic compounds and plant extracts protect paprika against UV-discoloration. International Journal of Food Science et Technology, (1), pp : 67-73.

BOIZOT N, CHARPENTIER J P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en Composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers et aquatiques, pp : 79-83.

BOULILA A, MATTOSI K, MRABET Y, ROKBENI N, DHOUIOUI M, BOUSSAID M. 2015. Determination of phytochemicals and antioxidant activity of methanol extracts obtained from the fruit and leaves of Tunisian *Lycium intricatum*, Food chemistry,174, pp:577-584.

BONNIER G.1990. Grande flore en couleurs de Gaston Bonnier, Editions Belin, Paris.

BOTINEAU, M. 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Editions Tech & Doc., LAVOISIER.

BRAHMI F, MADANI K, DAHMOUNE F, RAHMANI T, BOUSBAA K, OUKMANOU S, CHIBANE M.2012.Optimization of Solvent Extraction of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata L.*). 2 (4).

BRUNETON J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales Ed. TEC et DOC. Lavoisier.

CALISKAN O, BAYAZIT S, SUMBUL A.2012. Fruit quality and phytochemical attributes of some apricot (*Prunus armeniaca L.*) cultivars as affected by genotypes and seasons, NotBot Horti Agrob, 40, pp:284-94.

C

CHAO J.C.2006. Hot water-extracted *Lycium barbarum* and *Regmanniaglutinosa* inhibit proliferation and induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells, World J. Gastroenterology, 12(28), pp: 4478-84.

CHEN Z, BRONZAGE B.K, CHAN S.H. 2008. Activation des lymphocytes de T par le complexe de protéine de polysaccharide du *barbarum L.* international Immunopharm de *Lycium.* (8), pp :1663-71.

CHEYNIER W, SOUQUET J.M, FULRAND H, SARNI P, MOUTOUNET M. 1998.Stabilisation tanins anthocyanes données générales, Unité de Recherche des Polymères et des Techniques physico-chimiques :Montpellier : INRA Montpellier, pp :11.

CHIRINOS R, ROGEZ H, CAMPOS D, PEDRESCHI R, LARONDELLE Y.2007.Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from (*Tropaeolum tuberosum*), Journal of Separation and Purification Technology.

CLIFFORD M.N.2000.Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden.J. Sci, Food Agric, 80, pp: 1036-1072.

CORK S.J.1991.Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other Phenolics from plants: insights from investigations on eucalyptus leaves. Journal of chemical ecology, 17 (1), pp: 123-134.

CRONQUIST A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York, Columbia University Press.

D

DAVALOS R.V, RUBINSKY B, MIR L.M. 2003. Theoretical analysis of the thermal effects during *in vivo* tissue electroporation. Bioelectrochemistry, 61 (1-2), pp : 99-107.

DELAVEAU P. 2003. Expliquez-moi les plantes, voyage en botanique, Paris, Editions Pharma thèmes.

DJRIDANE M, YAUSFI M, NADJMA B, BOUTASSONA D, STOCHER P. 2006. and vital Antioxidant activity of some Algerian medical plants extracts Food chemistry.

DOGAN S, ARSLAN O, ÖZEEN F.2004. Polyphenol oxidase activity of oregano at different stages. Food Chemistry,91, pp : 341–345.

DONG J.Z, LU D.Y.2009. Wang, analyse de Y. des flavonoïdes des feuilles des aliments végétauxcultivés du *Lycium barbarum*ronflent Nutr,64, pp :199-204.

DORMAN H. D, KOŞAR M, KAHLOS K, HOLMY, HILTUNEN R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(16), pp: 4563-4569.

E

EROL N.T, SARI F, VELIOGLU Y.S. 2010. Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades Turkish black tea GIDA 35 (3), pp: 161-168.

F

FARGA G.2010.plant phenolics and human health Biochemistry Nutrition andpharmacology, Ed: john Wiley and sons,pp: 22-25.

FRANKEL E. N. 1998. lipid oxidation. En The Oily Press. Dundee, Scotland.

FUKOMOTO L.R, MAZZA G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidants activities and phenolic compounds. J Agric Food Chem, 48, pp :3597-604.

FUKUDA T, YOKOYAMA J, OHASHI H.2001.« Phylogeny and biogeography of the genus *Lycium* (Solanaceae): inferences from chloroplast DNA sequences », Molecular Phylogenetics and Evolution, 19, pp: 246-258.

G

GHASEMZADEH A, JAAFAR H. Z. E, RAHMAT A. 2011. Antioxidant activities, totalphenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiberofficinale Roscoe*). Molecule ,15, pp: 4324- 4333.

GOLI A.H, BARZEGAR, M, SAHARI M. A. 2004.Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. Food Chemistry 92, pp :52 1- 525.

GUGGENBUHL N.2003. Lespolyphénols sont à la fête (en ligne)
<http://www.healthandfood.be/html/fr/artcile/62/polyphenol.htm>.

GYRBUZI,YESILADA E,ITO S.2009.An anti-allergenic flavonoldigluconide from *Equisetum plaustreL*, Journal of Ethnopharmacology, 121, pp:360-365.

H

HAKINNEN S.2000.Flavonols and phenolics acids in berries and berry products Kuopio University publications D Medical Sciences,pp: 221-90.

HAGERMAN A.E, BUTLER L.G. 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannin. Journal agricultureand Food Chemistry. 26 (4), pp: 809-812.

HAGERMAAN A.E, BUTLER L.G. 1981. The specificity of proanthocyanin-protein interactions. The journal of Biological Chemistry, 256(9), pp: 4494- 4497.

HAGERMAN A.E, BUTLER L.G. 1989. Choosing appropriate method and standards for assaying tannin. Journal of Chemical Ecology, 15 (6), pp: 1795-1810.

HARBORNE J.B.1989. General procedures and measurement of total phenolics In Harbored plant phenolics as academic press londres, pp:1-28.

HAYOUNI E. A, ABEDRABBA M, BOUIX M, HAMD M.2007.The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry ,105, pp: 1126 -1134.

HITARA T, FUJII M, AKITAK, YANAKA N, OGAWA K, KUROYANANAGI M, HONGO D.2009. Identification and physiological evaluation of the components from citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer Bioorganic&Medical Chemistry, 17, pp:25-28.

J

JAYAPRAKASHA G. K, GIRENAVAR B, PATIL B.S.2008. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different *in vitro* model systems. Bio resource Technology, 99, pp: 4484 -4494.

JOURDES M.M.2003. Réactivité Synthèse Couleur et activité biologique d'ellagitannin glycosidiques et flavano-ellagitannins. Thèse de doctorat : Bordeaux : L'université Bordeaux I-Ecole doctorale des sciences chimiques, pp :125.

K

KANATT S.R, CHANDER R, SHARMA A. 2007. antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L) in radiation-processed lamb meat. *Food chemistry*, 100, pp: 451-458.

KIM J.M, CHANG S.M, KIM I.H, KIM Y.E, HWANG J.H, KIM KS, KIM W.S. 2007. Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves; Biochemical Engineering Journal, (37), pp: 271-278, (55), pp :217-225.

L

LAI L.S, CHOU S.T, CHAO W.W. 2001. Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum. J Agric Food Chemistry, 49, pp: 963 -968.

LEE K.W, KIM Y.J, LEE H.J, LEE C.Y.2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. Food chem, 51, pp: 7292-7295.

LEROUX M. 2014. Place de la baie de Goji (*Lycium barbarum*, Solanaceae) parmi les superFruits actuels : ses bienfaits antioxydants. Thèse de Docteur en pharmacie D'université de Rouen, UFR de médecine et pharmacie. France.

LEYBROS J, FREMEAUX P.1990.Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés.

LOPEZ A, RICO M, RIVERO A, DE TANGIL MS. 2011.The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scopariumalgae* extracts. Food Chemistry, 125, pp : 1104 -1109.

M

MACHEIX J.J.1990. Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XX^e siècle, *AtaBot Gallia*,143, pp:473-479.

MACHEIX J.J, FLEURIETA, BILLOT J.1990.Fruit phenolics.

MADHULIKA B, VISHAWDEEP S.J, PREETI C, ANAPURNA K, JASVINDER S. 2015. Immunomodulatory, Antioxidant potential and phytochemical study of some wild berries of North-Western Himalayan region: A comparative study. 3(12), pp : 50-56.

MAITRE, M.2011. Etude d'une plante traditionnelle du tibet : le goji,*Lycium barbarum* (solanaceae), thèse de doctorat en pharmacie, université de Besançon.

MANACH E, SCALBARTA M, REMESY C, JIMENEZ L.2004.polyphenols: Food sources and Bioavailability *American journal of clinical nutrition*.

MAURICE N. 1997.L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle, Ed : Lavoisier, Paris, pp : 12-14.

MARAFAK A.2003.Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools. Thèse de doctorat de l'université.

MARINOVA, E.M, TONEVA A, YANISHLIEVA.2009. Comparaison de N. des propriétés antioxydantes des acides caféiques et chlorogéniques.*Nourriturechemistry*, 114, pp: 1498-1502.

MAZZA G, CACACE J.E, KAY C.D. 2004. Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. *Journal of AOAC International*, 87, pp:129-45.

MEDDOUR A, YAHIA M, BENKIKI N, AYACHI A.2013.Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa L.* *Libanaise Science Journal*, 14(1), pp : 49-60.

MOCAN A, VLASE L, VODNAR D.C, BISCHIN C, HANGANU D,GHELDIU A.M, OPREAN R, SILAGHI-DUMITRESCU R, CRIŞAN G. 2014. Activités de contenu antioxydantes et antimicrobiennes polys phénoliques des feuilles du *barbarum L.* et *chinense L.* 19, 10056-10073.

MOCAN A, VLASE L, RAITA O, HANGANU D, PĂLTINEAN R, DEZSI S, GHELDIU A.M, OPREAN R, CRIȘAN G. 2015. Études comparatives sur l'activité antioxydante et le contenu poly phénolique des feuilles du *barbarum* *L. chinense* *L.* Feuilles, 28, pp : 1511-1515.

MOHEMMEDI Z. 2005. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Doctorat en biologie option : produits naturels, activités biologiques et synthèse. Faculté des sciences université ABB Tlemcen.

MOHAMMEDI Z. 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou Bakr Belkaid, pp : 170.

MUSTAFA A, TURNER C. 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: a review. *AnalChimActa*, 70, pp: 8-18.

N

NAWAZ H, SHI J, MITTAL G.S, KAKUDA Y. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 48(2), pp: 176-181.

NAZCK M, SHAHIDI F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food; *Journal of Chromatography*, 1054, pp: 95-111.

NUR ALAM M, BRISTIN, RAFIQUZZAMAN, M. 2013. review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, (21), pp :145-149.

P

PATEL P.R, RAO TVR. 2009. Physiological changes in relation to growth and ripening of khirni [*Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard] fruit, 64, pp :139-46.

PENCHEV P, ANGELOV G, CONDORET J.S. 2010. Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* *L.*). *Revue de génie industriel*, 5, :115-123.

PERRET C. 2001. Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*, Thèse de doctorat : Neuchâtel : Université de Neuchâtel-Institut de chimie, pp : 184.

PINCEMAIL J, BONJEAN K, CAYEUX K, DEFRAIGNE J.O. 2002. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16, pp : 233-239.

PINELI LDLDO, MORETTI C.L, SANTOS M.S.D, CAMPOS A.B, BRASILEIRO A.V, CORDOVA A.C. 2011. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripening stages. *J Food Comp Anal*, 24, p :11-16.

PINELO M, DEL FABBRO P, MARZOCCO L, NUNEZ M.J, VICOLI M.C.2005.Optimization of continuous phenol extraction from *vinifera* By-products. Food Chemistry, 92, pp :109-117.

PIQUEMAL G.2008.Les flavonoïdes (en ligne) :
http://www.detoursante.com/index.php?option=com_content&view=article&id=166.

POPOVICI C, SAYKOVAL, TYKOWSKIB. 2009.Evolution de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de génie industrielle (4), pp :25-39.

POTTERAT O. 2010. Goji (*barbarum L et chinense L.*) : Phytochimie, pharmacologie et sûreté dans la perspective des utilités traditionnelles et de la popularité récente. Med de Planta.2010 ;76 (1), pp :7-19.

R

RIBEREAU-GAYON. 1968. Notions générales sur les composés phénoliques, In « Les composés phénoliques des végétaux », Ed : Dunod, pp: 1-40.

RIBEREAU-GAYON J, PEYNAUD E, SUDRAUD P, RIBEREAU-GAYON P. 1982. Composés phénoliques « Traité d'œnologie, sciences et techniques du vin ». Ed: Dunod, pp: 477-499.

RICE-EVANS C, MILLER N, PAGANGA G.1996. Structure-antioxidant activity relationships between flavonoids and phenolic acids. Free radical biology et medicine. 20, pp: 933-956.

S

SANCHEZ D, MACHADO, JOSE A, GASTELUM N, CRAUHTEMO H, REMIREZ-WONG B. 2010.Jaime dopez-cervantes, foods and methods nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*,3, pp: 175-180.

SANTOS B, SALBERT A.2000.pronthocyanidins and tannin compounds nature, occurrence,dietary Intak and effects on nutrition and health's.Food agri,80, pp:1094-1117.

SCHON H.Y, SON K, WON S, KANG S.2004.Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medical plants, 11, pp: 666-672.

SIMON C. 2003. Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux. Thèse de doctorat : Bordeaux : l'université Bordeaux 1-ecole doctorale des sciences chimiques, pp : 219.

SPANOS G.A, WROLSTAD R.E. 1992. Phenolic of Apple, Pear, and White Grape Juices and Their Changes with Processing and Storage,Agric Food Chem, 40, pp:1478-1487.

SPIGNO G, TRAMELLI L, De FAVERI D.M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics, *Journal of FoodEngineering*, 81, pp: 200-208.

STRATIL P, KLEJDUS B, KUBAN V. 2006. Détermination du contenu total des composés phénoliques et de leur activité antioxydante dans les légumes végétales évaluation des méthodes spectrophotométriques, *Journal de la chimie agricole et alimentaire*, 54(3), pp :607-616.

SULTANINEB, ANWAR F, ASHRAF M. 2009. Effet de solvant d'extraction de technique sur l'activité antioxydante des extraits choisis de plante médicinale. *Molécules* 14, pp :2167 - 2180. méthodes. 99, pp :838– 841 de chimie alimentaire.

SUN T, HO C. 2005. Activités antioxydantes des extraits de sarrasin de chimie alimentaire., 90, pp: 743 - 749.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK A, TUŁODZIECKA A, SZLYK E. 2012. A silver nanoparticle-based method for determination of antioxidant capacity of rapeseed and its products. *Analyst*, 137(16), pp: 3750-3759.

T

TABART J, KEVERS C, SIPEL A, PINCEMAIL J, DEFRAIGNE J. O, DOMMES J. 2007. Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and stability during storage, *Journal of Food Chemistry*, 105, pp: 1268-1275.

THOMAS-BABERAN F.A, CLIFFORD M.N. 2000. dietary hydroxybenzoic acid derivatives nature occurrences and dietary burden's, *Food Agric*, 80, pp: 1024-1032.

TRIPOLI E, GUARDIA M.L, GIAMMANCO S, DI MAJO D, GIAMMAANOM. 2007. Review Citrus flavonoids molecular structure biological activity and nutritional properties, *Food chemistry*, 104, pp: 466-479.

TSALIKI E, LAGOURI V, DOXASTAKIS G. 1999. Evaluation of antioxidant activity of lupin flour and derivatives, *Food Chemistry*, 65, pp: 71-75.

TSAO M.L, TIAN F, SCHULTZ P.G. 2005. Selective standing modification of proteins containing p-azido phenylalanine. *European journal of chemical biology*, 6 (12), pp: 2147-2159.

V

VELIOGLU S.Y, MAZZA G, OOMAH B. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and Food Chemistry*.

VERMIRIS W, NICHOLSON R. 2006. phenolic compound biochemistry, Ed: springer science et business media, pp: 1-70.

VIVAS D.E, GAULEJAC N. 2005.vin et santé. Les bases scientifiques du french paradox. EditionsFéret, pp :198.

W

WALLGAST J.E.2000. Review on polyphenols in the brome Cacao:Changes in Composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification, Food Research,33, pp :423-447.

WU, H. 2006. Effect of *Lyciumbarbarum* polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats, YakugakuZasshi, May, 126(5), pp: 365-71.

X

XIAO Z.P, SHI D.H.Q, ZAHANGL. N, XU C, ZHU H.L.2007. Polyphenols based on isoflavones as inhibitors of helicobacter pylori urea's journal of bioorganic and Medicinal chemistry,15, pp:3703-3710.

Y

YANG Y, ZHANG F. 2008.Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus Alatus* (Thumb). SiebUltrasonics Ultrachemistry, 15(4), pp : 308-313.

YANG J, GUO J, YUAN.2008.Propriétésantioxydantes*in vitro* de J. de la rutine.Nourriture Sci de LWT.Techno, 41, pp :1060-1066.

YILMAZ Y, TOLEDO R.T. 2006.Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. Journal of Food Composition and Analysis, 19, pp :41-44.

YU M.S. 2005.Neuroprotective effects of anti-aging oriental medicine *Lyciumbarbarum*against beta-amyloid peptide neurotoxicity. Exp. Gerontol, 40(8-9), pp: 716-27.

Références électroniques

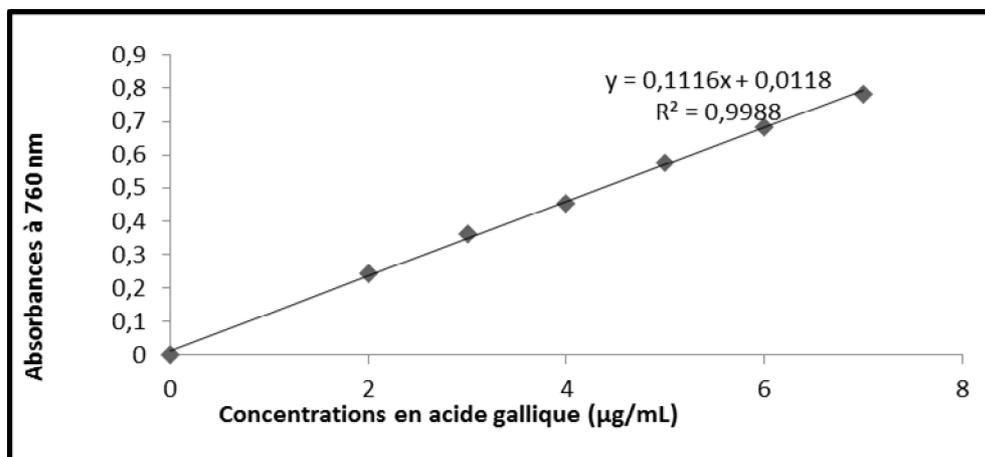
[http : www. google image.com](http://www.google.com)

[http : www. wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)

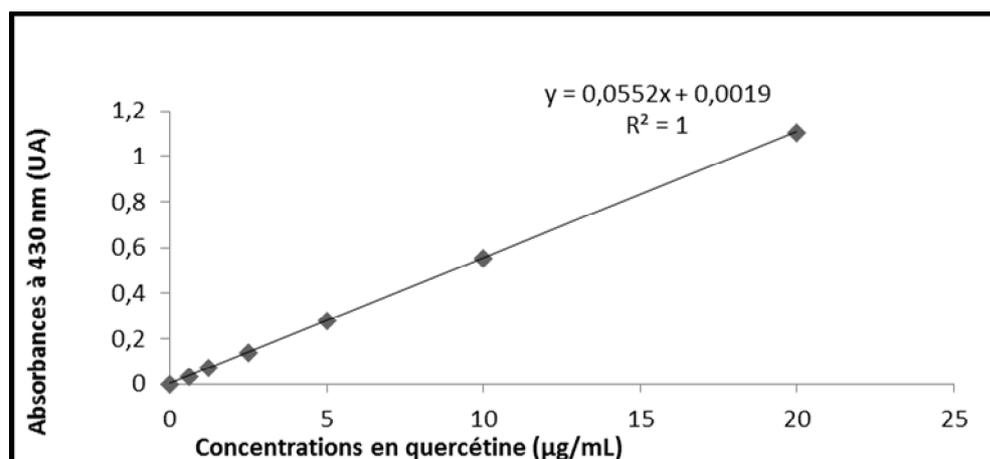
Annexes

Annexe I : courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins)

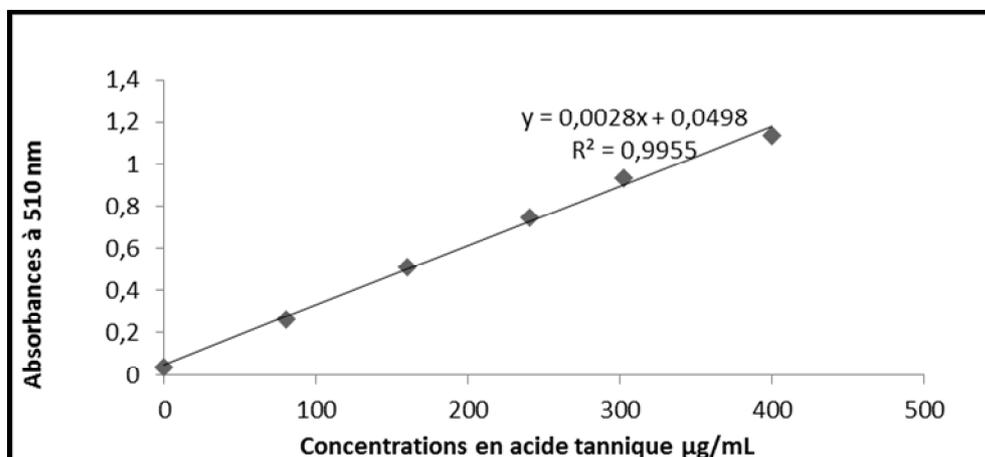
Annexe I.1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux



Annexe I.2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

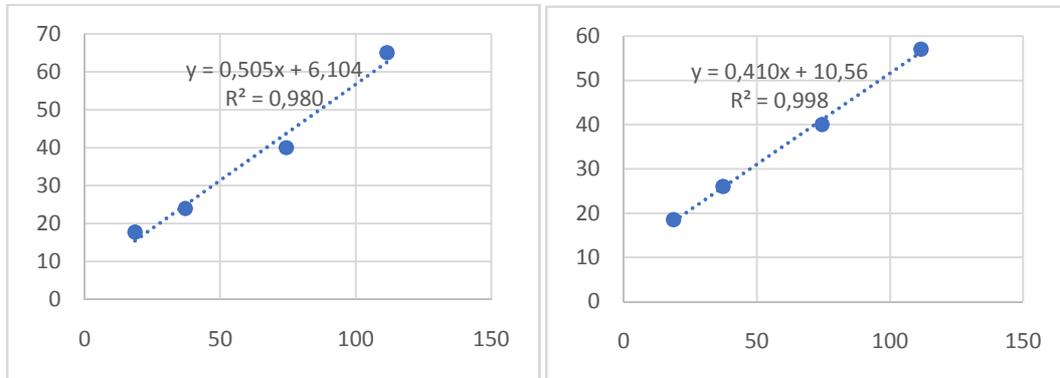


Annexe I.3 : courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins

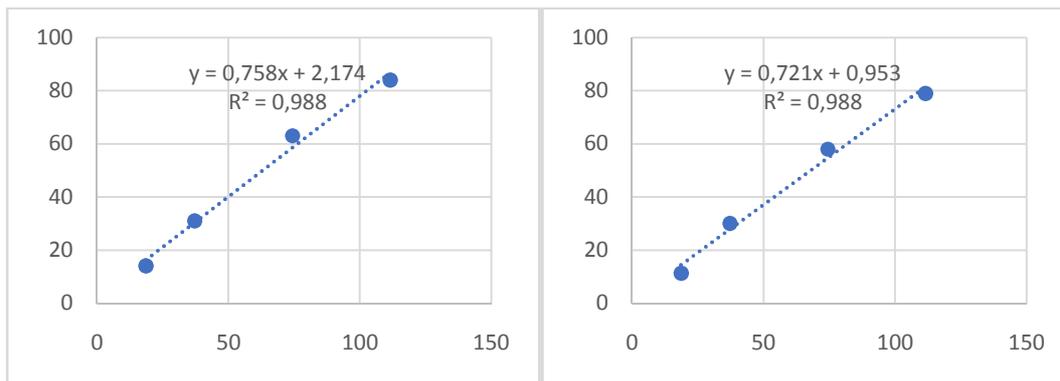


Annexe II : Résultats des IC_{50} pour les différents extraits de *Lycium* dans les méthodes au DPPH^{*} et phosphomolybdate

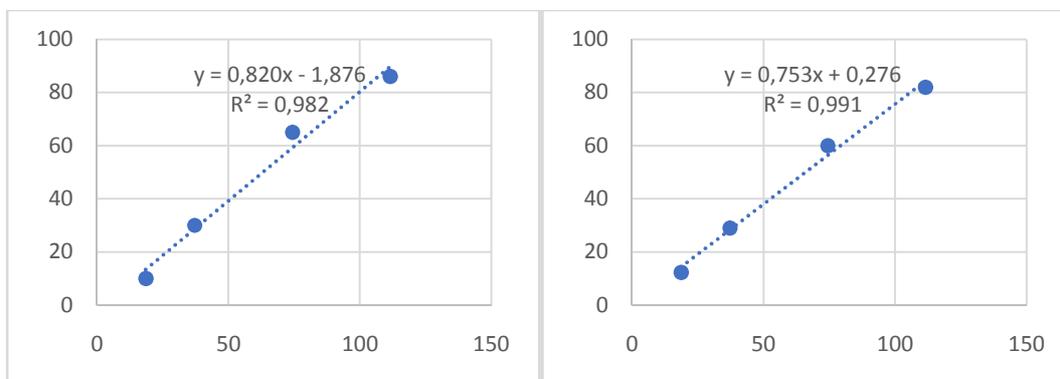
Annexe II.1 : Courbes utilisées pour le calcul d' IC_{50} pour l'extrait éthanolique 30% dans le test au DPPH^{*}



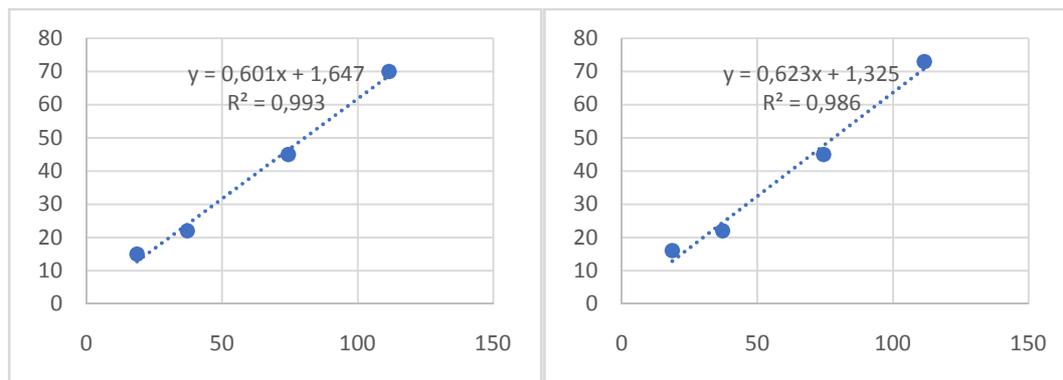
Annexe II.2 : Courbes utilisées pour le calcul d' IC_{50} pour l'extrait éthanolique 70% dans le test au DPPH^{*}



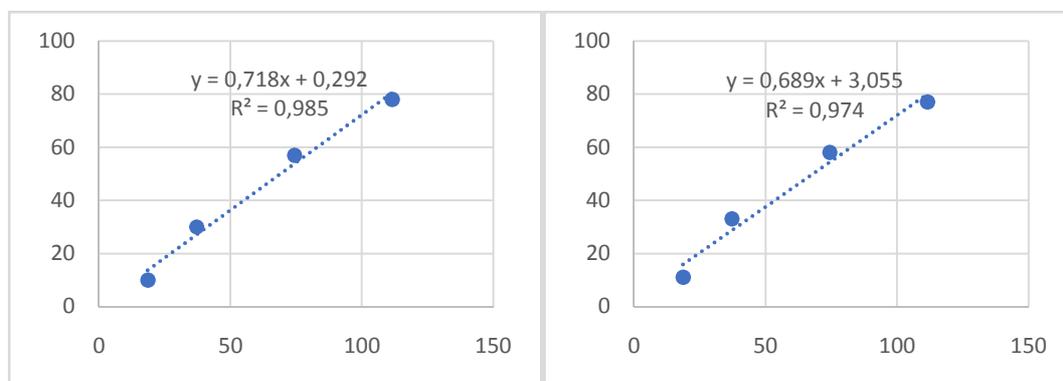
Annexe II.3 : Courbes utilisées pour le calcul d' IC_{50} pour l'extrait éthanolique 100% dans le test au DPPH^{*}



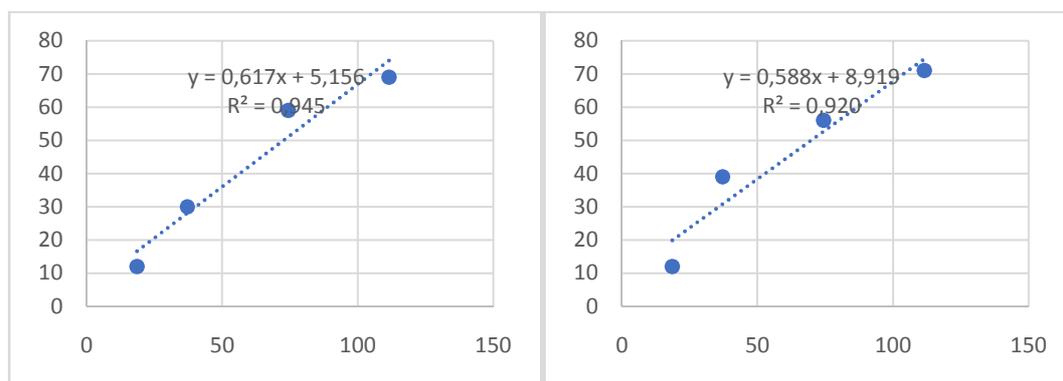
Annexe II.4 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait méthanolique 30% dans le test au DPPH*



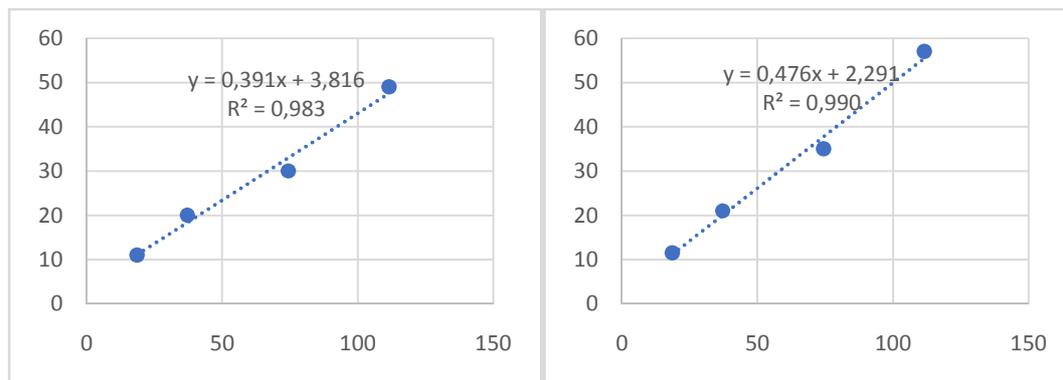
Annexe II.5 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait méthanolique 70% dans le test au DPPH*



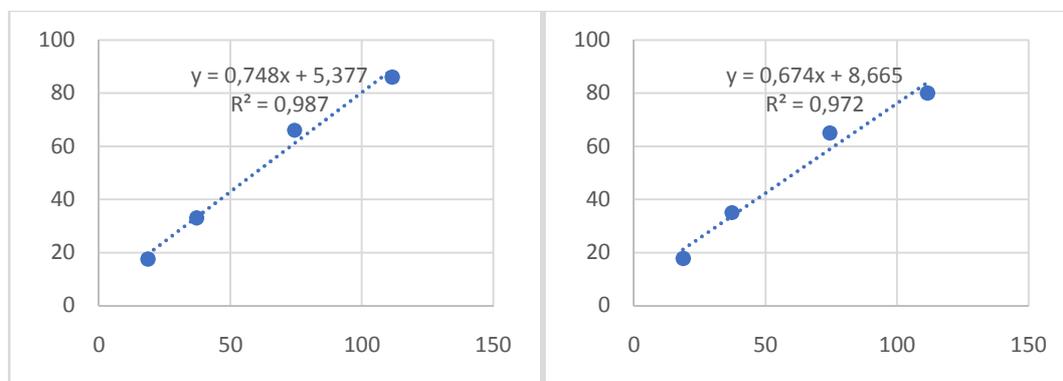
Annexe II.6 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait méthanolique 100% dans le test au DPPH*



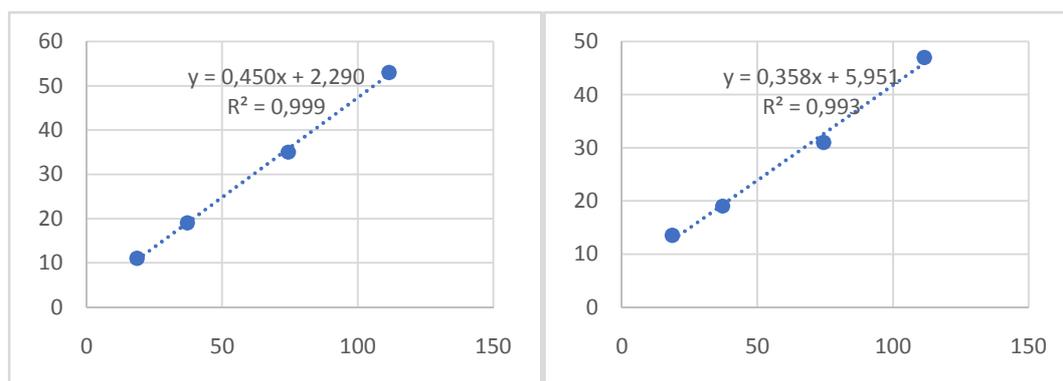
Annexe II.7 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait acétonique 30% dans le test au DPPH*



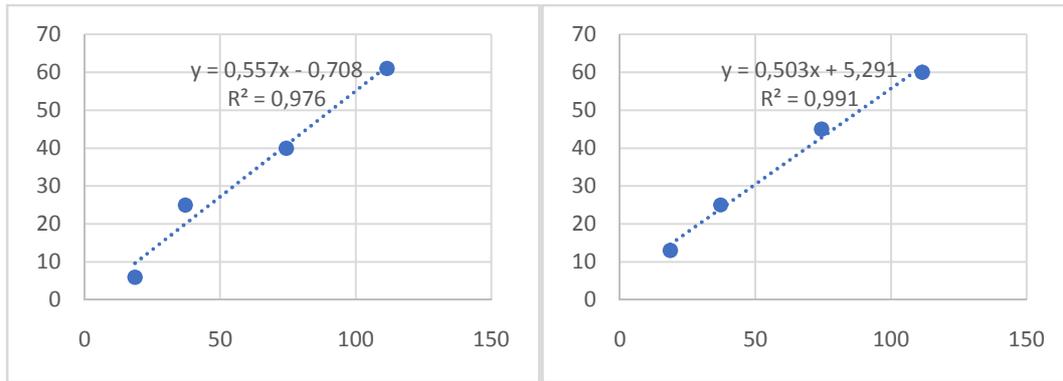
Annexe II.8 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait acétonique 70% dans le test au DPPH*



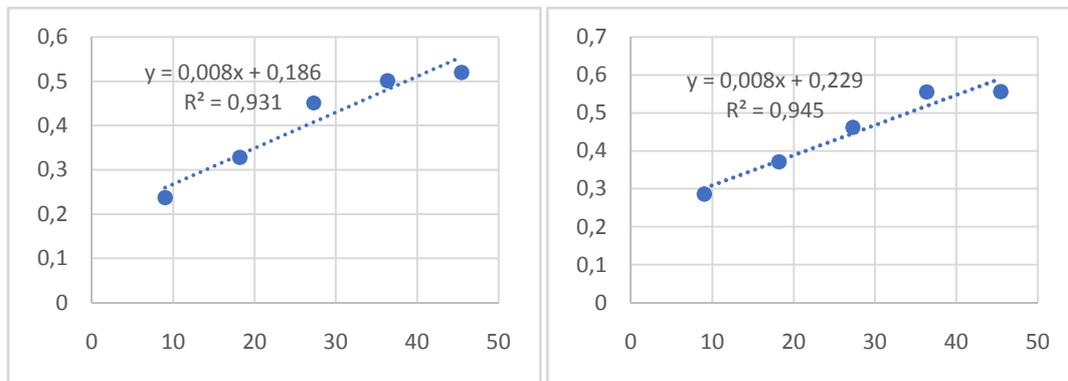
Annexe II.9 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait acétonique 100% dans le test au DPPH*



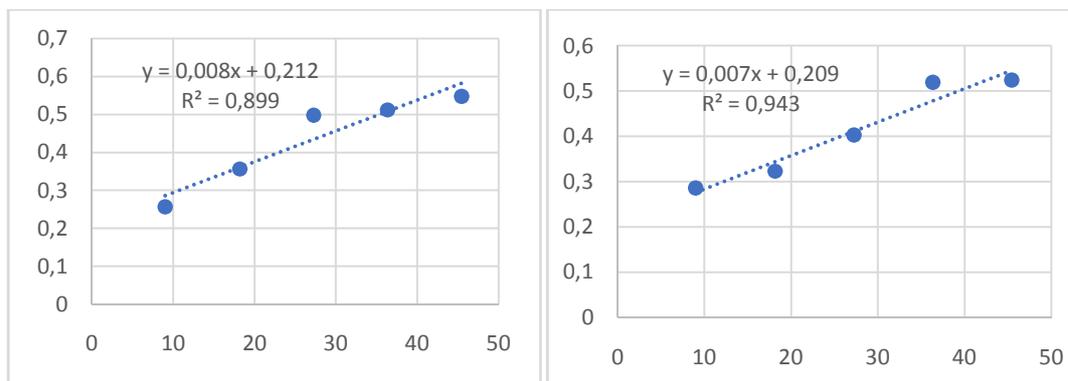
Annexe II.10 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait aqueux dans le test au DPPH'



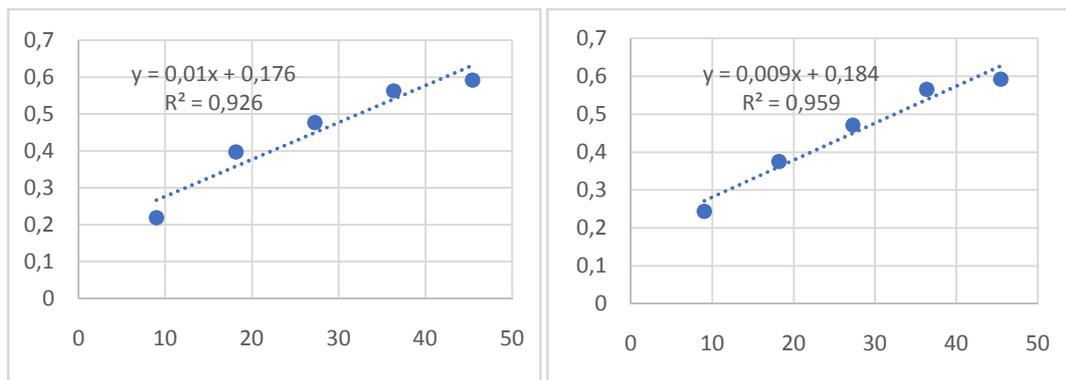
Annexe II.11 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait éthanolique 30% dans le test au phosphomolybdate



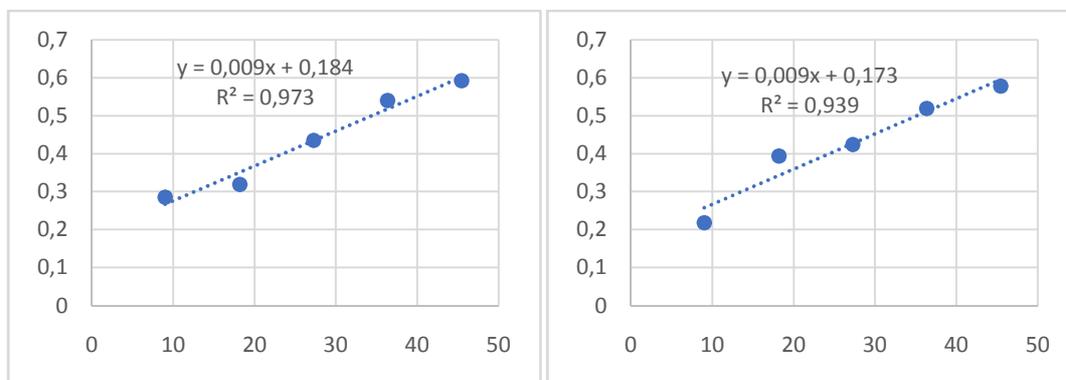
Annexe II.12 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait éthanolique 70% dans le test au phosphomolybdate



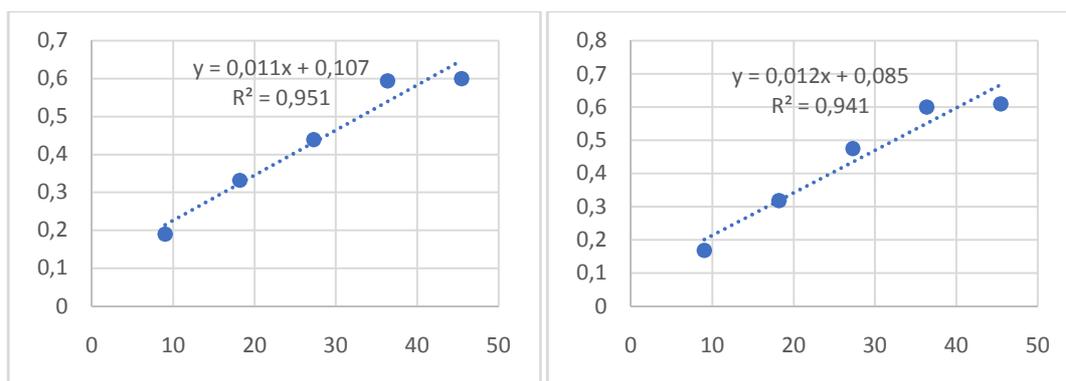
Annexe II.13 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait éthanolique 100% dans le test au phosphomolybdate



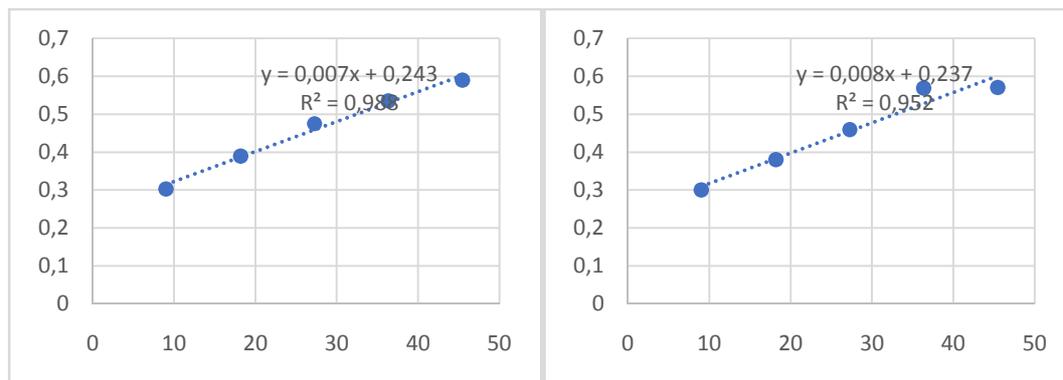
Annexe II.14 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait méthanolique 30% dans le test au phosphomolybdate



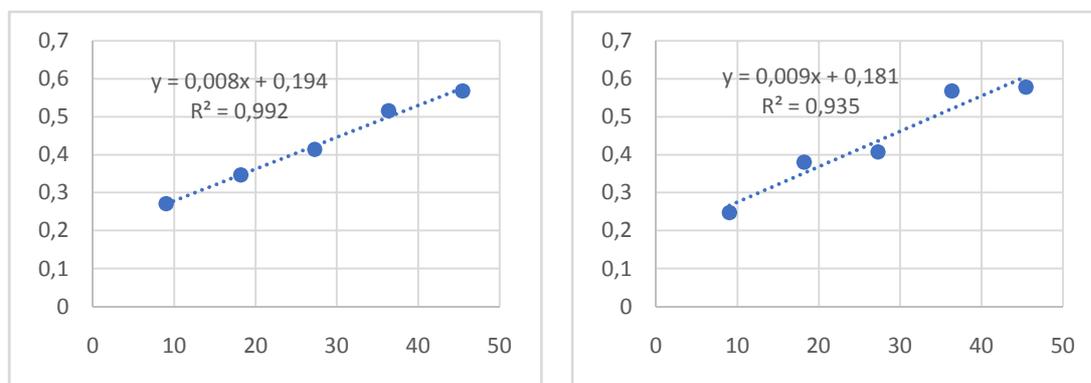
Annexe II.15 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait méthanolique 70% dans le test au phosphomolybdate



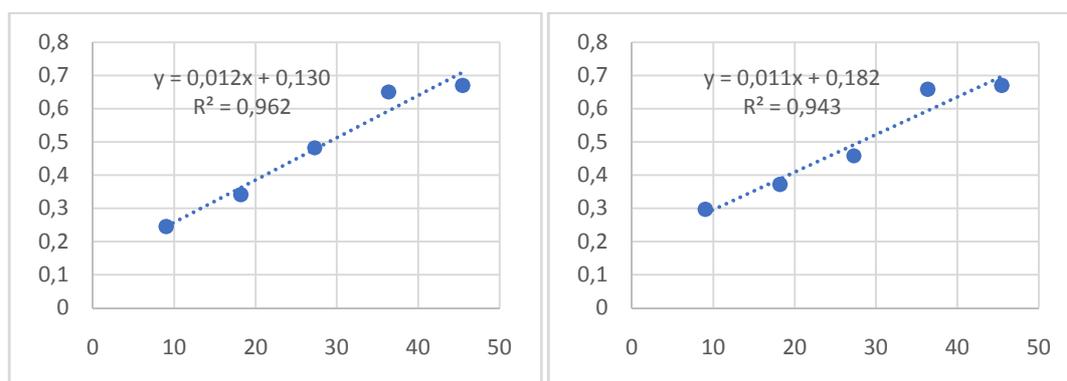
Annexe II.16 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait méthanolique 100% dans le test au phosphomolybdate



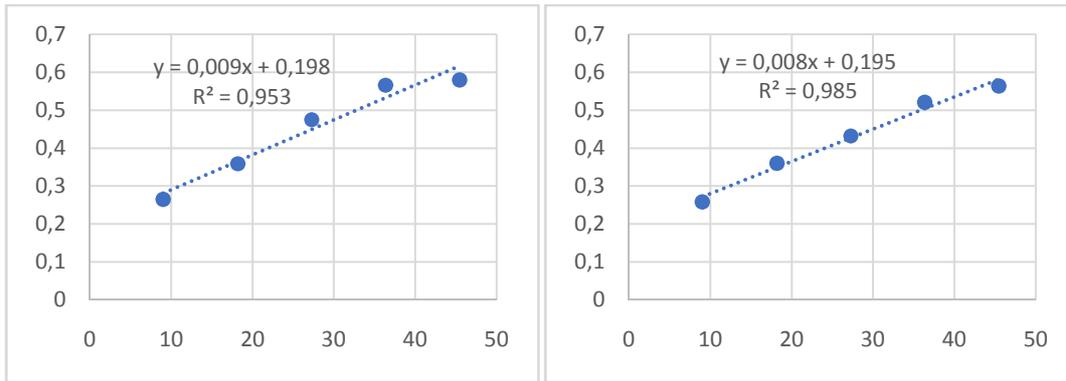
Annexe II.17 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait acétonique 30% dans le test au phosphomolybdate



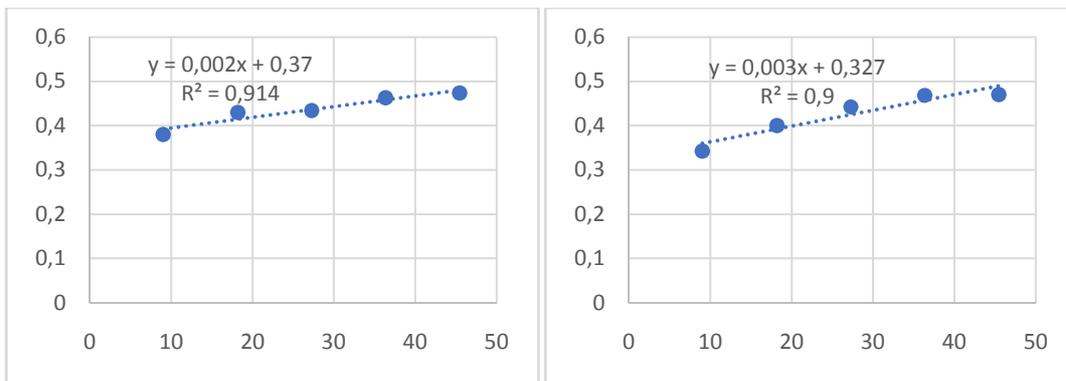
Annexe II.18 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait acétonique 70% dans le test au phosphomolybdate



Annexe II.19 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait acétonique 100% dans le test au phosphomolybdate

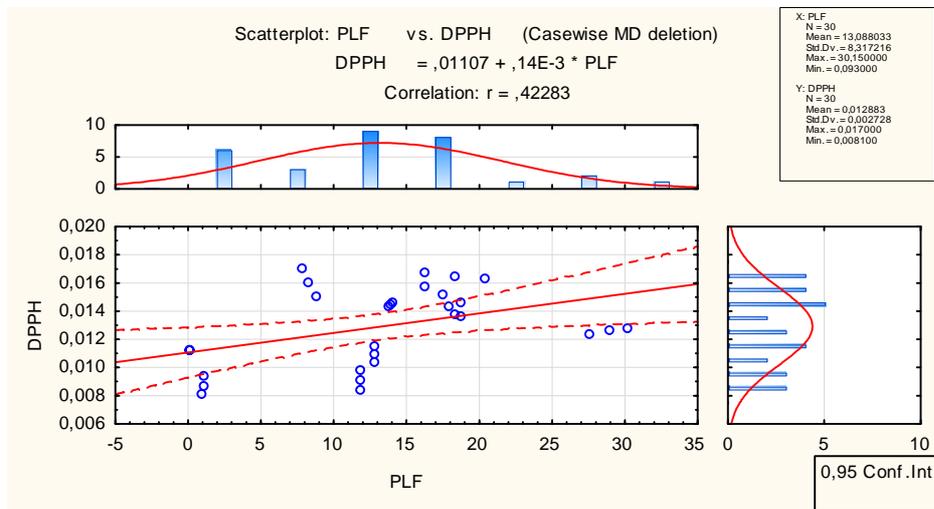


Annexe II.20 : Courbes utilisées pour le calcul d'IC₅₀ pour l'extrait aqueux dans le test au phosphomolybdate

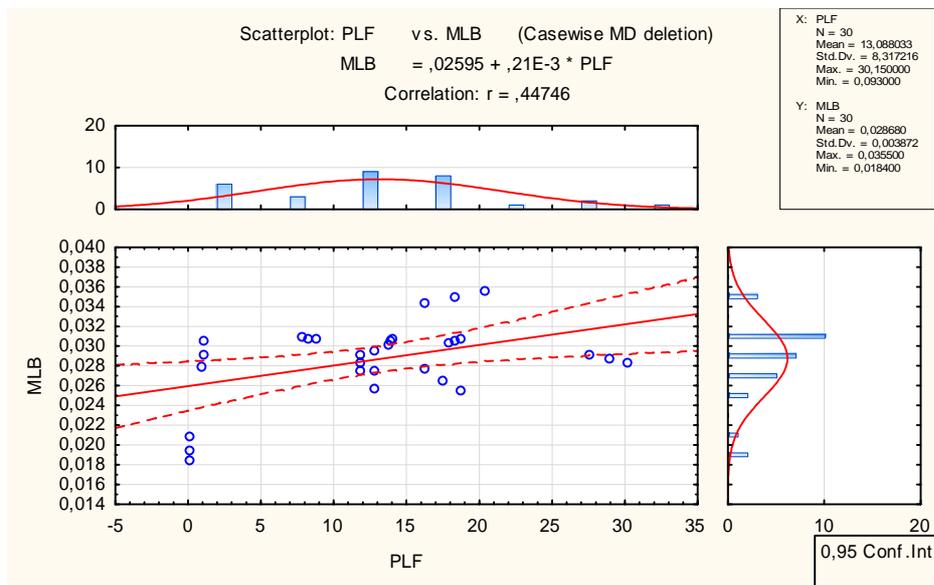


Annexe III : Résultats de corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes

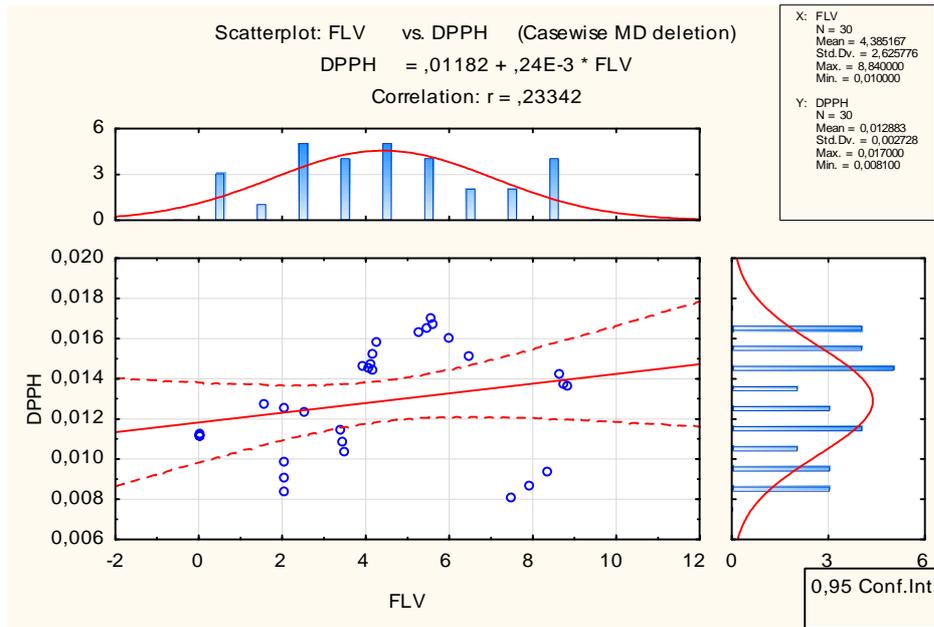
Annexe III.1: la teneur entre les polyphénols et l'activité antioxydante (DPPH*).



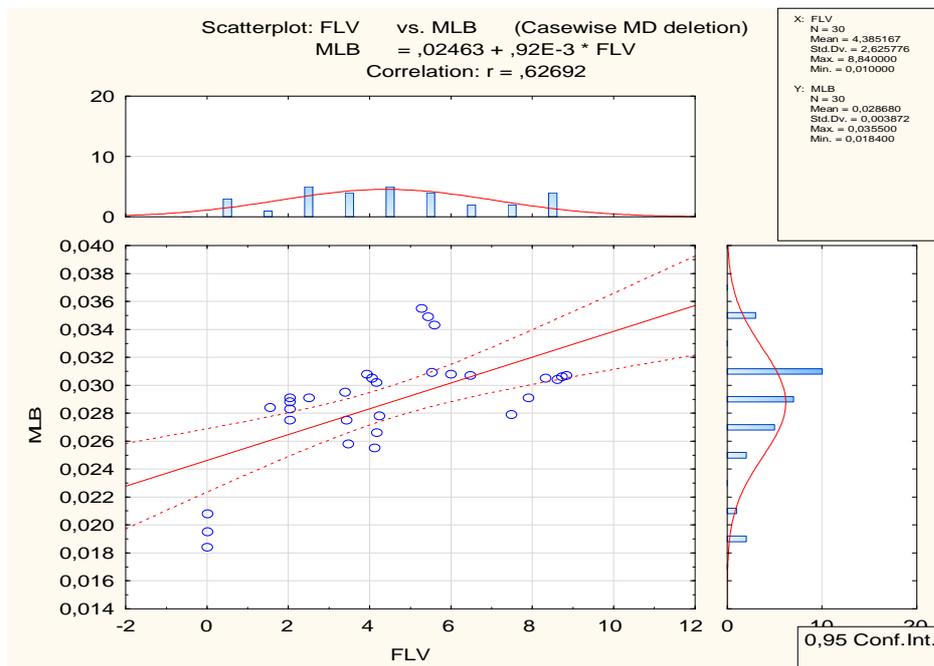
Annexe III.2: le teneur entre les polyphénols et l'activité antioxydante (Molybdate).



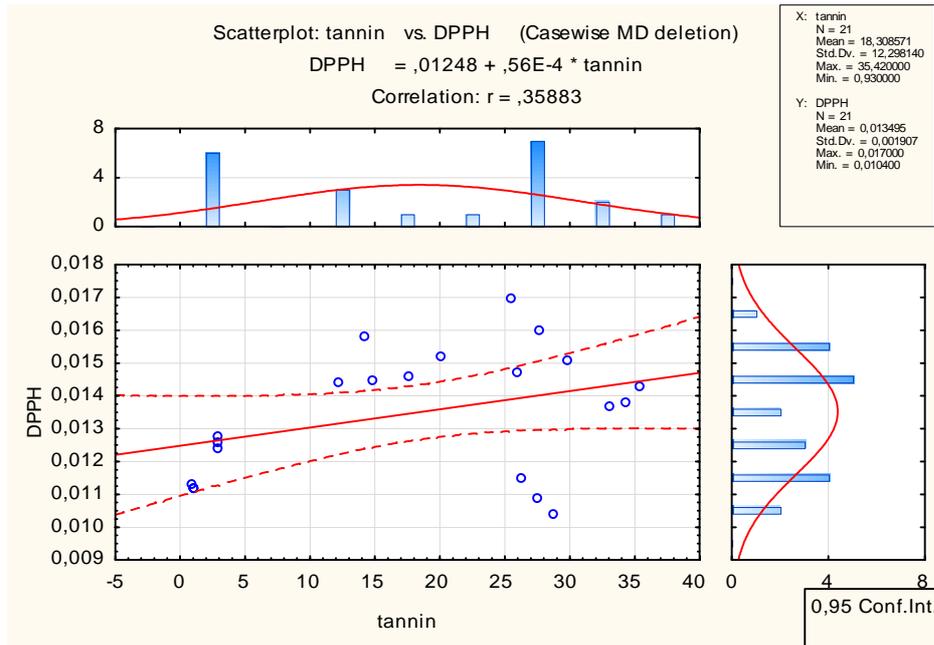
Annexe III.3 : la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante (DPPH').



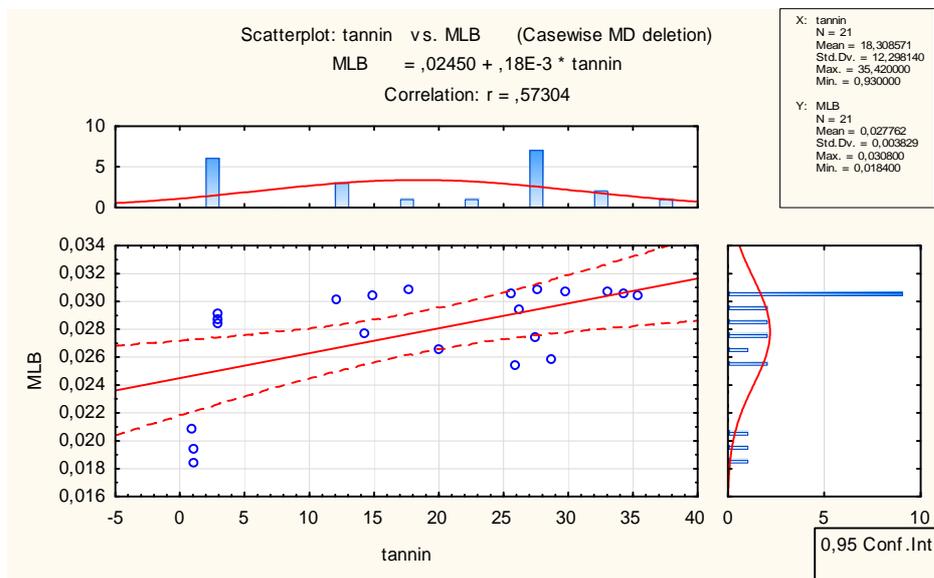
Annexe III.4 : la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante (molybdate).



Annexe III.5 : la teneur en tanins et l'activité antioxydante (DPPH*).



Annexe III.6 : la teneur en tanins et l'activité antioxydante (molybdate).



Résumé

Le développement de l'industrie pharmaceutique a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies. Cependant, les plantes médicinales ne furent jamais totalement abandonnées et les gens ne cessèrent de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir vivante les traditions thérapeutiques laissées par nos ancêtres. Ce présent travail est mené en vue d'optimiser l'extraction des composés phénoliques, par différents solvants (méthanol, éthanol, acétone et aqueux), contenus dans les feuilles de *Lycium*. Le résultat de l'étude effectuée montre que le taux d'humidité est de 14,5%. Les teneurs optimales des différents composés phénoliques sont de 28,88±1,79 mg EAG/g MS pour les phénols totaux (extrait méthanolique 30%), 8,73±0,16 mg EQ/g MS pour les flavonoïdes (extrait méthanolique 100%), enfin 34,21±1,71 EAT mg/g MS pour les tanins (extrait méthanolique 100%). L'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Lycium* a été étudiée en évaluant leur capacité à inhiber le radical libre DPPH[•], et l'activité au phosphomolybdate. Dans les deux tests, l'activité augmente avec l'augmentation des concentrations, et les résultats qui sont exprimés en IC₅₀ ont montré l'extrait préparé avec l'acétone 70% a enregistré une meilleure activité dans les deux techniques avec des valeurs de 60,46±1,18 µg/mL pour le DPPH[•] et 28,60±0,67 µg/mL pour le test au phosphomolybdate. Cette étude nous a permis ainsi de déterminer le meilleur solvant d'extraction d'antioxydants (composés phénoliques) des feuilles de *Lycium* sp.

Mots clés : *Lycium*, feuilles, solvant extraction, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

The development of the pharmaceutical industries allowed to modern medicine to treat a great number of diseases. However, the medicinal plants were never completely abandoned and people did not cease calling upon traditional medicine, which resulted in maintaining alive the therapeutic traditions left by our ancestors. This present study is undertaken in order to optimize the extraction of the compounds phenolic, using various solvents (methanol, ethanol, acetone and water), contained in the leaves of *Lycium*. The result of the current study showed that the moisture content is 14,5%. The optimal contents of the various phenolic compounds are of 28,88±1,79 Mg EAG/g MS for total phenols (methanolic 30% extract), 8,73±0,16 mg EQ/g DM for the flavonoids (methanolic 100% extract), finally 34,21±1,71 EAT mg/g DM for tanins (methanolic 100% extract). The antioxidant activity of the extracts of the leaves of *Lycium* was studied by evaluating their capacity to scavenge free radical DPPH[•], and the activity with the phosphomolybdenum test. In the two tests, the activity increases with the increase of the concentrations, and the results which are expressed in IC₅₀ showed the extract prepared with acetone 70% recorded a better activity in the two techniques with values of 60,46±1,18 µg/mL for the DPPH[•] and 28,60±0,67 µg/mL with the phosphomolybdenum test. This study has thus enabled to us to determine the best solvent for the extortion of the antioxidants (phenolic compounds) from the leaves of *Lycium* sp.

Key words: *Lycium*, leaves, solvent extraction, phenolic compounds, antioxidant activity.