



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE VEGETALE ET ENVIRONNEMENT

THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Végétale et Pharmacognosie

Intitulé:

**Evaluation biologique des Substances Naturelles de
Cyclamen africanum (Boisson et Reuter) de la
Péninsule de l'Edough. Nord-Est de l'Algérie.**

Présenté par : ALIRACHEDI-AMARI Asma

Directrice de Thèse : SERIDI Ratiba. Professeur. Université Badji Mokhtar - Annaba)

Les Membres de Jury

Président	ALI AHMED Monia	Professeur	Université Badji Mokhtar - Annaba
Co-promotrice	SADOU Nina	MCA	Université Badji Mokhtar - Annaba
Examineur:	HAMEL Tarek	Professeur	Université Badji Mokhtar - Annaba
Examineur:	BOUGHENDJIOUA Hicham	MCA	ENSET- Skikda
Examineur:	ZAOUI Lilia	MCA	Université du 20 août 1955- Skikda

Année universitaire : 2023/2024

Avant-propos

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont été menées grâce la contribution de ces laboratoires ; Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement ; Laboratoire de Biochimie, Département de Pharmacie, Faculté de Médecine et Laboratoire de Chimie Organique Appliquée de l'Université Badji Mokhtar (Annaba, Algérie). Laboratoire de Microbiologie et Laboratoire de Biochimie de Centre National de Recherche en Biotechnologie C.R.Bt. (Constantine, Algérie).



Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement ma directrice de thèse Mme **SERIDI Ratiba**, Professeure à l'Université Badji Mokhtar (Annaba- Algérie), qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, ainsi que pour sa disponibilité et pour la grande confiance qu'elle m'a accordée au long de ce travail. Ainsi que pour ses conseils, son aide au long de ces années et sa rigueur scientifique.*

*J'exprime mes sincères remerciements à mon Co-encadreur Mme **SADOU Nina**, Maître de Conférence Classe A à l'Université Badji Mokhtar (Annaba- Algérie), qui a contribué au bon déroulement de ma thèse dans des meilleures conditions, je la remercie de sa participation effective à ce travail, pour ses conseils précieux, son aide, son soutien et son amitié.*

*J'exprime toute ma gratitude à Mme **ALI AHMED Mounia**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar (Annaba- Algérie). Président du jury, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ma soutenance de thèse malgré ses multiples obligations.*

*Je m'adresse mes sincères remerciements à Mme **ZAOUI Lilia**, Maître de conférence Classe A à l'Université du 20 août 1955 (Skikda - Algérie), pour m'avoir fait l'honneur de juger mon travail de thèse en tant que rapporteuse et surtout pour l'intérêt qu'elles ont porté à ce manuscrit.*

*Je remercie également Monsieur **HAMEL Tarek**, Professeure à l'Université Badji Mokhtar (Annaba- Algérie), d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et pour m'avoir guidé lors de ma sortie sur Terrain. Qu'elle trouve l'expression de toute ma gratitude.*

*Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements à Dr. **BOUGHENDJIOUA Hicham** Maître de Conférence Classe A à L'Ecole Normale Supérieure D'enseignement Technologique De Skikda (ENSET) pour m'avoir fait l'honneur de juger mon travail de thèse.*

*Je tiens principalement à exprimer ma gratitude envers tous les membres du laboratoire de Biochimie, Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt, Constantine) pour leur atmosphère familiale favorable à la réalisation d'une partie de mon travail. En particulier j'adresse mes remerciements à **BENSOUICI Chawki** et **GALI Lynda** pour leurs aides et leurs confiances.*

*Je tiens également à remercier les Professeurs **HADEF Youcef** et **AOUF Nour-Eddine**, de m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires, me permettant ainsi d'effectuer une partie de ce travail de recherche dans les meilleures conditions.*

Je voudrais également adresser mes remerciements à tous les membres du Département de Biologie et tous mes enseignants, mes amis, et les ingénieurs du laboratoire (LBVE.).

*Un merci tout particulier à mon amie **MEKERSI Nawal**, pour son aide précieuse et son encouragement.*

Je ne pouvais finir sans remercier fortement ma Mère, qui a su me soutenir, me guider dans mes décisions et m'avoir toujours encouragé à progresser et à aller plus loin.

À mon Père : ton soutien m'a été d'une grande aide. Sans toi, je n'aurais pas atteint ce point.

Une pensée très spéciale pour toute ma famille qui m'a toujours encouragée (ma sœur, mes frères, ma belle-famille et mes cousines) pour leur soutien physique et moral tout au long de ce parcours.

À mon Conjoint qui a fait tant de sacrifices pour la réalisation de cette thèse, qui m'a apporté un grand appui dans la partie théorique et qui a toujours été là à mes côtés. Merci de m'avoir guidé.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce travail.

A mon petit Abd el Rahmen

A mon Mari Billel

A toute ma famille

" Merci d' avoir cru en moi "

Production scientifique

✓ Publication :

Asma Amari, Ratiba Seridi, Nina Sadou, Lynda Gali, Nawal Mekersi et Billel Ali Rachedi. Chemical Profiles and Biological Potential of Different Parts of *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter-A Medicinal Plant. Journal of Herbal Medicine. 2023, (42).

Mekersi Nawal, Kadi Kenza, Casini Silvia, Addad Dallila, Bazri kamel.E, Marref Salah.E., Lekmine Sabrina., **Amari, Asma**. Effects of single and combined olive mill wastewater and olive mill pomace on the growth, reproduction, and survival of two earthworm species. Appl. Soil Ecol. (2021).

Mekersi Nawal, Kadi, Kenza, Casini Silvia, Addad Dallila, **Amari Asma**, Lekmine Sabrina. Evaluation of the effects of short-term amendment with olive mill pomace on some soil properties. Soil Sci. Annu. (2022).

Mekersi Nawal, Kadi Kenza, Casini Silvia, Addad Dallila, Bazri Kamel.E, Marref Salah.E., Lekmine Sabrina, **Amari Asma**. Effects of single and combined olive mill wastewater and olive mill pomace on the growth, reproduction, and survival of two earthworm species (*Aporrectodea trapezoides*, *Eisenia fetida*). Appl. Soil Ecol. 2021, 168.

✓ Communications Internationals :

Asma Amari, Nina Sadou et Ratiba Seridi. Phytochemical analysis of the ethanolic extract of *Cyclamen africanum* (Boiss & Reuter) collected from North-east of Algeria. 1st Joint Meeting on Natural Products Pharmacology, 24th-26th February 2022, Hotel Royal Continental. Naples, Italia.

Asma Amari, Nina Sadou , Nawal Mekersi, Karima Guerfi et Ratiba Seridi. Characterization and phytochemical analysis of the ethanolic extract of *africanum* (Boiss & Reuter) collected from North-east of Algeria. 1 st Tunisian- Algerian International Scientific Congress Valorization of Natural Resources and Biomonitoring. 20, 21 & 22 December 2023 Amir Palace-Monastir, Tunisia.

Asma Amari, Karima Guerfi, Bocuhra Harsa, Bensouissi Chawki, Nina Sadou et Ratiba Seridi. Teneur en composée phénoliques activité antioxydante de l'extrait éthanolique de l'espèce

Cyclamen africanum. 3rd International Symposium Medicinal Plants and Materiel (MPM-2020) on February 25 to 27, 2020 organized in University of Larbi Tebessi-Tebessa, Algeria.

✓ **Communication Nationale :**

Asma Amari, Lynda Gali, Nawal Mekersi, Nina Sadou et Ratiba Seridi. Etude histologique et teneur en composés phénoliques de l'extrait éthanolique d'une Plante Médicinale de la péninsule de l'Edough *Cyclamen africanum* (Boisson et Reuter). 1er Séminaire National des Plantes Aromatiques et Médicinales de L'Est Algérien (SNPAMEA) 14th-15 Septembre 2021, Skikda.

Amari Asma, Nawal Mekersi, Nina Sadou et Ratiba Seridi. Activité antioxydante et teneur en composés phénoliques d'une plante médicinale endémique de la péninsule de l'Edough (Seraidi): *Cyclamen africanum* (Boisson et Reuter). 2^{ème} Séminaire National de Toxicologie, 17th Mars 2022. Annaba.

Asma Amari, Benouchenne Djamila, Rima Yakoubi, Nina Sadou et Ratiba Seridi. Extraction éthanolique et étude histologique d'une plante médicinale de la péninsule de l'Edough *Cyclamen africanum* (Boisson & Reuter) Nord-Est Algérien. 1st Scientific Day on the Biology of Medicinal Plants _ BMP _2020, 22 Janvier 2020. Tebessa.

Bouchra Harsa, Fawzi Chaib, **Asma Amari**, Souhil Maalem, Nina Sadou et Ratiba Seridi. Etude phytochimique d'une Astéragée (*pallenis hierochuntica*) de la région semi aride Algérienne. 3rd International Symposium Medicinal Plants and Materiel (MPM-2020) on February 25 to 27, 2020, organized in University of Larbi Tebessi-Tebessa, Algeria.

Nawal Mekersi, Kenza Kadi, **Asma Amari** et Sabrina Lekmine, Effect of single and combined olive wastewater and olive mill pomace on the growth, reproduction, and survival of two earthworm species (*Aporrectodea trapezoides*, *Eisenia fetida*). 1st National Seminar on Biotechnology Medicinal plants and their Involvement in the pharmaceutical and food Industries. December 13, 14 th 2021, Oum EL Bouaghi, Algeria.

Nakib Rifka, Bensouissi Chawki, **Asma Amari** et Oulhadj Akli, caractérisation et étude du pouvoir antiradicalaire des miels de l'Algérie moins connus et moins consommés. The First National Seminar of Bioactive Molecules entitled; Valorization of Medicinal Plants to fight cell damage. November 18&19, 2019, Oum El Bouaghi, Algeria.

Nawal Mekersi, Kenza Kadi, **Asma Amari** et Dallila Addad, soil amendment by olive mill pomace (OMP) improving soil quality).1er Séminaire National Biodiversité, Biotechnologie et Développement durable. 16 Avril 2022, Ghardaia, Algeria.

Abréviations

Liste des abréviations

DPPH: 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl.

ABTS: 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).

ROS: Réactif Oxygen Species.

CI50: Concentration Inhibitrice à 50%.

GAE: Gallique Acid Equivalent.

BHT: Butyl Hydroxy Toluène.

BHA: Butyl Hydroxy Anisole.

UV: Ultra-Violet.

°C : Degré Celsius.

APG: Angiosperm Phylogeny Group.

H2O2: Peroxyde d'hydrogène.

R•: Radical libre.

%: Pourcentage.

µg: Microgramme.

mL: Millilitre.

nm: Nanomètre.

min: Minute.

% : Pourcentage.

mg: Milligramme.

g: Gramme.

Rd: Rendement.

h: Heure.

pH : Potentiel hydrogène.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

BAW : nButanol / Acétate / Eau.

g: Gramme.

$\frac{1}{2}$: Un demi.

μ l : Microlitre.

R_f : Rapport frontal.

Cm : Centimètre.

et al., : Et autres auteurs.

Fe²⁺ : Ions ferreux.

Fe³⁺ : Ions ferriques.

mm: Millimètre.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

V : Volume.

V/V /V : Volume par volume par volume.

Liste des figures

Numéro	Figure	Page
01	Exemple de formes, motifs et couleurs de fleurs et feuilles de quelques espèces de <i>Cyclamen</i> ; <i>C. africanum</i> (A), <i>C. balearicum</i> (B), <i>C. hederifolium</i> (C), <i>C. cilicium</i> (D), <i>C. rohlfsianum</i> (E), <i>C. cyprium</i> (F), <i>C. libanoticum</i> (G), <i>C. coum</i> (H).	04
02	Répartition géographique des espèces appartenant du genre <i>Cyclamen</i> d'après Grey (1997).	05
03	Schéma d'un phénol simple (C6) (Garcia et al., 2010).	13
04	Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe (Boros et al., 2010)	14
05	Effets biologiques des polyphénols (Martinet Andriantsitohaina, 2002).	15
06	Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et al., 2001).	16
07	Localisation géographique de la région de récolte (Oualarbi et Zeghiche, 2009).	17
08	Morphologie de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut). (A) : Aspect général, (B) : Pétiole, (C) : Feuille, (D): Tubercule.	18
09	Herbier de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	19
10	Vue spatiales de l'Habitat de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	20
11	Séchage de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) (a) : tubercule ; (b) : feuille ; (c) : pétiole.	21
12	Système d'extraction au Soxhlet.	23
13	Dispositif utilisé pour réalisé la'HPLC.	27
14	Observation microscopique d'une coupe transversale de la racine de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss & Reuter); A : Vue générale (GX10) ; B : vue détaillée Assise pilifère (GX40) ; C : vue détaillée cylindre centrale (GX40).	35

	PH : phloème ; XY : xylème ; CA : cambium ; PM : parenchyme médullaire ; RD :Rhizoderme ;PA : Poils absorbants ; AP : Assise pilifère ; CC : Cylindre centrale.	
15	Coupe transversale du pétiole de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut). (A) : vue d'ensemble du pétiole (GX4) ; (B) : vue générale du pétiole (GX10) ; (C) : vue détaillée de faisceaux conducteurs (GX40) ; (D) : vue détaillée de l'épiderme (GX10) ; (E) : vue détaillée des poils tecteurs (GX40). EP : épiderme ; PM : parenchyme médullaire ; PH : phloème ; XY I : xylème primaire ; XY II : xylème secondaire ; CA : cambium ; PT : poil tecteur.	36
16	Coupe transversale de la feuille de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) ; (A) : Vue générale (GX4). (B) : Vue générale (GX10). (C) : Vue de détail d'épiderme(GX40). (D) : Vue détaillée de faisceaux conducteurs (GX40). (E) : Vue détaillée de parenchyme palissadique (GX40). (F) : Vue détaillée de Macles d'oxalate de calcium (GX100). (G) Vue détaillée d'un poil tecteur(GX40) ; EI : épiderme inférieure ; ES : épiderme supérieure ; PH : phloème ; XY : xylème ; CA : cambium ; PT : poil tecteur ; PL : parenchyme lacuneux ; P : parenchyme ; MOC : Macles d'oxalate de calcium.	37
17	Observation microscopique des stomates du <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss& Reut), de type Paracytique ; (A) : Vue générale des stomates (GX40), (B) : Détail d'un stomate (GX100).	38
18	Rendement des extraits bruts de différentes parties de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	42
19	Courbe d'étalonnage de l'absorbance de la quercétine en fonction des concentrations.	43
20	Courbe d'étalonnage d'acide gallique en fonction des concentrations.	44
21	Chromatogramme de l'extrait des pétioles de <i>C. africanum</i> (Boiss&Reut).	47
22	Chromatogramme de l'extrait des feuilles de <i>C. africanum</i> (Boiss&Reut).	47

23	Chromatogramme de l'extrait des tubercules de <i>C. africanum</i> (Boiss&Reut).	47
24	Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïque de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) et des standards contre le radical DPPH.	50
25	Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) par les extraits éthanoïque de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) et des standards.	51
26	Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïques de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) et de standards contre l'ABTS.	52
27	Activité de phenanthroline par les extraits de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	53
28	Courbe de pourcentage d'inhibition du β -carotène par les extraits éthanoïque de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) et des standards.	54
29	Courbe de pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) testé par la méthode de FRAP.	54
30	Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïque de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) et des standards sur les ions chélates.	55
31	Activité des extraits de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) sur les anions superoxydes.	56
32	Effet inhibiteur des extraits de <i>C. africanum</i> (Boiss&Reut). (a) et de l'acarbose (b) à différentes concentrations sur l' α -glucosidase. Chaque point représente la moyenne de trois mesures parallèles.	59
33	Valeurs de protection solaire (SPF) des extraits de <i>C. africanum</i> (Boiss&Reut). Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de trois mesures. Les colonnes portant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).	61
34	Effet antimicrobien du tubercule de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	62
35	Effet antimicrobien du pétiole de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	61
36	Effet antimicrobien de la feuille de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	61

Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
01	Classification botanique de <i>Cyclamen africanum</i> Boiss&Reut. selon (Quezel et Santa, 1963).	07
02	Travaux antérieure réalisés sur le genre <i>Cyclamen</i> (Mazouz, 2014).	10
03	Les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés.	22
04	Différents systèmes d'élution utilisés pour la CCM.	26
05	Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006	32
06	Valeurs de FPS et pourcentage correspondant de blocage des rayons UV.	33
07	Liste des souches utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	33
08	Profil phytochimique des différents organes de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss& Reut).	41
09	Rendement des extraits obtenus de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss& Reut).	42
10	Les flavonoïdes totaux des extraits éthanoloïques de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).	44
11	Résultat de la séparation par CCM d'extrait de la feuille de <i>Cyclamen africanum</i> dans le système de solvant B.A.W (60 : 15 : 25) (v/v/v).	45
12	Résultat de la séparation par CCM d'extrait de la feuille de <i>Cyclamen africanum</i> dans le système de solvant B.A.W (60 : 15 : 25) (v/v/v).	46
13	Valeurs IC ₅₀ des extraits de <i>C. africanum</i> B. &R. contre l'acétylcholinestérase.	58
14	Activité antimicrobienne des différentes concentrations des extraits éthanoloïques de différentes parties (feuilles, tubercules, pétioles) de <i>C. africanum</i> (Boiss&Reut).	62

RESUME

L'objectif du présent travail consiste en la valorisation des ressources naturelles végétales algériennes. *Cyclamen africanum* Boisson & Reuter (Primulaceae), Plante Médicinale répandue dans le Nord-est de l'Algérie est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques.

Selon nos connaissances aucune littérature n'a été mentionnée sur la composition chimique de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) Le but de notre étude était l'évaluation des propriétés histologiques, phytochimiques des teneurs en phénols et en flavonoïdes des extraits éthanoliques de cette espèce; ainsi que l'évaluation des activités pharmacologiques.

L'identification des composés phénoliques des extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a été établie pour la première fois par la technique de la Chromatographie en Phase Liquide (HPLC). Les résultats ont décelé la présence de composants phénoliques tels que la rutine, l'acide chlorogénique, l'acide caféique et le kaempférol.

L'activité anti-oxydante a été effectuée par huit tests différents et l'extrait de la feuille a montré l'activité antioxydante la plus élevée. Cette activité peut être attribuée à la teneur élevée en composés phénoliques observée dans l'extrait de feuilles. Cet extrait a également montré sa capacité à bloquer environ 96% du rayonnement UV et a été classé dans la catégorie "Haute protection" avec un facteur de protection (SPF= $30,90 \pm 0,21$). Les extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) ont montré un effet inhibiteur intéressant de l'alpha-glucosidase plus actif que le contrôle positif acarbose, l'extrait pétiole était le plus efficace avec une valeur CI_{50} de $47,13 \pm 3,98$ $\mu\text{g/mL}$. Tous les extraits n'ont montré aucun effet d'inhibition contre l'enzyme liée à la maladie d'Alzheimer. L'activité antimicrobienne évaluée par la méthode de diffusion sur gélose a montré que les extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) ont plus un pouvoir antibactérien.

Mots clés : *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), Histologie, Polyphénols et flavonoïdes, Activité antioxydante, Activité anti-alpha-glucosidase, Activité anti-Alzheimer, Activité antibactérienne, SPF.

ABSTRACT

The objective of the present work is the knowledge of Algerian natural resources in medicinal plants. *Cyclamen africanum* (Prumulaceae), Medicinal plant widespread in the Northeast of Algeria widely used in traditional medicine for its interesting therapeutic properties.

No literature was found on the chemical composition of *Cyclamen africanum*. The aim of the current study was to evaluate the histological, phytochemical, pharmacological activities and the phenol and flavonoid content of the plant's ethanolic extracts.

The identification of the phenolic constituents of *C. africanum* extracts was established for the first time using the HPLC technique. The HPLC results detected the presence of phenolic components such as rutin, chlorogenic acid, caffeic acid, and kaempferol.

Antioxidant activity was assessed using eight different tests, with the leaf extract showing the highest antioxidant activity. This activity can be attributed to the high phenolic compound content observed in the leaf extract. This extract also showed its ability to block around 96% of UV radiation and was classified in the "High protection" category with a protection factor (SPF= 30.90 ± 0.21). *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) extracts showed an interesting alpha-glucosidase inhibitory effect more active than the acarbose positive control, the petiole part was the most effective with an IC₅₀ value of 47.13 ± 3.98 µg/mL. All extracts had no inhibitory effect against the enzyme linked to Alzheimer's disease. Antimicrobial activity assessed by the agar diffusion method; shows that ethanolic extracts of *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) do not have any antibacterial power.

Key words: *Cyclamen africanum* (Bois&Reut), Histology, Polyphenols and flavonoids, Antioxidant activity, Anti-alpha-glucosidase activity, Anti-Alzheimer activity, Antibacterial activity, SPF.

المخلص

إن الهدف من هذا العمل هو معرفة الموارد الطبيعية الجزائرية في النباتات الطبية. بخور مريم الأفريقي او خبزة الديب (*Cyclamen africanum*)، نبات طبي واسع الانتشار في شمال شرق الجزائر يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لخصائصه العلاجية المثيرة للاهتمام.

لم يتم العثور على أي مؤلفات حول التركيب الكيميائي لبخور مريم. لذلك كان الهدف من الدراسة الحالية هو تقييم الأنشطة النسيجية والكيميائية والدوائية ومحتوى الفينول والفلافونويد في المستخلصات الإيثانولية للنبات.

تم التعرف على المكونات الفينولية لمستخلصات بخور مريم لأول مرة باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا HPLC. كشفت النتائج عن وجود مكونات فينولية مثل الروتين وحمض الكلوروجينيك وحمض الكافيك والكامبفيرول.

تم تقييم نشاط مضاد الأكسدة باستخدام ثمانية اختبارات مختلفة، حيث أظهر مستخلص الأوراق أعلى نشاط مضاد للأكسدة. يمكن أن يعزى هذا النشاط إلى المحتوى العالي للمركب الفينولي الذي لوحظ في مستخلص الأوراق.

كما أظهر هذا المستخلص قدرته على حجب حوالي 96% من الأشعة فوق البنفسجية وتم تصنيفه ضمن فئة "الحماية العالية" بعامل حماية $SPF = 30.90 \pm 0.21$.

أظهرت مستخلصات بخور مريم الأفريقي تأثيرًا مثبتًا مثيرًا للاهتمام لإنزيم ألفا جلوكوزيداز أكثر نشاطًا من السيطرة الإيجابية للأكاربوز، وكان الجزء السويقات هو الأكثر فعالية مع قيمة الجرعة المميتة 50 تبلغ 3.98 ± 47.13 ميكروغرام / مل من المستخلص. إلا انه لم يكن لجميع المستخلصات أي تأثير مثبت ضد الإنزيم المرتبط بمرض الزهايمر. اظهر تقييم نشاط مضادات الميكروبات على سلالات بكتيرية معينة أن المستخلصات الإيثانولية لبخور مريم ليس لديها قدرة مضادة للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: بخور مريم الأفريقي (*Cyclamen africanum*)، علم الأنسجة، البوليفينول والفلافونويد، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد ألفا جلوكوزيداز، نشاط مضاد للزهايمر، نشاط مضاد للبكتيريا، عامل الحماية من الشمس (SPF).

Sommaire

Sommaire

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Partie I : Bibliographie.	
Chapitre I : Aperçu sur l'espèce <i>Cyclamen africanum</i> (Boisson&Reuter).	
1.1. Généralité sur la famille de Primulaceae.....	03
1.2. Présentation du Genre <i>Cyclamen</i>	03
1.3. Répartition géographique du Genre <i>Cyclamen</i>	05
1.4. Propriétés et utilisations du genre <i>Cyclamen</i>	05
1.5. L'espèce <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).....	06
1.5.1. Description botanique.....	06
1.5.1.1. Appareil végétatif et souterrain.....	06
1.5.1.2. Appareil reproducteur	07
1.5.2. Classification et systématique de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut)	07
Chapitre II Travaux antérieurs et principaux métabolites secondaires isolés du genre <i>Cyclamen</i>.	
2.1. Etude pharmacologiques et phytochimiques du genre <i>Cyclamen</i>	07
2.1.1. Etude pharmacologiques	08
2.1.1.1. Activité anticancéreuse	08
2.1.1.2. Activité antioxydante	08
2.1.1.3. Activité insecticide	09
2.1.1.4. Activité larvicide	09
2.1.1.5. Activité anti-inflammatoire	09
2.1.1.6. Activité hépatique	10
2.1.1.7. Génétique.....	10
2.1.2. Etude phytochimiques	12
Chapitre III Les polyphénols et les flavonoïdes.	
3.1. Les polyphénols.....	13

3.1.1. Introduction	13
3.1.2. Structures chimique et classification.....	13
3.1.3. Effets biologiques des polyphénols.....	15
3.2. Les flavonoïdes (C6-C3-C6).....	15
3.2.1 Généralités et structures.....	15
3.2.2. Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes	16

Partie II : Matériel et Méthodes.

1. Présentation de la zone d'étude : La situation géographique	17
2. Matériel végétal	18
3. Méthodes d'analyse	21
3.1. Traitements des échantillons	21
3.2. Technique histologique	21
3.3. Screening phytochimique	22
3.4. Préparation de l'extrait éthanolique.....	22
3.5. Technique de dosage des polyphénols et des flavonoïdes	23
3.5.1. Total Phénolique	23
3.5.2. Total Flavonoïde	24
3.6. Analyse qualitative.....	25
3.6.1. Méthode de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	25
3.6.2. Méthode d'analyse des extraits par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	26
3.7. Méthodes des activités biologiques	27
3.7.1. Activités antioxydante	27
3.7.1. 1. Activité antiradicalaire au DPPH	27
3.7.1. 2. Activité de la chélation des ions métallique	28
3.7.1.3. Activité de blanchissement du β -carotène.....	28
3.7.1.4. Activité du piégeage de l'ABTS.....	29
3.7.1.5. Piégeage de l'anion superoxyde	29
3.7.1.6. L'activité de phenanthroline.....	30
3.7.1.7. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	30
3.7.1.8. Test du Pouvoir réducteur	30
3.7.2. Méthode de l'activité anti-cholinestérase.....	30
3.7.3. Activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase	31
3.7.4. Activité photoprotectrice : FPS (Facteur de Protection Solaire).....	31
3.7.5. Activité antibactérienne	33

3.7.5.1. Méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme).....	33
3.7.6. Méthodes d'analyses statistiques	34
Partie III Résultats et discussion.	
3. 1. Histologie de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).....	35
3. 1.1. Structure de la racine de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).....	35
3.1.2. Structure du pétiole de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).....	36
3.1.3. Structure de la feuille de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut).....	37
3.2. Screening chimique de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss& Reut).....	41
3.3. Détermination du rendement des extraits de <i>Cyclamen africanum</i>	42
3.4. Composition chimique de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut)	43
3.4.1. Teneurs des flavonoïdes.....	43
3.4.2. Teneurs des polyphénols totaux	44
3.5. Analyse par la Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	45
3.6. Composition chimique de l'extrait éthanolique de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut) par HPLC	46
3.7. Activités pharmacologiques de <i>Cyclamen africanum</i> (Boiss&Reut)	49
3.7.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante	49
3.7.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	49
3.7.1.2. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)	50
3.7.1.3. Activité antioxydante déterminée par la méthode d'ABTS.....	51
3.7.1.4. Activité antioxydante par la méthode de Phenanthroline	52
3.7.1.5. Test du blanchissement du β -carotène (β -carotene bleaching method)	53
3.7.1.6. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power).....	54
3.7.1.7. Activité du métal chélate	55
3.7.1.8. Piégeage de l'anion superoxyde	55
3.7.2. Evaluation de l'activité d'inhibition de l'enzyme acétylcholine estérase (AChE) et α - glucosidase	58
3.7.3. Activité photoprotectrice déterminée par la méthode FPS (Facteur de Protection Solaire)	60
3.7.4. L'activité antimicrobienne.....	61

Conclusion et perspectives.

Références bibliographiques.

Introduction générale

Introduction

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (NOS) sont continuellement produites dans les organismes aérobies et jouent de nombreux rôles physiologiques. L'exposition à des facteurs externes tels que les rayons UV peut également stimuler la production de radicaux libres. En chimie, un radical libre est un atome ou une molécule dont la structure chimique est caractérisée par la présence d'un électron libre, rendant cette espèce chimique beaucoup plus réactive que l'atome ou la molécule dont elle est issue (Pincemail *et al.*, 2001). La surproduction de ces espèces peut entraîner de nombreux troubles métaboliques, inflammatoires et neurodégénératifs, dont le cancer et le diabète (Afonso *et al.*, 2007).

Le diabète sucré de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) est le diabète sucré le plus répandu, avec une prévalence d'environ 90 %. Le DNID se caractérise par une hyperinsulinémie accrue et un dysfonctionnement de sa sécrétion, ce qui entraîne une élévation de la glycémie (Bourebaba *et al.*, 2016; Chatterjee *et al.*, 2017). La prise en charge de cette pathologie repose principalement sur l'administration d'agents hypoglycémisants oraux, notamment des inhibiteurs de l' α -glucosidase et de l' α -amylase, qui visent à réduire la glycémie et à prévenir les complications pathologiques (Tundis *et al.*, 2010).

Le stress oxydatif jouerait un rôle central dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer (Gali et Bedjou, 2019). L'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) responsable de la fin de la transmission par son action sur la neurotransmission de l'acétylcholine (ACh) représente le remède essentiel disponible pour améliorer les symptômes cognitifs, comportementaux et fonctionnels des patients (Scarpini *et al.*, 2003). Divers extraits de plantes médicinales ont fait l'objet d'études approfondies par les pharmacologues du diabète pour leur potentiel antidiabétique (Naveen *et al.*, 2021). Le besoin de nouvelles molécules thérapeutiques pour gérer le diabète de type 2 et la maladie d'Alzheimer est principalement lié à la toxicité des médicaments actuellement disponibles sur le marché (Seltzer, 2006). L'utilisation de molécules naturelles ayant divers effets thérapeutiques et une faible toxicité peut être considérée comme un outil prometteur pour le traitement de ces maladies (Gali et Bedjou, 2019).

Les Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) sont utilisées depuis l'antiquité pour traiter diverses maladies (Sofiane et Seridi, 2021a). Par exemple, 85 % des indiens utilisent des préparations à base de plantes brutes pour traiter divers maux et maladies. Au moins 25 % des produits pharmaceutiques prescrits dans le monde sont directement obtenus à partir de plantes. Environ 119 substances chimiques pures extraites de plantes sont utilisées en médecine dans le

monde entier (Bendjedid et *al.*, 2020). Cependant, les plantes dont l'utilisation en phytothérapie est rare, moins fréquente ou inconnue peuvent représenter une nouvelle source de composés actifs (Turan et Mammadov, 2018).

Les propriétés biologiques de la plante tiennent principalement à leur composition phytochimique (Sofiane et *al.*, 2021c). La famille des polyphénols est un grand groupe de métabolites secondaires des plantes (De Godoi et *al.*, 2020) qui se caractérise par de nombreuses activités pharmacologiques et biologiques. Les polyphénols les plus courants sont les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins (Dimkić et *al.*, 2021). L'extraction par solvants est une méthode efficace pour récupérer les flavonoïdes des plantes médicinales; la quantité de ces composés dans chaque extrait varie en fonction de la plante (Kasmi et *al.*, 2021).

Les plantes du genre *Cyclamen* ont été utilisées comme plantes ornementales et médicinales (Turan et Mammadov, 2018). Dans plusieurs études, il a été rapporté que certaines espèces du genre *Cyclamen* influencent le développement de la toxicité et de la cancérogenèse (Arslan et *al.*, 2011).

Cyclamen africanum Boiss&Reut est une plante médicinale appartenant à la famille des Primulaceae (Israa et *al.*, 2017). Le nom *Cyclamen* est la transposition du mot grec : cercle ou couronne. Son nom commun est pain de porc ; Les porcs se nourrissent de ses tubercules (Widmer, 1992). Les populations égyptiennes, grecques et romaines utilisaient cette plante pour traiter de nombreuses maladies telles que les troubles digestifs, les spasmes de la vessie, les douleurs rhumatismales, les infections et diverses maladies de la peau (Mazouz et Djeddi, 2013). L'étude des propriétés pharmacologiques des plantes locales pourrait constituer leur valorisation (El Aanachi et *al.*, 2020).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, notamment *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) récoltée dans le massif de l'Edough à Séraïdi (Nord-Est Annaba) et la recherche de nouvelles biomolécules.

Notre travail de recherche est divisé en trois parties

- La première partie est consacrée à l'étude bibliographique de l'espèce étudiée.
- La deuxième partie décrit les méthodes et les conditions opératoires utilisées dans cette étude.
- La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats et leurs interprétations.

Notre étude s'achève par une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude et des perspectives.

PARTIE I :
Bibliographie

Chapitre I :

Aperçu sur l'espèce *Cyclamen africanum*

(Boisson & Reuter)

Chapitre I Aperçu sur l'espèce *Cyclamen africanum* (Boisson & Reuter)

1.1. Généralité sur la famille des Primulaceae:

Les primulacées, également connues sous le nom de famille des primevères, dans l'ordre des Ericales, est une famille de plantes à fleurs dicotylédones (Xu et Chang, 2017).

La famille contient 22 genres et 1000 espèces, se trouvant principalement dans les régions tempérées et montagneuses de l'hémisphère nord (Wu Zhengyi et *al.*, 2013).

Ce nom vient du genre *Primula*, premier, du latin *primus*, en raison de la floraison très précoce de ces plantes au cours de l'année. L'ordre des Primulales comprend trois grandes familles: les Primulaceae, les Myrsinaceae et les Theophrastaceae (Corner, 1961). En 2009, selon APG, les Theophrastaceae, les Myrsinaceae et les Primulaceae sont réunies en une seule famille les Primulaceae (Betina, 2014).

Plantes en général herbacées. Fleurs solitaires scapiformes ou en grappes, actinomorphes, rarement zygomorphes, 5-mères (RR 4). Etamines 5 (RR 4) épipétales. Ovaire supère à 5 carpelles, uniloculaire à graines nombreuses. Fruit capsulaire (Quezel et Santa, 1962).

1.2. Présentation du Genre *Cyclamen* :

Le nom *Cyclamen* est la transposition du mot grec : couronne ou cercle. Les porcs se nourrissent de ses tubercules, en raison de l'avidité avec laquelle les porcs recherchent leurs racines tubéreuses, son nom commun de Pain-de-porceau lui a été donné (Widmer, 1992).

Le genre *Cyclamen* occupe une position plutôt isolée au sein de la famille des Primulales et bénéficie généralement de sa propre tribu chez les Primulacées, les Cyclaminées (Gray-Wilson, 2002).

Le genre se rencontre principalement dans le sud et le centre de l'Europe, l'Afrique du nord et le Moyen-Orient de la région méditerranéenne, mais s'étend au Caucase et à l'Afrique tropicale (Anderberg, 1994).

Le genre *Cyclamen* est composé de 22 espèces (Gray-Wilson, 2002). Les espèces actuellement connues sont les suivantes: *C. africanum*, *C. alpinum*, *C. balearicum*, *C. colchicum*, *C. coum*, *C. creticum*, *C. cilicium*, *C. cypricum*, *C. elegans*, *C. graecum*, *C. hederifolium*, *C. intaminatum*, *C. libanoticum*, *C. mirabile*, *C. parviflorum*, *C. persicum*, *C. pseudibericum*, *C. purpurascens*, *C. repandum*, *C. rhodium*, *C. rohlfsianum* et *C. somalense* (Takamura, 2007).

Les plantes appartenant à ce genre sont vivaces, elles sont caractérisées par de grosses tiges tubéreuses circulaires et aplaties d'où naissent les racines (Bruneton, 2005).

Les feuilles ovales-cordées, peu anguleuses ou non, sont généralement vertes foncées et marbrées au-dessus, pourprées au-dessous (Bruneton, 2005).

Les fleurs pentamères, vivement colorées (rose, rouge, blanc...). Le calice est campanulé et les divisions de la corolle (20-40mm) brusquement réfléchies; les étamines sont incluses, la gorge souvent renflée, anguleuse ou dentée (Bruneton, 2005).

Chez les grecs on les appelait déjà *kyklaminos*, de *kyklos*, cercle, soit en raison de la forme des feuilles, soit par allusion à l'enroulement des pédoncules floraux (Fournier, 1990).

Le *Cyclamen* est unique dans son estivation de la corolle tordue, le développement réduit de l'un de ses cotylédons et la croissance accrue de l'hypocotyle (Anderberg, 1994).

D'un point de vue botanique, le *Cyclamen* se distingue par un organe de réserve semi-souterrain appelé tubercule. Il permet à la plante de rentrer en dormance pendant la période estivale (Charline, 2016).

La figure 01 présente des feuilles et fleurs de quelques espèces de genre *Cyclamen* (Lecomte, 2016).



Figure 01: Exemple de formes, motifs et couleurs de fleurs et feuilles de quelques espèces de *Cyclamen* ; *C. africanum* (A), *C. balearicum* (B), *C. hederifolium* (C), *C. cilicium* (D), *C. rohlfsianum* (E), *C. cyprium* (F), *C. libanoticum* (G), *C. coum* (H).

1.3. Répartition géographique du Genre *Cyclamen* :

Les espèces du genre *Cyclamen* couvrent une aire géographique méditerranéenne assez large où elles croissent dans les régions montagneuses et fraîches : Sud de l'Europe, Ouest de l'Asie (Est de la Méditerranée du Liban, Turquie, Syrie, Chypre, la Grèce, Palestine et l'Iran) et Nord de l'Afrique (dans des zones sous influence maritime), (Grey, 1998).

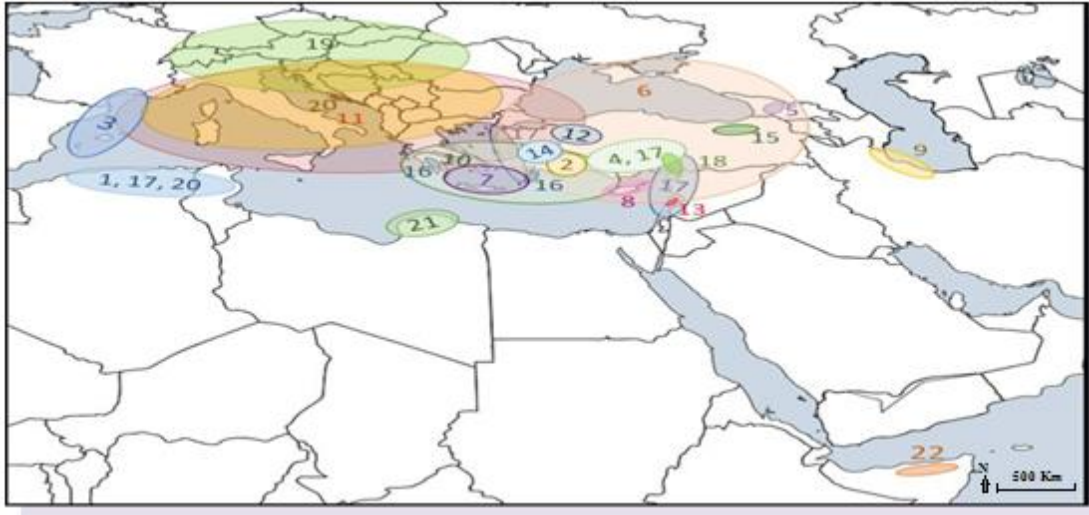


Figure 02: Répartition géographique des espèces appartenant du genre *Cyclamen* d'après Grey (1997).

C. africanum (1), *C. alpinum* (2), *C. balearicum* (3), *C. cilicium* (4), *C. colchicum* (5), *C. coum* (6), *C. creticum* (7), *C. cyprium* (8), *C. elegans* (9), *C. graecum* (10), *C. hederifolium* (11), *C. intaminatum* (12), *C. libanoticum* (13), *C. mirabile* (14), *C. parviflorum* (15), *C. peloponnesiacum* (16), *C. persicum* (17), *C. pseudibericum* (18), *C. purpurascens* (19), *C. repandum* (20), *C. rohlfsianum* (21), *C. somalense* (22).

1.4. Propriétés et utilisations du genre *Cyclamen* :

Symbole de beauté et de jalousie dans la culture occidentale, le *Cyclamen* est considéré au Japon comme la fleur sacrée de l'amour. Les plantes du genre *Cyclamen* sont utilisées comme remède contre l'air sec en hiver, les feuilles de *Cyclamen* libèrent la vapeur d'eau via leur stomate et servent ainsi de régulateur d'humidité. La plante devient alors un bel allié pour ceux qui souffrent de sécheresse oculaire et cutanée ainsi que les irritations pulmonaires. ⁽¹⁾

Egyptiens, Romains et Grecs connaissaient déjà les *Cyclamens* et utilisaient en médecine les espèces de leurs pays respectifs. Le Dr Leclerc recommande la teinture de *Cyclamen* contre les acouphènes : 10 à 15 gouttes par jour en deux ou trois fois. La même teinture est utilement employée contre les migraines rebelles et les névralgies (Fournier, 1999).

Le *Cyclamen* est un traitement des hémorroïdes et des règles douloureuses, efficaces contre la dysménorrhée et d'une grande aide contre les ecchymoses⁽¹⁾. La racine est appliquée aux tumeurs scrofuleuses, aux congestions indolentes et aux œdèmes (Cazin, 1868). Le suc était utilisé dans les frictions sur le ventre comme en purgatif et vermifuge et sur les reins comme diurétique. A plus faible dose, il servait à combattre la constipation (Fournier, 1990).

Les adeptes de l'homéopathie utilisent le tubercule frais, contre toute une série de maux : douleurs de tête et d'oreilles, maux de dents d'origine gouteuse, coryza, anorexie, trouble de la digestion, spasmes vésicaux, engorgements du foie et de la rate, météorisme, crises de coliques, douleurs rhumatismales et gouteuses sans manifestations fébriles, certaines névroses du cœur, teigne, aménorrhée, dysménorrhée, démangeaison intolérables, crampes des membres inférieurs et diverses maladies de peau (Fournier, 1999).

L'espèce *Cyclamen mirabile* est utilisé comme antifongique contre les espèces *Cryptococcus neoformans* et *Candida*, tandis que *Cyclamen hederifolium* est utilisé comme anti-verrues et contre les engelures (Mazouz et Djeddi 2013).

1.5. L'espèce *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut):

1.5.1. Description botanique:

1.5.1.1. Appareil végétatif et souterrain:

Plante vivace à souche tuberculeuse (Quezel et Santa, 1962). Tubercules peuvent atteindre un diamètre de 14 cm ou plus, déprimés-globuleux, souvent creusé au-dessus et dans les spécimens matures devenant rugueux et liégeux et plutôt feuilleté en surface, s'enracinant plus ou moins partout sur la surface, en particulier sur les épaules et la base, parfois plutôt inégalement (Gray-Wilson, 2002).

Feuilles large en forme de cœur à ovales. 5,3-18 cm de long, 4,6 à 18 cm de large, souvent incliné ou peu profondément lobé, avec une marge finement à assez grossièrement dentée, généralement de milieu à vert clair plutôt foncé, mais parfois vert grisâtre, vert ou parfois rouge avec du rose ou du violet en dessous; pétioles courbés à droites, non coudés, survenant plus ou moins dressés du tubercule (Gray-Wilson, 2002). Pédicelles de 11-22cm de long, dressés à ascendants. Vert ou brun violacé, s'enroulant de haut en bas lorsque les fruits se développent. Pédoncule se rétractant en tire-bouchon après la floraison (Quezel et Santa, 1962).

1.5.1.2. Appareil reproducteur :

Fleurs apparaissant généralement avant les feuilles, parfois supportée par les jeunes feuilles parfois parfumées ; couleur variable de la corolle rose pâle à rose foncé, chaque pétale avec un basal pourpre ou pourpre magenta, large. Tache en V, lobes de la corolle 18-35 mm de long, torsadée et à oreillettes distinctes et plutôt proéminentes à la base (Gray-Wilson, 2002). Plante fleurissant en automne (Quezel et Santa, 1962).

1.5.2. Classification et systématique de *Cyclamen africanum* Boiss&Reut :

Tableau 01 : Classification botanique de *Cyclamen africanum* Boiss&Reut. selon (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Delleniida
Ordre	Ericales
Famille	Primulaceae
Genre	<i>Cyclamen</i>
Espèce	<i>Cyclamen africanum</i> Boisson & Reuter

Chapitre II :
Travaux antérieurs et principaux
métabolites secondaires isolés du
genre Cyclamen

Chapitre II Travaux antérieurs et principaux métabolites secondaires isolés du genre *Cyclamen*

2.1. Etude pharmacologique et phytochimique du genre *Cyclamen* :

2.1.1. Etude pharmacologiques :

Le genre *Cyclamen* représente une source considérable de métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, terpènes..., qui sont considérés comme des composés biologiquement actifs pouvant servir de candidats à de nouveaux médicaments pour le traitement et la prévention des maladies humaines.

2.1.1.1. Activité anticancéreuse :

L'activité anticancéreuse de *C. africanum* a été évaluée par Mazouz et *al.*, en 2014, suivant les résultats ; l'extrait dichlorométhanique a présenté une activité anticancéreuse contre toutes les lignées cellulaires testées.

Les extraits de *C. cilicium* ont montré une activité cytotoxique contre la lignée cellulaire du cancer de la prostate humaine et les lignées cellulaires du cancer du sein, suggérant application possible en tant que candidat anticancéreux (Zengin et *al.*, 2020).

Deux saponines isolées du *C. persicum* et du *C. libanoticum* (Cyclamine et Saxifragifoline B) ont montré une forte activité cytotoxique contre les lignées cellulaires du cancer de sein (El Hosry et *al.*, 2014).

2.1.1.2. Activité antioxydante :

Une étude réalisée par Zengin et ses collaborateurs en 2020, a démontré la capacité des extraits méthanoliques des parties aériennes et souterraines de *C. pallasii* et *C. cilicium* à agir comme antioxydant. L'extrait méthanolique des racines a montré des propriétés antioxydantes intéressantes, en termes de piégeage des radicaux et de potentiel réducteur.

En 2011, Sarikurkcü Cengiz a évalué l'activité antioxydante de *Cyclamen mirabile*, y compris l'activité de piégeage des radicaux libres. Toutes les concentrations d'éther de pétrole, d'acétone, de méthanol et d'extraits aqueux des feuilles ont montré des activités antioxydantes supérieures à celles de l' α -tocophérol (42 %) et proches du BHT (99,30 %). Tous les extraits de tubercules et

de feuilles de *C. mirabile* avaient un pouvoir efficace de piégeage et de réduction des radicaux libres.

L'espèce *C. africanum* a été criblé pour son effet biologique en 2020 par Gaamoune et Nouioua, les résultats indiquent que l'extrait brut de *C. africanum* peut être un candidat potentiel pour le développement de nouvelles thérapies et une parfaite source de molécules antioxydantes.

Wissam Mazouz et ses collaborateurs en 2014, ont noté un pourcentage de réduction de DPPH de $70,44 \pm 1,6$ % par l'extrait le plus actif (méthanolique) de la partie aérienne de l'espèce *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

Turan et *al.*, en 2018, ont étudié l'activité anti-oxydante de plusieurs types d'extraits des feuilles et des parties tubéreuses de *Cyclamen alpinum* par plusieurs méthodes. La valeur la plus élevée obtenu à partir de l'expérience d'activité antioxydante a été observée avec une valeur de $86,73 \pm 0,16$ (%) dans le test DPPH sur un extrait à l'acétone d'une partie de tubercule à une concentration de 1 mg / mL. Dans le même contexte Turan et ses collaborateurs en 2018, ont montré le rôle important des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la réduction du radical libre (DPPH) de l'extrait de *C. alpinum*.

2.1.1.3. Activité insecticide :

Sungur Civelek et Melda Çolak en 2008 ont étudié l'activité insecticide de *Cyclamen mirabile* contre *Trichoferus griseus* sur *Pinus brutia* L. et ont comparé les résultats à l'application d'un insecticide (*Tanalith C*), utilisé comme contrôle positif. Les résultats indiquent que l'extrait de *Cyclamen mirabile* a des effets plus importants sur les larves que le *Tanalith C*.

2.1.1.4. Activité larvicide :

L'activité larvicide des extraits de *Cyclamen mirabile* et *Cyclamen alpinum* a été mise en évidence par Emre et *al.*, (2013). L'extrait de tubercules a présenté une activité larvicide contre *Culux pipen* L.

2.1.1.5. Activité anti-inflammatoire :

Dall'Acqua et *al.*, en 2010 ont déterminé l'activité anti-inflammatoire de *Cyclamen repandum*, à l'aide de la lignée cellulaire de macrophages humains THP-1, qui peut produire plusieurs cytokines inflammatoires lors de la stimulation avec le lipopolysaccharide (LPS), fournissant ainsi un modèle approprié pour étudier la réponse inflammatoire dans la cellule des cultures.

Ainsi, ils ont déterminé l'effet de composés isolés sur les niveaux d'ARNm d'IL8 et de TNF- α induits par le LPS et sur les protéines. Ils ont trouvé que : la déglucocyclamine, l'anagalloside B et le repandoside ; isolés des tubercules de *C. repandum* à 100 μ M inhibaient les expressions IL-8 et TNF- α induites par le LPS.

Une autre étude réalisée par Speroni et *al.*, en 2017 sur la même espèce montre que les tubercules possèdent un potentiel anti-nociceptif et anti-inflammatoire.

2.1.1.6. Activité hépatique :

Les effets modulateurs de l'extrait de tubercule de *Cyclamen trochopterantum* sur les enzymes hépatiques métabolisant les médicaments ont été examinés in vivo chez le rat. Les résultats indiquent que l'activité de ces enzymes ont été induite par l'extrait de *Cyclamen trochopterantum* (Arslan et *al.*, 2011).

2.1.1.7. Génétique :

Seyring et *al.*, en 2009 ont examiné la possibilité de multiplier différentes espèces de *Cyclamen*. A cet effet, deux protocoles ont été appliqués à onze génotypes combinés avec principalement quatre types d'explants. L'utilisation de ces protocoles a donné lieu à des structures somatiques de type embryon et/ou à des pousses adventives dans tous les génotypes. De cette manière, il a été possible de propager chacun des génotypes examinés in vitro en utilisant des explants de plantes adultes en moins d'un an. Ces résultats peuvent être utilisés pour la sélection et la propagation du *Cyclamen* en tant que plante ornementale et médicinale.

Le tableau 02 ci-dessus résume d'autres travaux de recherche réalisés sur le genre *Cyclamen* (Mazouz, 2014).

Tableau 02 : Travaux antérieure réalisés sur le genre *Cyclamen* (Mazouz, 2014).

Espèce	Recherche réalisée	Référence
<i>Cyclamen sp</i>	Analyse complète des anthocyanes et des composés liés pour comprendre le changement de couleur des fleurs dans un faisceau d'ions mutants	(Nakayama et <i>al.</i> , 2012)
	Etude des aspects histo-anatomiques et physiologiques	(Stratu, 2011)
	Isolation de l'enzyme 3' 5' hydroxylase	

	responsable de la modification des pigmentations des anthocyanes	(Boase, 2009)
	Etude des effets biologiques de l'irradiation du faisceau d'ions lourds sur <i>Cyclamen</i>	(Sougiyama et al., 2007)
	Etude de l'hérédité des pigments des fleurs dans les croisements entre variétés des <i>Cyclamens</i> et <i>Cyclamen purpurascens</i>	(Takamura, 2005)
	Possibilité de propagation in vitro	(Seyring et al., 2009)
<i>Cyclamen kunetzovii</i> Kotov et Czernov	Analyse comparative ontogénique	(Luchikna, 2009)
<i>Cyclamen adzharicum</i>	Identification d'un nouveau glycoside triterpène nommé : « 3-β-o[β-D-Xylp(1→2)]-[β-D-Glcp(1→2)]-(β-D-Glcp(1→4)-α-L-Arap)-16α-hydroxy-13.82-epoxy-30.30-dibutoxyolean	(Tabidze et al., 2009)
<i>Cyclamen trochopteranthur</i>	Effets de l'espèce contre les enzymes hépatique métabolisant les médicaments	(Arslen et al., 2011)
<i>Cyclamen persicum</i> Mill	Etude des caractéristiques florales et le système de reproduction de deux écotypes phénologiques de <i>Cyclamen persicum</i> Mill	(Tzachor et al., 2009)
	Analyse de la protéine embryo-spécifique du <i>Cyclamen persicum</i> par la technique 2-D DIGE	(Lyngved et al., 2008)
	Possibilité de propagation in vitro	(Seyring et al., 2009)
	Régénération direct par l'utilisation de tissus des semis	(Abu-Qaoud, 2004)
<i>Cyclamen cilicium</i> Boiss & Helder	Possibilité de propagation in vitro	(Seyring et al., 2009)
<i>Cyclamen hederifolium</i> Aiton	Possibilité de propagation in vitro	(Seyring et al., 2009)
<i>Cyclamen africanum</i> Boiss et Reteur	Possibilité de propagation in vitro	(Seyring et al., 2009)
	Etude cytologique des plantes sauvages et cultivées	(Bennett et Grimshaw, 1991)

2.1.2. Etude phytochimique :

Le genre *Cyclamen* a fait l'objet de nombreuses études dans différentes disciplines, certaines ont abouti à des résultats distincts ; où de nouveaux composés sont isolés à partir de leurs espèces, comme les saponines triterpéniques oléaniques isolées des racines de *C. africanum*.

De nombreuses études ont permis d'isoler une série de composés à partir des espèces de *Cyclamen*, notamment le sesquiterpène "Farnesol" à partir de *Cyclamen sp.* (Lizelle T. Fox et al., 2011).

Un glycoside triterpénique "3-O-β-{{[β -D-xylopyranosyl-(1→2)]-[β-D-glucopyranosyl-(1→4)]-β-D-glycopyranosyl-(1→4)}}-[β-D-glycopyranosyl-(1→2)]-α-L-arabino-pyranosyl} ,13 β, 16 α,threhydroxy-28-epoxy-olean", également isolé de *Cyclamen repandum*. (Dall'Acqua et al., 2010);

Un autre triterpène a été isolé de *Cyclamen adzharicum* avec la structure : "3- β-o-[β-DXylp (1→2)]-[β-D-Glcp(1→2)]-(β-D- Glcp (1 → 4)- α-L-Arap)-16 α-hydroxy-13,28-époxy-30,30-dibutoxyolean" (Tabidze et al, 2009).

Yayli et al., en 1998, ont isolé la saponine triterpénoïde " 3-β-O- {β-d-glucopyranosyl-(1-6)-[α-larabinopyranosyl-(1-2)]-β-d-glucopyranosyl-(1-4)-[β-d-glucopyranosyl-(1-2)]-α-l-arabinopyranosyl}- 16α-hydroxy-30,28β-lactone-oleane-12ene".

Cinq (05) saponines triterpéniques isolées du *Cyclamen hederifolium*, quatre (04) stérols isolés du *Cyclamen coum*, deux (02) saponines triterpéniques oleanane isolées des racines de *Cyclamen africanum*, six (06) saponines isolées de *Cyclamen mirabile*, onze (11) anthocyanes et flavonoïdes isolés de *Cyclamen persicum*, six (06) saponines triterpéniques isolées du *Cyclamen repandum*, trois (03) monosaccharides isolés du *Cyclamen repandum* et sept (07) flavonoïdes isolés du *cyclamen* parfumé (Hilal Altunekeyik et al., 2012 ; Yayli et Baltaci , 1996 ; Betina et al., 2012 ; Çaliş et al., 1997 ; Webby et Boase, 1999 ; Takamura et al., 1993 ; Dall'Acqua et al., 2010 ; Ishizaka et al., 2012).

Chapitre III :

Les polyphénols et les flavonoïdes

Chapitre III Les polyphénols et les flavonoïdes

3.1. Les polyphénols:

3.1.1. Introduction:

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, les composés phénoliques ou polyphénols étant l'un des groupes de substances les plus nombreux et les plus répandus dans le règne végétal (Harborne, 1993).

3.1.2. Structures chimique et classification des polyphénols:

La structure chimique des polyphénols est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés (Figure 03). Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques et des substitutions qui les relient. On distingue les phénols simples (y compris les acides phénoliques), les lignanes, les flavonoïdes et les stilbènes (Figure 04) (Boros et *al.*, 2010).

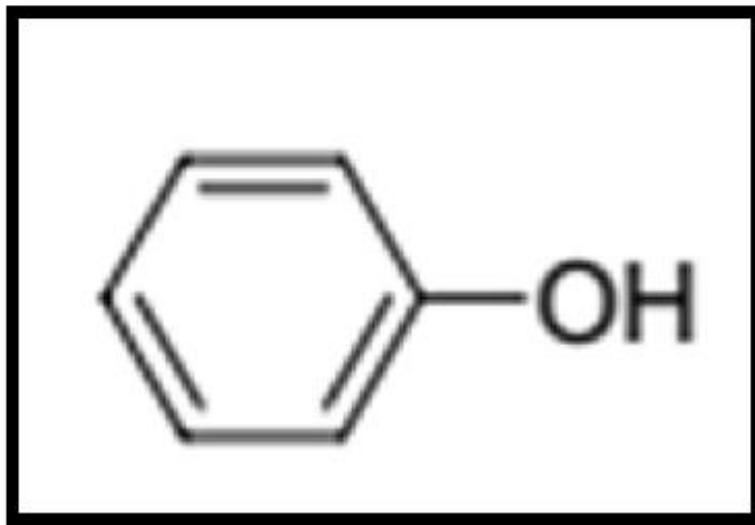


Figure 03 : Schéma d'un phénol simple (C6) (Garcia et *al.*, 2010).

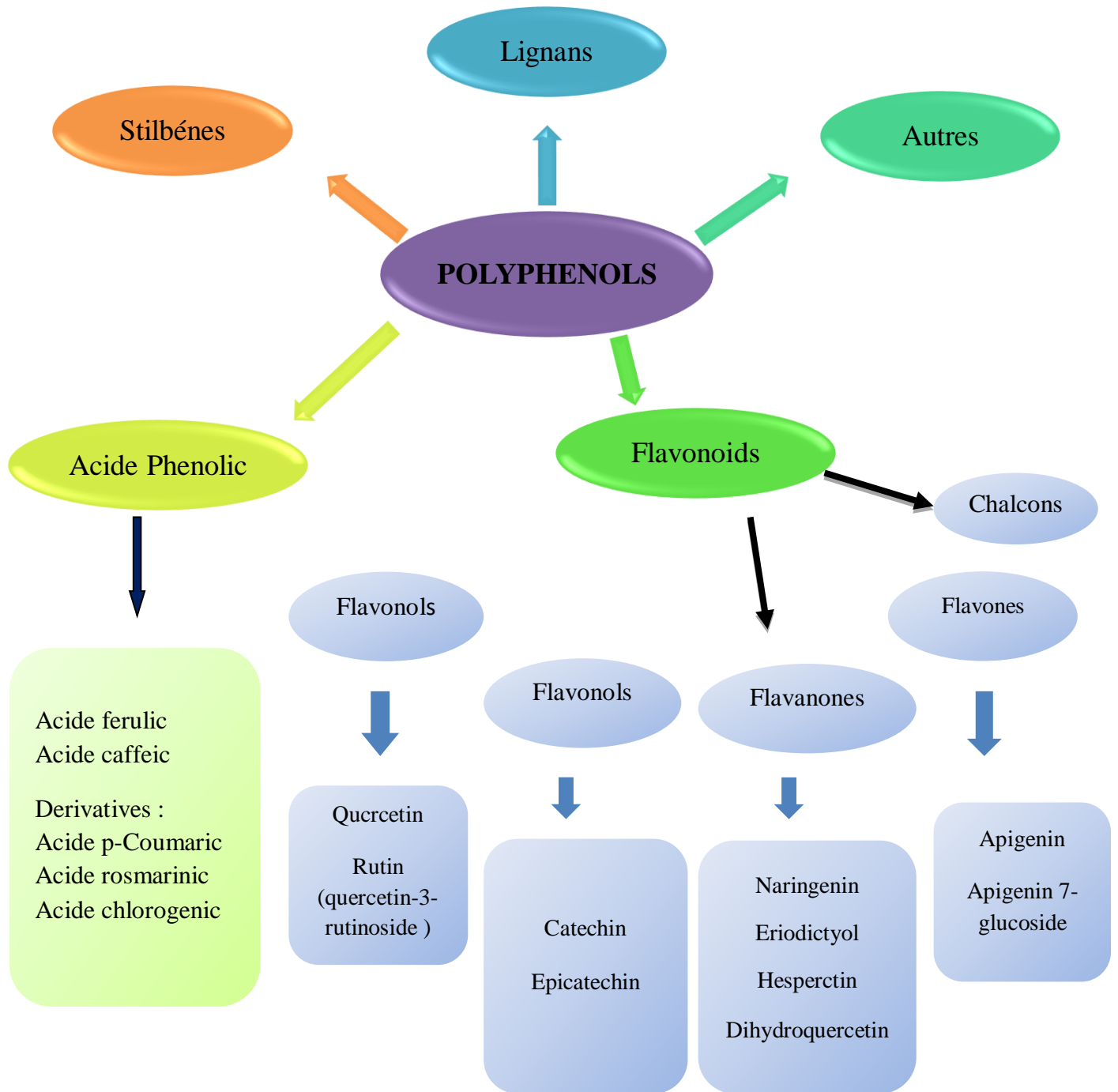


Figure 04: Classification des polyphénols avec exemples pour chaque classe (Boros et *al.*, 2010)

3.1.3. Effets biologiques des polyphénols:

Ces substances ont des propriétés anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, antibactériens, antiviraux, analgésiques, anticancéreux (Babar Ali *et al.*, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh *et al.*, 2008) et antioxydantes (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

De plus en plus, les substances polyphénoliques sont employées dans les thérapies (Martin et Andriantsitohaina, 2002) (Figure 05). En quelques années, ces composés sont ainsi devenus les molécules préférées des épidémiologistes, des nutritionnistes, des industriels de l'agroalimentaire et des laboratoires pharmaceutiques (Massaux, 2012).

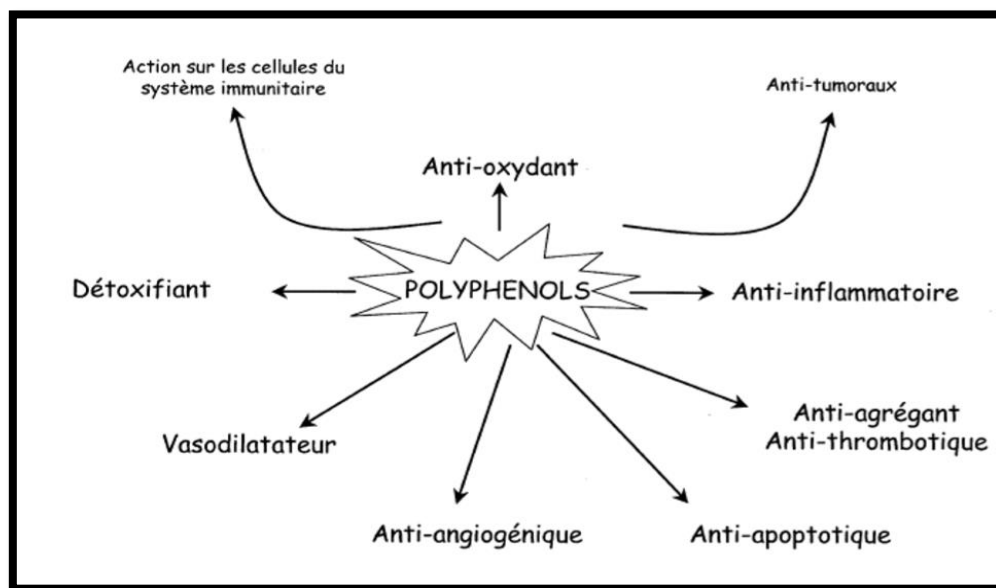


Figure 05: Effets biologiques des polyphénols (Martinet Andriantsitohaina, 2002).

3.2. Les flavonoïdes (C6-C3-C6):

3.2.1 Généralités et structures:

Les flavonoïdes lato sensu sont des pigments presque toujours hydrosolubles qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles des végétaux. Les flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols jaunes) ainsi que les anthocyanosides rouges, bleus ou violets font partie de cette catégorie. Lorsqu'ils ne sont pas visibles directement, les flavones et les flavonols incolores jouent un rôle de co-pigments et protègent les anthocyanosides (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont des polyphénoliques avec quinze atomes de carbone qui forment une structure C6-C3-C6 (Figure 06), soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de trois carbones (Chira *et al.*, 2008). Selon le degré d'oxydation, ils sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone, flavanol.

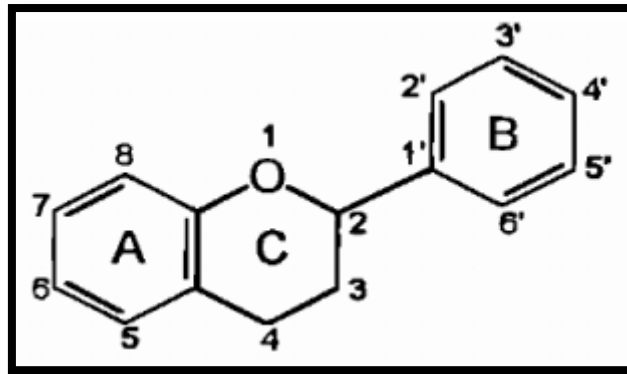


Figure 06: Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et *al.*, 2001).

3.2.2. Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes:

De nos jours, les flavonoïdes sont largement étudiés dans le domaine médical en raison de leurs propriétés antivirales, antitumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. De plus, ils ont des effets biochimiques et pharmacologiques en raison de leur capacité antioxydante (Bruneton, 1999).

La quercétine et la quercétrine ont un effet antidiarrhéique significatif, selon des études sur des souris (Galvez et *al.*, 1993a ; Galvez et *al.*, 1993b). D'autres flavonoïdes, tels que l'apigénine, ont également été identifiés comme des composés bactériostatiques et bactéricides très efficaces (Martini et *al.*, 2004).

Les flavonoïdes ont également été utilisés pour traiter les cataractes causées par le diabète (Goodarzi et *al.*, 2006 ; Ouali et *al.*, 2007). De plus, ils agissent comme des inhibiteurs enzymatiques et sont recommandés en ophtalmologie pour les troubles circulatoires au niveau de la rétine ou de la choroïde et pour améliorer la vision crépusculaire (Bruneton, 1999).

PARTIE II :
Matériels et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude : La situation géographique

La péninsule de l'Edough est située au Nord-est Algérien, d'une superficie de 47.350 hectares, elle est limitée à l'Est par la plaine de Kharraza, à l'Ouest par le cours inférieur d'Oued El Kebir, au Nord par la mer Méditerranée et au Sud par le bassin du lac Fetzara (Oualarbi et Zeghiche, 2009).

Le cap de Fer est située à l'extrémité occidentale de la péninsule de l'Edough, est constituée par une grande falaise exposée au nord et dominant le phare du cap de Fer proprement dit en direction du sud-est, à une altitude comprise entre 200 et 300 mètres.



Figure 07 : Localisation géographique de la région de récolte (Oualarbi et Zeghiche, 2009).

Le couvert végétal de la zone d'étude :

La flore du massif forestier de l'Edough à usage thérapeutique est très importante et caractérisée par deux essences principales : le chêne-liège et le chêne zéen. Le réseau hydrographique très ramifié, est caractérisé par des cours d'eau se justifie par la pluviométrie importante que reçoit cette zone (Saadi, 2013).



Figure 10 : Vue globales de l'Habitat de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

2. Matériel végétal :

Nous avons choisi le *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) pour sa richesse en polyphénols rapportés dans la littérature, afin de valoriser cette espèce qui est abondante dans la zone d'étude. Les échantillons des différents organes de *Cyclamen africanum* (feuilles, pétioles et tubercules) ont été récoltés au mois de mars 2018, dans la péninsule de l'Edough région de La marsa (Cap de fer), Nord-est Algérien, l'identification de l'espèce a été réalisée selon la flore de Quezel et Santa (1963) et validé par Monsieur HAMEL T., Professeur à l'Université d'Annaba, Algérie. La matière sèche est ensuite broyée, la poudre végétale obtenue est conservée à l'abri de la lumière dans des boites hermétiquement fermées pour une utilisation ultérieure.



A



B



C



D

Figure 08: Morphologie de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

(A) : Aspect général, (B) : Pétiole, (C) : Feuille, (D): Tubercule.

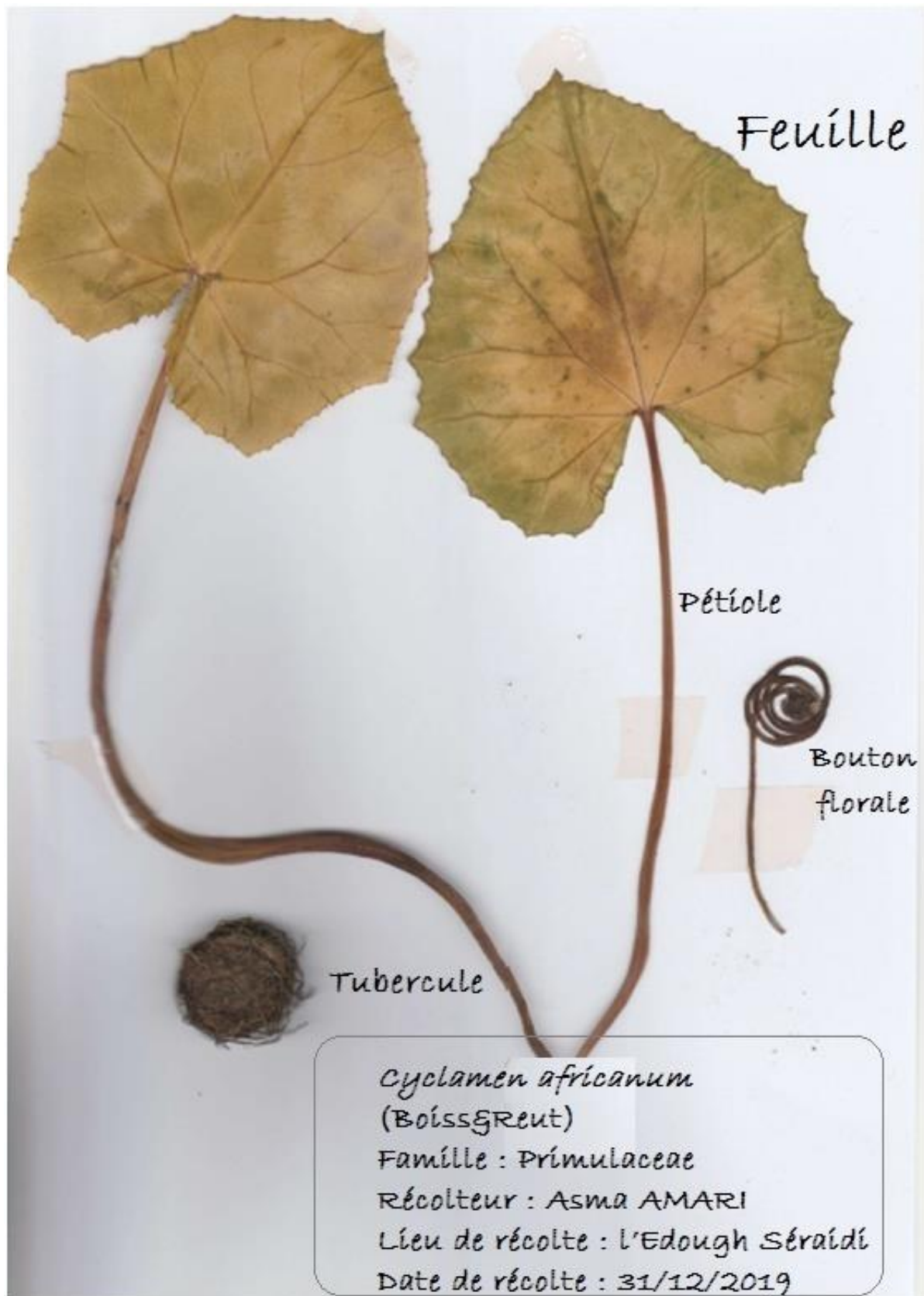


Figure 09 : Herbar de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

3. Méthodes d'analyse

3.1. Traitements des échantillons :

Après la récolte, le matériel végétal a été nettoyé, étalé et séché à l'abri de la lumière à température ambiante. Après le séchage, le matériel végétal est broyé et bien conservé pour des utilisations ultérieures. Avant le séchage une partie de la plante a été réservée pour l'étude histologique.

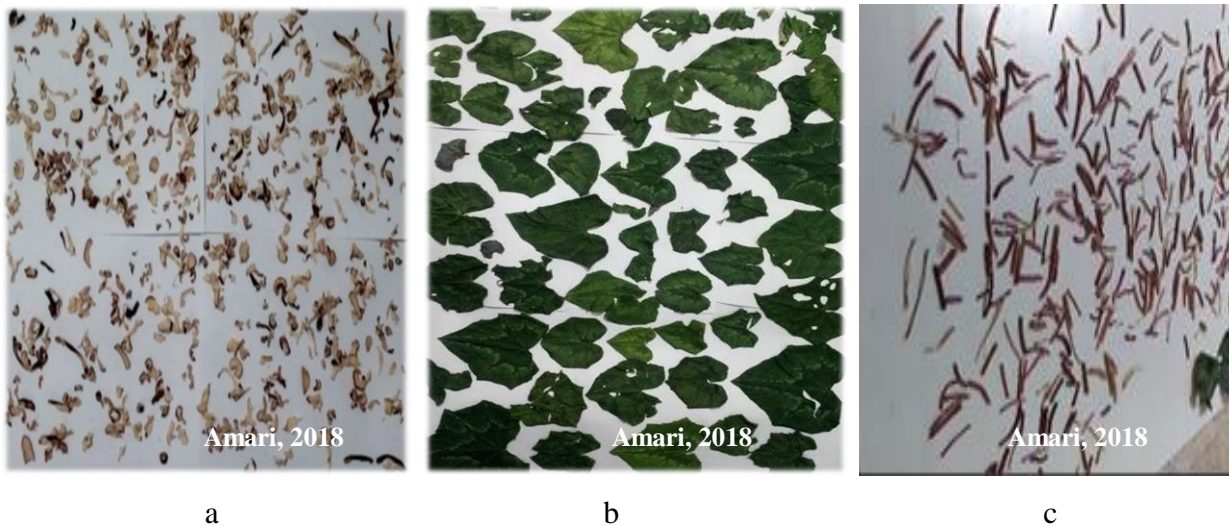


Figure 11 : Séchage de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

(a) : tubercule ; (b) : feuille ; (c) : pétiole.

3.2. Technique histologique :

L'histologie végétale est la branche de la biologie végétale qui examine la structure microscopique des tissus végétaux. Cette science a été créée au XIX^{ème} siècle et est basée sur la cytologie, l'étude des cellules vivantes (Saadou, 2008).

Afin d'identifier la structure anatomique de l'espèce étudiée, nous avons réalisé une étude histologique sur les feuilles, les pétioles et les tubercule, selon la technique de la double coloration avec le Vert de Méthyle et Rouge Congo comme suit (Paris et Hurabielle, 1976) :

- ✓ Réalisation de coupes transversales fines au niveau des organes (racine, feuille et pétiole) à l'aide d'une lame de rasoir.
- ✓ Immersion des coupes dans de l'eau de javel, pendant 15mn.
- ✓ Traitement des coupes avec de l'acide acétique dilué pendant 1mn.
- ✓ Coloration des coupes au vert de méthyle pendant 10mn.
- ✓ Coloration des coupes dans le rouge du Congo pendant 20mn.
- ✓ Observation des coupes au microscope optique (Leica DM LS2).

3.3. Screening phytochimique

Les essais chimiques de caractérisation ont porté sur la recherche de principales drogues chimiques dans des différentes solutions préparées à la base des extraits des feuilles, pétioles et tubercules de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut). Les tests préliminaires pour la détermination des Tanins, Anthocyanes, Saponosides, Leuco-anthocyanes, Alcaloïdes, Flavonoïdes, Terpènes et stéroïdes, Amidon et Coumarines ont été réalisés selon la méthode de Solfo (1973).

Le Tableau 03 indique les réactifs utilisés dans la caractérisation des groupes chimiques.

Tableau 03 : Les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés.

Groupes chimiques	Réactifs	Composition du réactif	Résultats positifs
Alcaloïdes	Dragendorff	Nitrate de bismuth + acide acétique	précipité rouge orangé
	Mayer	iodure de potassium + chlorure de mercure	Précipité jaunâtre
Stéroïdes et Terpénoïdes	Lieberman Bouchard	Anhydride acétique + d'acide sulfurique	coloration violette - bleue ou verte
Flavonoïdes	Shinoda	Ethanol 95 °+ HCl (N/2) + (Mg ou Zn)	coloration orangée, rouge ou violette
Quinones	Bornstraëgen	/	coloration rouge ou violette
Tannins	FeCl ₃ 1 %	FeCl ₃ à 1 %	coloration bleu-foncée, verte ou noire
Saponosides	H ₂ O distillée		Indice Mousse (IM) : test positif si IM>100
Anthocyanes	HCl à 20 %		coloration rose à froid, rouge-orangé à chaud

3.4. Préparation de l'extrait éthanolique de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) :

Les extraits des trois organes étudiés de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), ont été préparés selon la méthode de Rehman et *al.*, 2010. 10g de la drogue végétale en poudre et 150 ml de l'éthanol à 90% ont été placés dans un appareil Soxhlet à 40 °C pendant une période de 8h (6 cycles d'extraction). Les extraits ont été filtrés et évaporés à sec sous pression réduite, et conservé dans un flacon ambré à 4 °C. Ces derniers sont considérés comme étant les extraits bruts.

Pour déterminer le rendement de différents extraits on calcule le rapport suivant :

$$\text{Rd \%} = [(P1-P2)/P3]*100$$

Rd % : le rendement

P1 : poids du ballon après évaporation.

P2 : poids du ballon avant évaporation.

P3 : poids de la matière végétale de départ.



Figure 12: Système d'extraction au Soxhlet.

3.5. Technique de dosage des polyphénols et des flavonoïdes de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut):

3.5.1. Total Phénolique :

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et *al.* (2010).

Le réactif FCR (Folin-Ciocalteu réactif), constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). L'intensité de la coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

Pour effectuer le dosage on doit utiliser un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire) et les réactifs suivants : Eau distillée, Méthanol, FCR, Na₂CO₃ à 7,5% (Carbonate de sodium), Acide Gallique, Extrait de plante.

Mode opératoire :

- **Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% :** 7,5 gramme de Na₂CO₃ et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillée.
- **Préparation de l'extrait de plante :**

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml d'eau distillée (ou Méthanol)

- **Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois**

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

Procédure :

A un volume de 20 µl d'extrait de plante, on ajoute 100µl de FCR dilué (1 :10) et 75 µl de carbonate de sodium (7,5%). Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 90 minutes à température ambiante, puis la lecture est faite à 760 nm.

L'acide gallique est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Le résultat est exprimé en µg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

3.5.2. Total Flavonoïde :

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre l'Ion Aluminium Al⁺³ et les flavonoïdes. La méthode de Topçu et *al.*, (2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

Pour réaliser le dosage on utilise un lecteur microplaque pour la mesure de l'absorbance et les réactifs suivants :

Méthanol, Eau distillée, 10% nitrate d'aluminium (Al(NO₃)₃, 9H₂O), 1 M Potassium acétate (CH₃COOK), Quercetine (Flavonoïde), Extrait de plante.

- **Préparation des solutions:**

Pour 1 M Potassium acétate (CH₃COOK) on dissout 9.80 gramme de (CH₃COOK) dans 100 ml d'eau distillée pour obtenir la solution (S₁)

Pour 10% nitrate d'aluminium (Al(NO₃)₃, 9H₂O) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

- **Préparation de l'extrait de plante :**

Une masse de 1 milligramme d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de méthanol pour obtenir la solution (S₂).

Procédure :

A un volume de 50 µl (S₂) (extrait de plante), on ajoute 130 µl (MeOH), 10 µl (S₁) (CH₃COOK) et 10 µl (Al(NO₃)₂, 9H₂O). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 40 min, puis la lecture est faite à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 150µl méthanol).

3.6. Analyse qualitative**3.6.1. Méthode de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :**

Les extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* (feuille, pétiole et tubercule) ont été d'abord analysés par CCM. Les chromatogrammes sur couche mince sont des méthodes analytiques très utiles et simples, permettent de connaître la présence et la pureté des composés étudiés. Cette technique repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition des constituants, dans ce cas, est en fonction de la nature de la phase mobile, de la nature de la phase stationnaire et les propriétés physico-chimiques des constituants à séparer (Muanda, 2010).

La Chromatographie sur Couche Mince a été réalisée sur des plaques d'aluminium Silicagel 60F254 (Merck).

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques, pour déterminer ceux qui donnent une meilleure séparation on a utilisé plusieurs systèmes d'élution (Tableau 04). Dans notre cas, le système de solvant choisi c'est le système BAW : n- Butanol /Acide acétique/ H₂O (60 :25 :15) (Sanogo et *al.*, 2014). Chaque plaque est déposée dans des cuves préalablement saturées par la vapeur du système d'élution approprié.

Après révélation par des réactifs appropriés (vanilline sulfurique), les plaques sont analysées sous U.V. (365 et 254 nm).

Le R_f (rapport de la distance parcourue par cette molécule et par la phase mobile) est calculé selon la formule suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$$

Selon Khelfallah (2013), la couleur jaune de chromatogramme de CCM révélée sous l'U.V. correspond à l'un de ces composants flavonoïdiques : Flavone ou Flavonol ou Aurone ou Chalcone ou Flavanone ou bien Dihydroflavonol, et la couleur orangé de chromatogramme de CCM révélée sous l'U.V. correspond soit à Flavonol ou Isoflavone.

Tableau 04: Différents systèmes d'éluion utilisés pour la CCM.

Système d'éluant	Proportion	Référence
Acide acétique /Méthanol	50 :50	//
Dichlorométhane / Méthanol	50 :50	//
Acétone / Ether de pétrole	50 :50	//
Dichlorométhane / Ethanol	50 :50	//
Ethanol / Ether de pétrole	50 :50	//
Dichlorométhane / Ether de pétrole	50 :50	//
n- Butanol / H2O / Acide acétique	60 :25 :15	(Sanogo et al., 2014)
n- Butanol / Acide acétique / H2O	4 :1 :5	(Sanogo et al., 2014)
n- Butanol/Acide acétique / Dichlorométhane	4 :1 :5	//
Ether de pétrole /l'Acétate d'éthyle	50 :50	//
Toluène / l'Acétate d'éthyle	2 :1	(Mohammedi, 1999)
Chloroforme / Méthanol / H2O	65 :35 :5	//
Chloroforme / Méthanol / l'Acétate d'éthyle / H2O	60 :32 :1 :7	//

3.6.2. Méthode d'analyse des extraits par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) :

Les constituants des extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) ont été identifiés par HPLC au niveau de laboratoire de Biochimie, Département de pharmacie à l'Université de Annaba.

L'analyse des composés phénoliques en Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) avec des étalons a été réalisée avec le chromatographe liquide Shimadzu Prominence-I LC-2030C (Japon). L'analyse a été effectuée sur une colonne C-18 de 5 µm (250×4,6 mm) (USA). Avant d'engager l'analyse chromatographique, les phases mobiles (la phase A comprenant 19% d'acétonitrile, 80% d'eau et 1% d'acide formique, et la phase B comprenant 59% d'acétonitrile, 40% de méthanol et 1% d'acide formique) et les extraits sont placés dans une cuve à ultrasons pour dégazage. Le volume d'injection était de 10 µL de chaque extrait (à des concentrations de 5 mg/mL) à 40°C. Les solutions des standards ont été préparées dans du méthanol à une

concentration de 1 mg / ml. Après chaque injection, le système analytique a été rincé pendant 1 h avec la phase mobile afin de s'assurer que les produits éventuellement restés sur la colonne soient délogés. Pour toutes les analyses, les solvants utilisés étaient de qualité HPLC, avec un débit de 1 mL/min et une longueur d'onde de 350 nm. L'identification des produits sur les chromatogrammes a été faite en comparant les temps de rétention avec ceux des standards.



Figure 13: Dispositif de la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

3.7. Evaluation des activités biologiques :

3.7.1. Activités antioxydante :

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de méthode universelle, unique et fiable traduisant la capacité antioxydante. En effet, pour juger de l'effet antioxydant global d'un extrait d'une ressource végétale ou alimentaire, l'utilisation de plusieurs tests d'activité est recommandée, voir nécessaire (Cao et Prior, 1998).

L'étude de l'activité antioxydante des trois extraits de la plantes *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a été testée selon huit (08) méthodes: piégeage du radical libre DPPH, méthode CUPRAC, Piégeage de l'ABTS, Chélation des ions métalliques, blanchissement du β -carotène, piégeage de l'anion superoxyde, pouvoir réducteur et l'activité du phenanthroline.

3.7.1. 1. Activité antiradicalaire au DPPH :

La molécule DPPH est un radical libre de couleur violet foncé (Sofiane et Seridi, 2021b). L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois (1958), le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2

diphenyl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue. Une solution de 6 mg de DPPH préparée dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre. Dans une microplaque 96 puits, 160 µl de cette solution ont été ajoutés à 40 µl d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes. Trente minutes (30mn) plus tard, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHT et l'α-tocophérol ont été utilisés comme anti-oxydant de référence, pour la comparaison de l'activité avec les extraits utilisés. La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure. La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Blanc}}} \times 100$$

A_{Blanc} est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A_{Extrait} est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

3.7.1. 2. Activité de la chélation des ions métalliques :

L'activité de chélation des ions métalliques des extraits par les ions ferreux Fe^{+2} a été mesurée selon la méthode décrite par Decker et *al.*, (1990). Les extraits des différentes concentrations et de volume (40µl) ont été ajoutés à une solution de : 40 µl FeCl_2 (0.2 mM) et 40 µl d'éthanol. La réaction a été amorcée par l'addition de 80 µl de ferène (0.5 mM). Le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos à une température ambiante pendant 10 min. Après que le mélange a atteint l'équilibre, l'absorbance a été déterminée à 562 nm et l'EDTA a été utilisé comme standard.

Les résultats ont été donnés en pourcentage d'inhibition et l'activité a été calculée selon l'équation suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

3.7.1.3. Activité de blanchissement du β-carotène :

L'acide linoléique en émulsion aqueuse est oxydé. Les radicaux libres sont piégés par le β-carotène. L'activité antioxydante est inversement proportionnelle à la densité optique. En effet la décoloration du β-carotène résulte du piégeage des radicaux formés au cours de l'autoxydation de l'acide linoléique, ce qui a pour effet de diminuer la conjugaison.

L'activité de blanchissement du β -carotène des extraits a été évaluée en utilisant le modèle de l'acide β -carotène-linoléique (Marco, 1968). Une masse de 0,5 mg de β -carotène dissoute dans 1 ml de chloroforme puis ajouté a un volume de 25 μ l d'acide linoléique et de 200 mg de Tween 40, donnent un mélange émulsifiant. Après évaporation du chloroforme sous vide, 50 ml d'eau distillée saturée en oxygène, ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. L'absorbance de la solution du β -carotène doit être comprise entre 0.8 et 0.9 nm (si elle est supérieure, on ajoute l'eau oxygéné H₂O₂). Un volume de 160 μ l de cette solution a été ajouté à 40 μ l d'extrait pour les différentes concentrations. L'absorbance a été mesurée à 470 nm en utilisant un lecteur de microplaque en 0 min puis une deuxième lecture après 120 min (45°C à l'étuve). Le BHA et l' α -tocophérol ont été utilisés comme standards.

3.7.1.4. Activité du piégeage de l'ABTS :

L'analyse spectrophotométrique de l'activité de piégeage de l'ABTS^{•+} a été déterminée selon le procédé de Re et *al.*, (1999) avec de légères modifications. L'ABTS^{•+} a été produit par la réaction entre 19,2 mg (7 mM) de l'ABTS dans 5 ml d'eau et 3,3 mg (2,5 mM) de persulfate de potassium puis stockée dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 h. L'oxydation de l'ABTS commence immédiatement, mais l'absorption n'est pas maximale et se stabilise après 6 heures de temps. Le radical cation reste stable sous cette forme pendant plus de 2 jours. Avant utilisation, l'ABTS a été dilué pour obtenir une absorbance de $0,708 \pm 0,025$ à 734 nm avec de l'éthanol. Ensuite, 160 μ l de la solution de L'ABTS^{•+} ont été ajoutés à 40 μ l de la solution d'extrait dissout dans l'éthanol à différentes concentrations. Après 10 min, l'absorbance a été mesurée à 734 nm en utilisant un lecteur de microplaques 96 puits.

Le BHT, le BHA et l' α -tocophérol ont été utilisés comme des standards, et es pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à une absorbance à blanc de l'éthanol. La capacité de piégeage des L'ABTS^{•+} a été calculée en selon l'équation suivante:

$$\text{ABTS inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Contrôle}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Contrôle}}} \times 100$$

3.7.1.5. Piégeage de l'anion superoxyde :

L'activité de récupération des radicaux hydroxyles a été déterminée selon les méthodes décrites par Smirnoff et Cumbes (1989). La réaction a été initiée en mélangeant 40 μ L d'extrait à 24 μ L de solution de fer de sulfate (FeSO₄, 7H₂O, 8 mM), 20 μ L de solution de peroxyde d'hydrogène (20 mM) et 80 μ L de solution d'acide salicylique (3 mM), après incubation pendant 30 min à

37°C, 36 µL H₂O ont été ajoutées. L'absorbance a été mesurée à 515 nm. Les résultats ont été exprimés en CI50. L'acide ascorbic a été utilisée comme standard.

3.7.1.6. L'activité de phenanthroline :

L'activité de phenanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka (2008). Les extraits de différentes concentrations à V= 10 µl ont été ajoutés à une solution de 50 µl FeCl₃ (0.2%) et 30 µl Phenanthroline (0,5%). La réaction a été amorcée par l'addition de 110 µl de MeOH. Après vingt minutes (20 min) d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

3.7.1.7. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) :

La réduction du cuivre a été déterminée par la méthode CUPRAC décrite par Apak *et al.*, (2004). Une solution est préparée avec le mélange de 50 µl Cu (II) (10 mM), 50 µl neocuprine (7,5 mM) et 60 µl de solution tampon d'acétate d'ammonium (NH₄Ac, 1 M, pH = 7,0). Différentes concentrations d'extrait ont été ajustées à 200 µl. Les microplaques 96 puits ont été mises à l'abri de la lumière, et après 1 h, l'absorbance est mesurée à 450 nm. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles de l'α-tocophérol et du BHT. Les résultats ont été calculés à titre de A_{0.5} (µg / ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

3.7.1.8. Test du Pouvoir réducteur :

Cette méthode (légèrement modifiée) est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) (Oyaizu, 1986). 10 µL de l'échantillon ont été mélangés à 40 µL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 10 µL de ferric yanide de potassium [K₃Fe (CN)₆] (1%). Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite, 50 µl de l'acide trichloroacétique (TCA), 40 µl H₂O et 10 µl chlorure de fer sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Le BHA, le BHT et l'ascorbique ont été utilisés comme étalons.

3.7.2. Méthode de l'activité anti-cholinestérase :

Les activités acétylcholinestérase (AChE) et butyrylcholinestérase (BChE) ont été mesurées avec une modification légère de la méthode spectrophotométrique fournie par Ellman (1961). L'AChE de l'anguille électrique et BChE du sérum de cheval ont été utilisés, l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure de butyrylthiocholine ont été employés comme substrats. Le DTNB [5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)] a été utilisé pour la mesure de l'activité de cholinestérase. L'éthanol a été utilisé comme solvant pour dissoudre les composés d'essai zéro et

les contrôles. Le mélange de 150 µl de tampon phosphate de sodium (100 Mm, pH 8,0), 10 µl d'une solution d'échantillon dissoute dans de l'éthanol à différentes concentrations et de 20 µl l'AChE ($5,32 \times 10^{-3}$ U) ou BChE ($6,85 \times 10^{-3}$ U) ont été incubés pendant 15 min à 25°C, à ce mélange 10 µl de DTNB (0,5 mM) ont été ajoutés. La réaction a été ensuite initiée par l'addition de 20 µl l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) ou de chlorure de butyrylthiocholine (0,2 mM). Le Galantamine a été utilisé comme composé de référence et l'absorbance est lue à 412 nm, pour 0 min puis 15 min.

Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou BChE est déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le tampon de phosphate pH 8), il est calculé selon l'équation suivante :

Pourcentage d'inhibition % : $[(E - S) / E] \times 100$.

E : l'activité de l'enzyme sans extrait.

S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

3.7.3. Activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase :

L'activité inhibitrice de l'α-glucosidase a été réalisée selon la méthode de Lordan et *al.*, (2013). Un volume de 50 µL de solution d'extrait et 50 µL de solution de p-nitrophényl-a-D-glucopyranoside 5 mM (dans du tampon phosphate 100 mM, pH 6,9) ont été mélangés et incubé à 37°C pendant 10 min, ensuite 100 µL d'alphaglucosidase (0,1 U / mL) a été ajouté. L'absorbance a été enregistré à 405 nm à 0 min puis 30 min. L'acarbose a été inclus comme contrôle positif.

L'activité de l'α-glucosidase a été calculée en selon l'équation suivante:

$$\text{Pourcentage d'activité \%} = \frac{A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Blanc}}} \times 100$$

3.7.4. Activité photoprotectrice : FPS (Facteur de Protection Solaire)

Le FPS in vitro est déterminé selon la méthode spectrophotométrique de Mansur et *al.*, (1986). Les échantillons (extrait et standards) ont été dilués dans l'éthanol à une concentration finale de 2 µg/mL. Des pommades et les crèmes Nivea et Vichy ont été utilisés comme standards. L'absorbance est mesurée dans l'intervalle [290 à 320] chaque 5 mn (UV-B), en utilisant un lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire) à 96 puits (200 µl pour chaque puits). Les catégories de protection indiquée sur les produits solaires sont en fonction des facteurs de protection mesurés (Tableau 05).

La valeur du SPF est calculée par l'équation de Mansur *et al.*, (1986) ;

$$\text{SPF spectrophotometric} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

EE: spectre d'action érythémale ; **I**: Spectre d'intensité solaire; **Abs**: absorbance du produit solaire; **CF** : Facteur de correction (=10).

Tableau 05: Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006 ⁽³⁾.

Catégorie Indiquée	Facteur de protection indiqué	Facteur de protection solaire mesuré	Facteur de protection UVA minimal Recommandé	Longueur d'onde critique minimale recommandée
« Faible protection »	6	6 - 9,9	1/3 du facteur de protection solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
	10	10 - 14,9		
« Protection moyenne »	15	15 - 19,9		
	20	20 - 24,9		
	25	25 - 29,9		
« Haute protection »	30	30 - 49,9		
	50	50 - 59,9		
« Très haute protection »	50+	60 ≤		

Le tableau 06 présente les valeurs de FPS déclarées des écrans solaires à large spectre ⁽⁴⁾.

Tableau 06: Valeurs de FPS et pourcentage correspondant de blocage des rayons UV.

FPS ^a	Pourcentage d'UV ^b bloqué de la peau
2	50,0
4	75,0
8	87,5
15	93,3
30	96,7
50	98,0

^a : facteur de protection solaire, ^b : ultraviolet.

3.7.5. Activité antibactérienne :

3.7.5.1. Méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme) :

Le test de l'activité antibactérienne des trois extraits feuille (F), tige (T), tubercule (B), de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou aromatoigramme et par la méthode de macro-dilution en milieu liquide, selon le Comité National des Normes du Laboratoire Clinique (NCCLS 1997). Ce test a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de Centre National de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt) à Constantine. Nous avons utilisé quatre souches de collection internationales ATTC (American type culture collection) : *Escherichia coli*, *Pseudomonas auruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (les souches ATCC provenant du laboratoire microbiologie, Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt), Constantine) (Tableau 07).

Tableau 07: Les souches utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

Bactéries à Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
	<i>Pseudomonas auruginosa</i> (ATCC 27853)
Bactéries à Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 252923)
	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi par la suite à préparer l'inoculum. L'ensemencement se fait dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum (Rahal, 2005).

✓ L'aromatogramme :

Le principe de l'aromatogramme est inspiré de l'antibiogramme, il consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte à Pétri, avec la création d'un gradient de concentration entre le composé et le microorganisme cible (Vincent, 1991). Les disques stériles imprégnés de différentes concentration d'extraits ; 100mg /ml, 50mg /ml et 25mg /ml de différents parties de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) à raison de 10µl par disque ont été déposés au milieu d'une boîte de pétri de 90 mm de diamètre contenant un milieu gélosé (Mueller Hinton) de 4mm d'épaisseur, préalablement ensemencé par écouvillonnage avec l'inoculum. Ce dernier est préparé à une concentration de à 0,5 Marc

Ferland, de 10^5 à 10^8 CFU.ml⁻¹ pour chaque souche. Trois répétitions sont réalisées pour chaque essai. Les boîtes de Pétri sont incubé pendant 24h à 37°C, la lecture s'effectue par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se traduit par un halo translucide autour de chaque disque ; la présence ou l'absence d'un halo expliquerait la sensibilité ou la résistance des germes vis-à-vis des extraits. En parallèle, nous avons utilisé un disque témoin négatif imbibé par le DMSO.

3.7.6. Méthodes d'analyses statistiques :

Les résultats de tous les tests sont exprimés en moyennes \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI50 sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)], les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par "student's t-test". Une ANOVA à sens unique suivie de tests de comparaison multiple de Tukey a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA). Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

PARTIE III :
Résultats et discussion

3.1. Histologie de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut):

L'étude histologique a été effectuée sur des coupes transversales des différents organes de *C. africanum* (racine, pétiole et feuilles). Les observations microscopiques des différentes coupes ont été effectuées au moyen d'un microscope optique avec différents grossissements x04, x10, x40. L'identification des différents tissus a été réalisée selon Anna et Gian (2005).

3.1.1. Structure de la racine de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut):

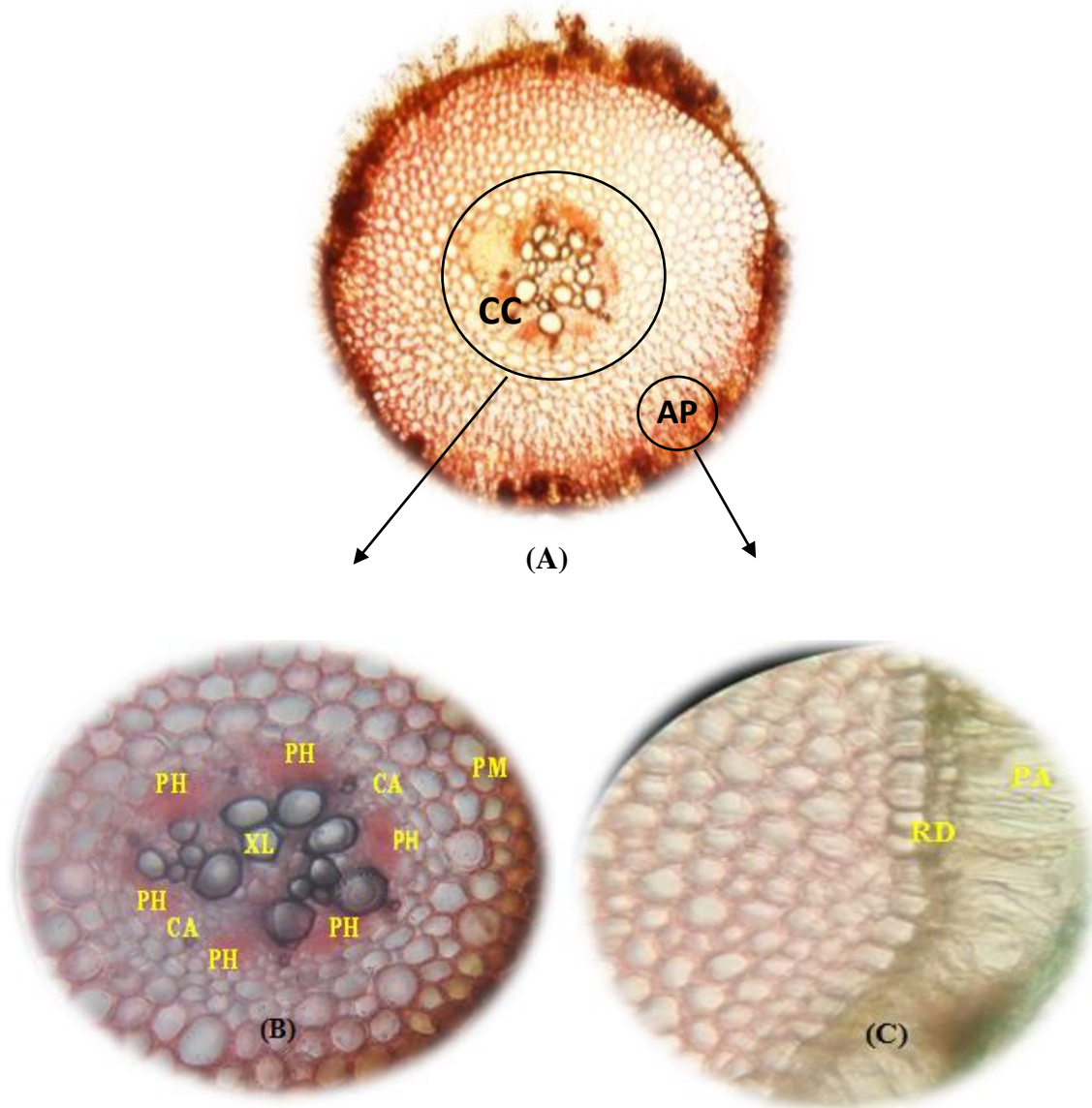


Figure 14 : Observation microscopique d'une coupe transversale de la racine de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut); A : Vue générale (GX10) ; B : vue détaillée cylindre centrale (GX40) ; C : vue détaillée Assise pilifère (GX40).

PH : phloème ; XY : xylème ; CA : cambium ; PM : parenchyme médullaire ; RD :Rhizoderme ;PA : Poils absorbants ; AP : Assise pilifère ; CC : Cylindre centrale.

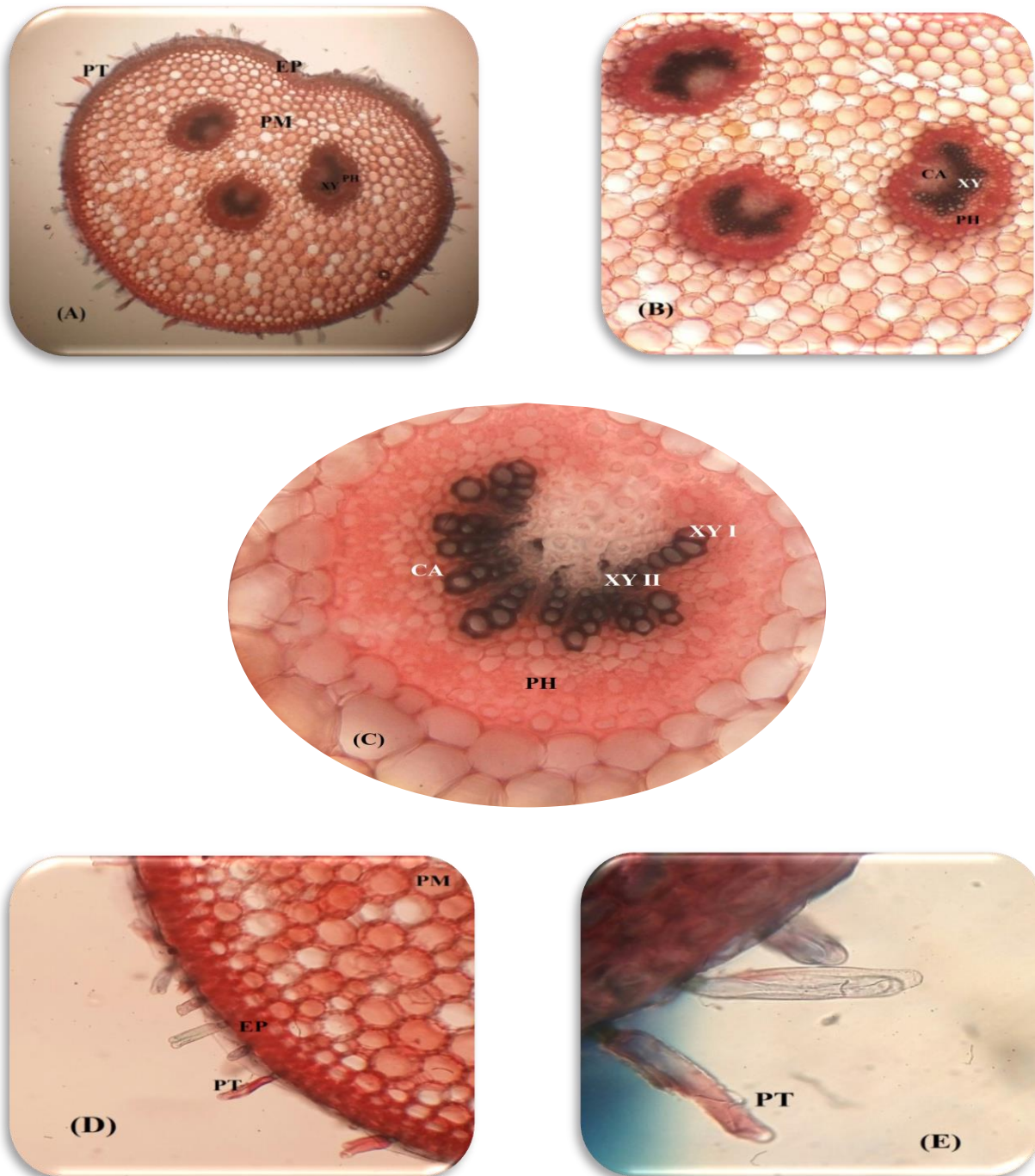
3.1.2. Structure du pétiole de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) :

Figure 15 : Coupe transversale du pétiole de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

(A) : vue d'ensemble du pétiole (GX4) ; (B) : vue générale du pétiole (GX10) ; (C) : vue détaillée de faisceaux conducteurs (GX40) ; (D) : vue détaillée de l'épiderme (GX10) ; (E) : vue détaillée des poils tecteurs (GX40).

EP : épiderme ; PM : parenchyme médullaire ; PH : phloème ; XY I : xylème primaire ; XY II : xylème secondaire ; CA : cambium ; PT : poil tecteur.

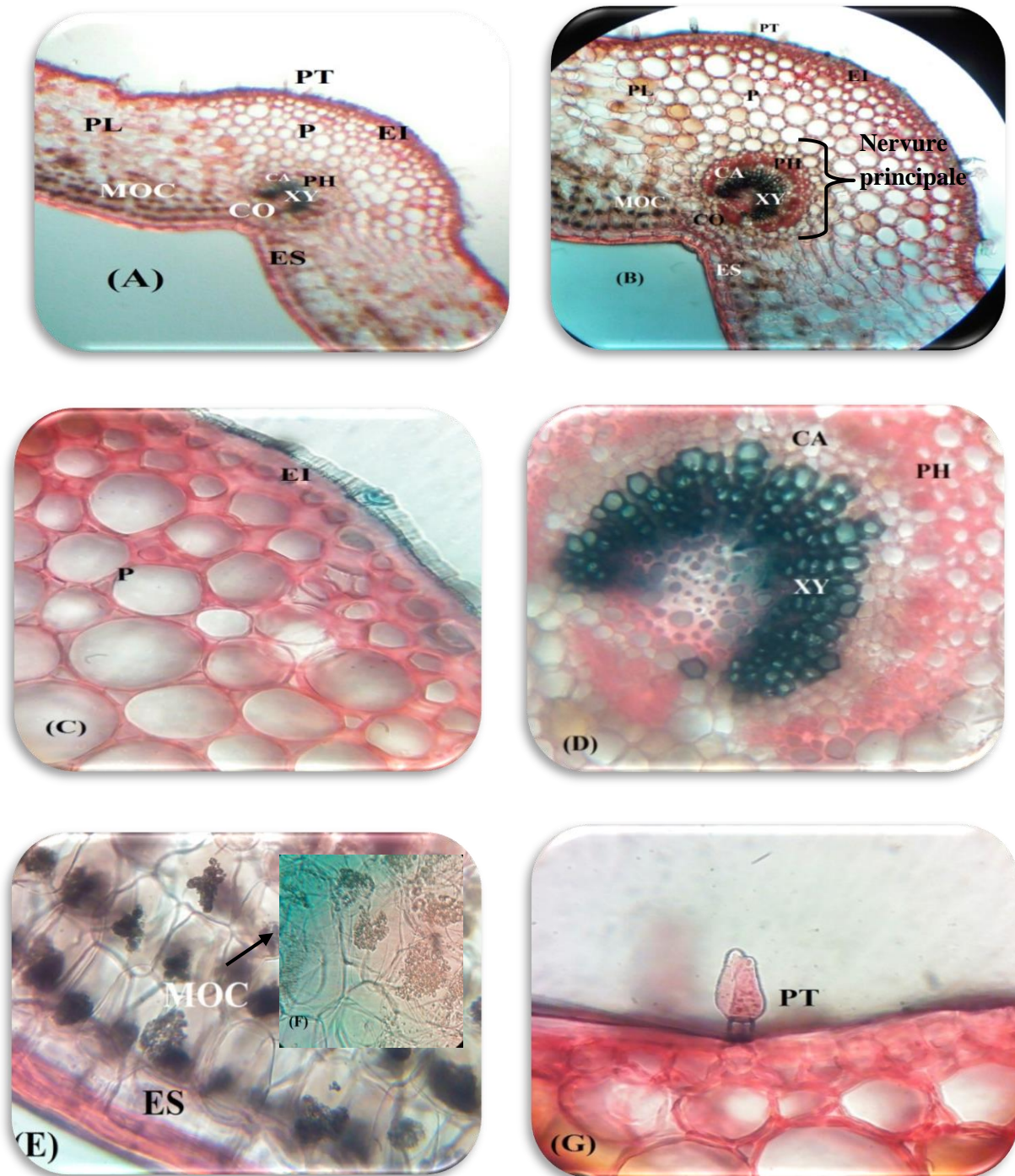
3.1.3. Structure de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut):

Figure 16 : Coupe transversale de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) ;
 (A): Vue générale (GX4). (B): Vue générale (GX10). (C): Vue de détail
 d'épiderme(GX40). (D) : Vue détaillée de faisceaux conducteurs (GX40). (E) : Vue détaillée
 de parenchyme palissadique (GX40). (F) : Vue détaillée de Macles d'oxalate de calcium
 (GX100). (G) Vue détaillée d'un poil tecteur(GX40) ;

EI : épiderme inférieure ; ES : épiderme supérieure ; PH : phloème ; XY : xylème ; CA :
 cambium ; PT : poil tecteur ; PL : parenchyme lacuneux ; P : parenchyme ; MOC : Macles
 d'oxalate de calcium.

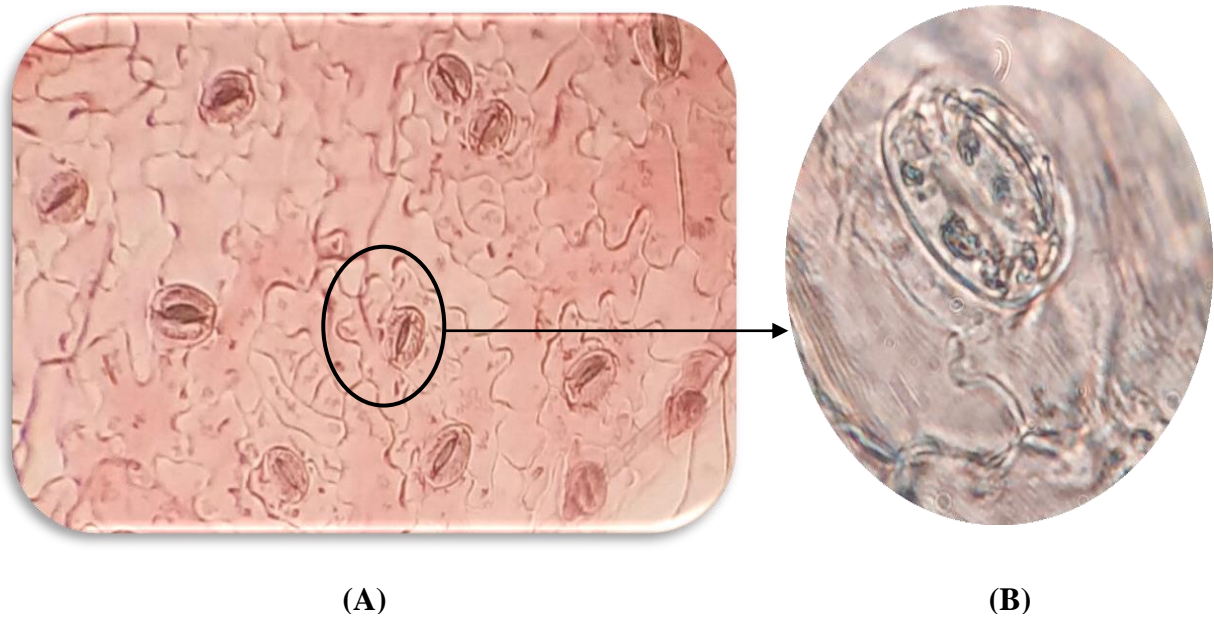


Figure 17: Observation microscopique des stomates du *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), de type Paracytique ; (A) : Vue générale des stomates (GX40), (B) : Détail d'un stomate (GX100).

L'examen microscopique des organes de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) nous a permis de déterminer les observations ci-dessous:

✓ **Histologie de la racine :**

L'observation au microscope optique aux grossissements (GX10) (GX40) des coupes histologiques réalisées au niveau de la racine de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), nous ont permis d'observer de l'extérieur vers l'intérieur les tissus suivant (Figure 14) :

Poil absorbant (PA) : C'est une expansion des cellules épidermiques, a un grand rôle de protéger la plante contre la dessiccation et la collecte de l'eau et des sels minéraux présents dans le sol.

Rhizoderme (RD) : est un tissu de revêtement ou tissu de protection formé d'une seule assise superficielle. De nombreuses cellules du rhizoderme s'y différencient en poils absorbants.

Parenchyme médullaire (PM) : au centre des jeunes racines accumulent des cellules primaires issues des divisions initiales au sein de la très jeune racine ; tissu de remplissage ; occupe le centre de la racine, il assure l'absorption.

Cambium (CA) : couche de cellules non différenciées ou embryonnaires.

Phloème (PH) : tissu fondamentale entouré Xylème, formé de cellules très allongées, situé juste au-dessus de la moelle.

Xylème (XY) : ce sont des faisceaux de bois, situé juste au-dessus de la moelle avec des petites cellules angulaires et circulaires caractérisées par une différenciation centripète.

✓ **Histologie du pétiole :**

La réalisation des coupes au niveau du pétiole de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), puis l'observation microscopique aux différents grossissements (GX4), (GX10), (GX40) nous ont permis de distinguer que la forme du pétiole est cylindrique (Figure 15). Cette figure est comparable aux travaux de De Luna et ces collaborateurs en 2017 sur l'étude anatomique du pétiole de *Jacquinia armillaris* (famille des primulacées).

De l'extérieur vers l'intérieur, on a distingué les structures suivantes;

Epiderme (EP) : Tissu de protection qui permet à la plante les échanges avec le milieu extérieur, formé d'une seule assise superficielle.

Poil tecteur (PT) : C'est une expansion des cellules épidermiques, son rôle la protection de la plante.

Phloème (PH) : Faisceau de cellules à paroi cellulosique coloré en rouge, il assure la circulation de la sève élaborée, forme un tissu conducteur.

Cambium (CA) : Couche de cellule non différenciées ou embryonnaires.

Xylème (XY) : Faisceau de cellules en une forme pentagonale à parois épaisses colorées en vert. On observe deux types ; primaire (**XY I**) et secondaire (**XY II**).

De Luna et *al.*, en 2017, ont montré que chez les espèces de la famille de Primulacées les faisceaux vasculaires sont collatéraux et entourés d'une gaine sclérenchymatique.

Parenchyme médullaire (PM) : Au centre des jeunes pétioles s'accumulent des cellules primaires issues des divisions initiales au sein du très jeune pétiole ; tissu de remplissage.

✓ **Histologie de la feuille**

L'observation microscopique d'une coupe transversale de feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) (Figure 16) a permis d'observer les tissus suivants :

Epiderme : Constitue la couche de cellules la plus externe recouvrant la plante, joue un rôle dans la protection des tissus internes.

- **L'épiderme supérieur (ES)** : Imperméable grâce à une cuticule, évitant l'évaporation de l'eau circulant dans les méats aérifères (Ouchtati, 2018). Formé d'une seule couche de cellules, il ne contient pas de chloroplastes, donc ne joue aucun rôle dans la photosynthèse, mais laisse passer la lumière.
- **L'épiderme inférieur (EI)** : Formé d'une seule couche de cellules jointives puis de la cuticule imperméable. Dans une étude sur les caractéristiques morphologique et anatomique de quelques espèces de la famille des Primulacées, De Luna et ses collaborateurs en 2017, ont décrit des cellules de d'épiderme monocouche composé de cellules carrées ou couchées.

Parenchyme (P) : Tissu de forme sphérique à paroi mince, c'est un tissu de soutien et de réserve les cellules de ce colorées en rose.

- **Parenchyme lacuneux (PL)** : Composées de plusieurs couches de cellules de forme plus arrondie et disposées de façon plus disjointe. Les espaces entre les cellules servent à la circulation des gaz (O₂ et CO₂) et de l'eau (H₂O) à travers toute la plante. Les cellules du parenchyme lacuneux contiennent également des chloroplastes. Dans une étude comparative de l'anatomie des feuilles de cinq genres néotropicaux de Primulaceae, De Luna et *al.*, en 2017, ont montré que Le parenchyme palissadique est composé d'une ou deux couches, et le parenchyme lacuneux présente des couches de 4 à 10 cellules.

Poil tecteur (PT) : C'est une expansion des cellules épidermiques, jouant un rôle dans la protection de la plante, notamment contre la dessiccation (Speranza et Calzoni, 2004).

Phloème (PH) : Riche en substances organiques synthétisées par le parenchyme chlorophyllien. Assure la circulation de la sève élaborée, solution minérale du sol ayant pénétré dans le végétal (Figure 16).

Xylème (XI) : Assure la circulation de la sève brute, solution minérale du sol ayant pénétré le végétal au niveau de l'assise pilifère et on distingue :

- Le metaxylème : Des grosses cellules. - Le protoxylème : Petit cellules.

Cambium : Le cambium est une fine couche de cellules méristématiques située entre le xylème secondaire et phloème secondaire.

Macles d'oxalate de calcium (MOC) : Les feuilles sont riches en oxalates de calcium qui s'accumulent généralement dans le parenchyme cortical et médullaire.

Stomates : Les stomates sont limités à la surface inférieure des feuilles de *Cyclamen africanum*. Ce dernier est très fréquent chez d'autres espèces de la famille des Primulacées (De Luna et al., 2017). Ils sont abondants et en forme paracytique (les deux cellules annexes sont parallèles aux cellules de garde). Cette forme est présente également chez les espèces du genre *Cyclamen* (Golshan Zare et al., 2022). Ces structures (que l'on peut considérer comme des "mini-organes") et qui est réparti sur toute la surface foliaire permettent de manière interactive de réguler les échanges gazeuses (Saadou, 2008), (Figure 17).

3.2. Screening chimique de *Cyclamen africanum* (Boiss& Reut) :

Les tests phytochimiques réalisés sur l'infusé, la poudre et le macéré de *Cyclamen africanum* ont montré la présence de plusieurs composés chimiques.

Les essais de caractérisation des métabolites secondaires effectués sur les extraits des feuilles, pétioles de *Cyclamen africanum* ont révélé la présence des flavonoïdes, des terpènes et stéroïdes, les leuco-anthocyanes. Nous remarquons également la présence des anthocyanes, des saponosides, des alcaloïdes dans les pétioles et les tubercules. Par ailleurs, nous constatons que seules les feuilles de *Cyclamen africanum* contiennent des tanins. Cependant, les trois parties étudiées de la plante sont dépourvues des coumarines. On observe également la présence de l'amidon dans les tubercules uniquement (Tableau 08).

Tableau 08: Profil phytochimique des différents organes de *C. africanum* (Boiss&Reut).

Principes actifs	Feuille	Pétiole	Tubercule
Tanins	(+)	(-)	(-)
Anthocyanes	(-)	(+++)	(++)
Saponosides	(-)	(+++)	(+++)
Leuco-anthocyanes	(+)	(++)	(-)
Alcaloïdes	(-)	(+)	(+)
Flavonoïdes	(+)	(+)	(-)
Terpènes et stéroïdes	(++)	(+)	(-)
Amidon	(-)	(-)	(+)
Coumarines	(-)	(-)	(-)

(+) : présent, (-) : absent.

La nature des métabolites secondaires mis en évidence par le screening phytochimique de *Cyclamen africanum* explique en partie sa valeur et son utilisation en médecine traditionnelle.

Notre drogue est très riche en saponosides, ces résultats sont en accord avec les travaux de Betina (2014) ; ils ont démontré que des fractions saponosidiques extraites de *Cyclamen africanum* jouent un rôle clé dans l'activité anti-inflammatoire.

Mazouz and Djeddi (2014) ont prouvé par une étude phytochimique de la partie aérienne de *Cyclamen africanum* la présence de tanins, polyuronides, triterpène et stérols, ces composés phytochimiques, d'ailleurs doués de plusieurs activités pharmacologiques (anticancéreuse et antioxydante).

3.3. Rendement des extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) :

Le rendement a été évalué sur les extraits brut des différents organes de la plante (Feuille, Pétiole, Tubercule). Il a été déterminé par rapport à 10g de matériel végétal sec et broyé est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 09 et la figure 18.

Tableau 09: Rendement des extraits obtenus de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

	Extrait(Pétiole)	Extrait (Feuille)	Extrait (Tubercule)
Couleur	Vert-noirâtre	Marron	Rouge- pourpre
Aspect	Pâteux	Pâteux	Visqueux
Rendement	12,6 %	67,6 %	40,4%

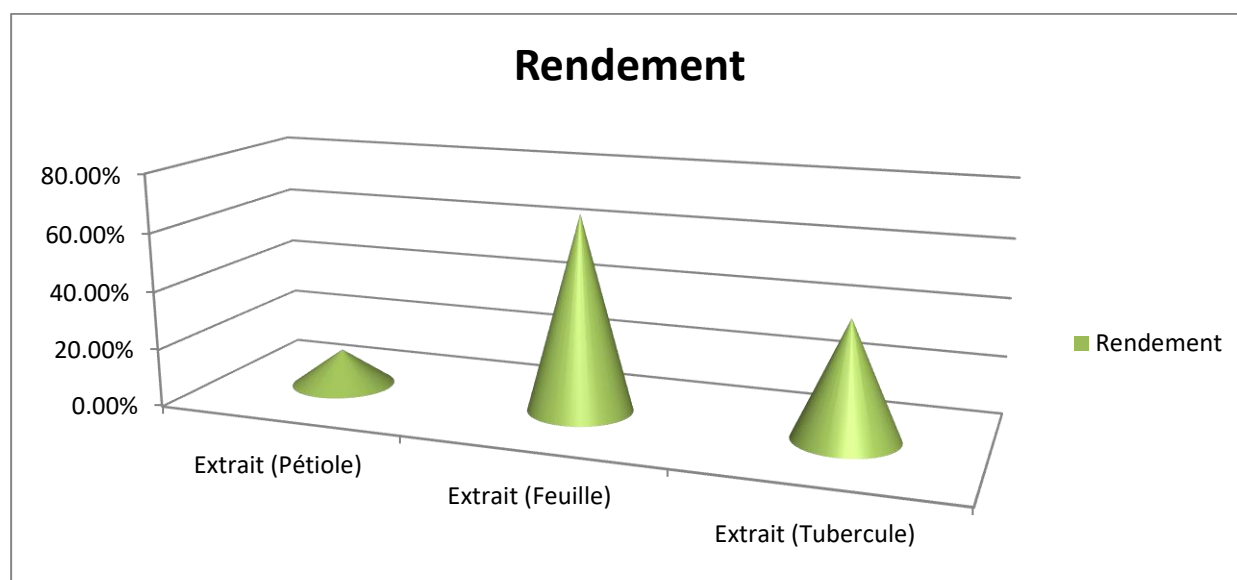


Figure 18 : Rendement des extraits bruts de différentes parties de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

D'après les résultats obtenus nous remarquons que les rendements des extraits varient d'une partie de la plante à une autre, ces derniers montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait de la feuille avec un taux de 67,60%, suivi de tubercule avec un taux de 40,40 % et le plus faible est celui du pétiole avec un taux de 12,60%. On constate que les rendements d'extraction dépendent de l'organe de la plante. Par ailleurs, le rendement de l'extrait de la feuille est plus élevé, ce qui témoigne la richesse de notre plante en substances polaires.

La variation de rendement est probablement due à la composition chimique de la plante, la nature du sol, la technique d'extraction, la nature du solvant utilisé et à la teneur en principe active de la feuille qui est un organe de stockage en effet la feuille accumule tous les composés organique et inorganique sous forme de réserve que la plante utilise en cas de besoin. (Soufiane, 2017).

3.4. Composition chimique de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut):

3.4.1. Teneurs des flavonoïdes:

La courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage est celle de la quercetine (Figure 19).

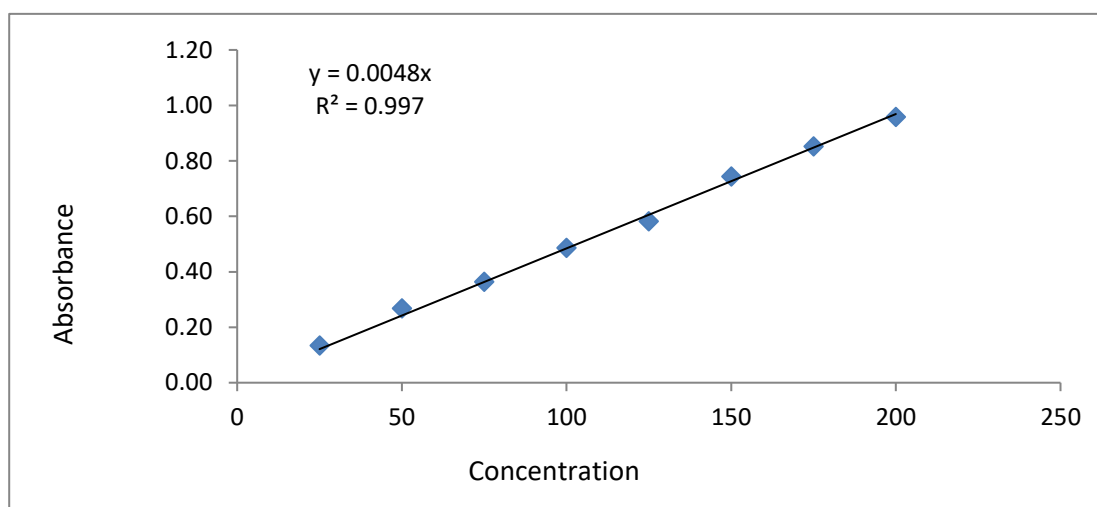


Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'absorbance de la quercetine en fonction des concentrations.

La composition des flavonoïdes déterminée sur les différentes parties de *Cyclamen africanum* est représentée dans le Tableau 10.

Tableau 10: Les flavonoïdes totaux des extraits éthanoïque de *C. africanum* (Boiss&Reut).

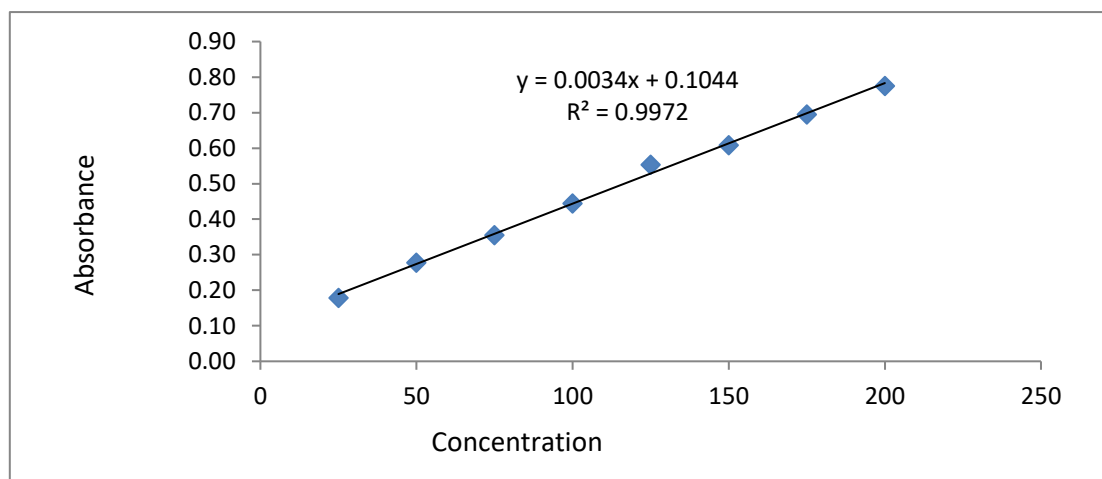
Extraits 1mg/ml	Flavonoïdes Totaux ($\mu\text{g EQ/ml}$)*
Pétiole	$25,555 \pm 7,954^b$
Tubercule	$11,041 \pm 0,147^c$
Feuille	$73,819 \pm 12,521^a$

Les valeurs sont des moyennes \pm SD (n = 3). Les valeurs avec des lettres d'indice différentes dans la même colonne sont significativement différentes à $P < 0,05$. EQ : équivalent de quercetine.

L'extrait de la feuille de *C. africanum* contient $73,819 \pm 12,521 \mu\text{g QE/ml}$ de flavonoïdes exprimé en μg équivalent de quercetine par ml d'extrait de la plante, cette teneur est élevée par rapport à l'extrait de pétiole qui contient $25,555 \pm 7,954 \mu\text{g QE/ml}$ de flavonoïdes et l'extrait de tubercule qui en contient $11,041 \pm 0,147 \mu\text{g QE/ml}$

3.4.2. Teneurs des polyphénols totaux :

Les polyphénols totaux de l'extrait éthanoïque de la plante *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a été effectué en se référant à une courbe d'étalonnage de standard d'acide gallique (Figure 20).

**Figure 20 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique en fonction des concentrations.

La composition en polyphénols totaux dans les trois extraits est montrée dans le tableau 11.

L'extrait de la feuille contient $122,888 \pm 4,682 \mu\text{g GAE/ml}$ de polyphénols exprimés en μg équivalent de l'acide gallique par ml d'extrait de la plante, tandis que l'extrait de pétiole contient $88,555 \pm 9,720 \mu\text{g GAE/ml}$ de polyphénols, alors que l'extrait de tubercule en contient

15,176±1,060µg GAE/ml. En comparant les trois extraits, on trouve que l'extrait de la feuille possède la teneur la plus élevée en polyphénols.

Tableau 11: Dosage des polyphénols totaux des extraits éthanoïques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

Extraits 1mg/ml	Total phénolique (µg EAG/ml)*
Pétiole	88,555±9,720 ^b
Tubercule	15.176±1.060 ^c
Feuille	122,888±4,682 ^a

Les valeurs sont des moyennes ± SD (n = 3). Les valeurs avec des lettres d'indice différentes dans la même colonne sont significativement différentes à P < 0,05. EAG : équivalents d'acide gallique.

Dans une étude de la même espèce, *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), Gaamoune et Nouioua (2020), ont noté dans l'extrait méthanoïque de la partie aérienne, la présence de polyphénols avec une valeur de 43,49 ± 1,04 mg EAG / GE et de flavonoïde avec une valeur de 2,48 ± 0,08 mg QG / GE.

Dans le même contexte une étude faite par (Nouari S, 2018), montre que l'extrait éthanoïque de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) contient 7,337± 1,312 GAE/g d'extrait de polyphénols et 24,429± 5,742g EQ/g d'extrait de flavonoïdes. Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux que nous avons obtenus dans notre étude.

Toujours dans le même contexte, (Al-Ismail et al., 2007), ont montré que l'extrait éthanolique de la feuille de *Cyclamen persicum* contient 166.9 ± 8.5 mg/g d'extrait de polyphénols.

Cette variabilité de la composition chimique des végétaux est probablement due à la sensibilité de ces métabolites secondaires aux conditions édaphique et non édaphique (Falleh et al., 2008), à la méthode d'extraction (Bourgou et al., 2016), à l'origine géographique, au stade de développement (Sadou, 2017), à l'organe de la plante (Dif et al., 2015), et selon la variabilité biologique (Djeridane et al., 2006).

3.5. La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

Pour avoir une meilleure séparation des extraits polaires de notre plante *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), nous avons utilisés plusieurs systèmes d'élution. Le système de migration BAW

(60 :15 :25) (v/v/v) a permis d'obtenir la séparation la plus acceptable par rapport aux autres systèmes.

L'analyse par CCM des extraits polaires, nous a permis de révéler la présence de 02 taches dans l'extrait éthanolique de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut). Les Rf sont : 0.48 pour la tache jaune à l'œil nue (la couleur reste jaune aussi sous l'UV 356 nm) et 0.88 pour la tache vert/jaune à l'œil nue (prend la couleur orange sous l'UV 356 nm) (Tableau 12).

Tableau 12: Résultat de la séparation par CCM d'extrait de la feuille de *Cyclamen africanum* dans le système de solvant B.A.W (60 : 15 : 25) (v/v/v).

Système d'éluant	Rf cm	La couleur de la tache a l'œil nue	La couleur de la tache sous UV 365 nm
n-Butanol / Acide acétique / Eau (4 :1 :5) (v/v/v)	0.48	jaune	Jaune
	0.88	Vert/jaune	Orange

Selon Khalfallah (2013) on trouve que la tache jaune de chromatogramme de CCM révélée sous l'UV correspondant à l'un de ces composants flavonoïdiques : Flavone ou Flavonol ou Aurone ou Chalcone ou Flavanone ou bien Dihydroflavonol et la tache orangé de chromatogramme de CCM révélée sous l'UV correspondant soit à Flavonol ou Isoflavone.

Donc ces résultats affirment l'existence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans l'extrait de la feuille de la plante étudiée, ces résultats sont en concordance avec les résultats obtenus par le criblage phytochimique de (Nouari, 2018).

3.6. Composition chimique de l'extrait éthanolique de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) par HPLC :

Les extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) ont été soumis à une analyse par Chromatographie en Phase Liquide (HPLC) pour la première fois. Les profils chromatographiques des extraits sont présentés dans les figures 21, 22 et 23. Les extraits de feuilles, de pétioles et de tubercules de *C. africanum* ont montré la présence de l'acide chlorogénique, de l'acide caféique et de la rutine. En outre, l'extrait de feuilles semble contenir du kaempférol.

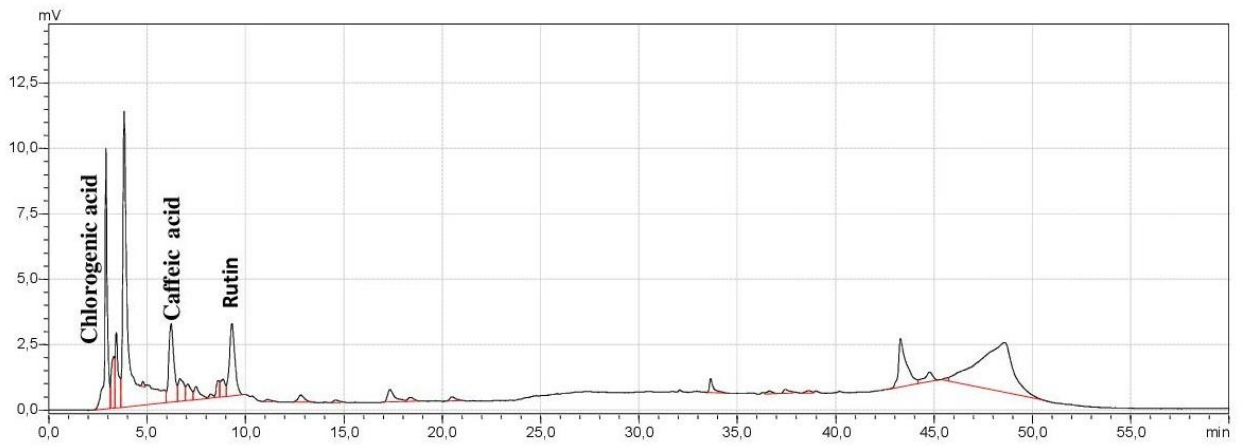


Figure 21 : Chromatogramme de l'extrait des pétioles de *C. africanum* (Boiss&Reut).

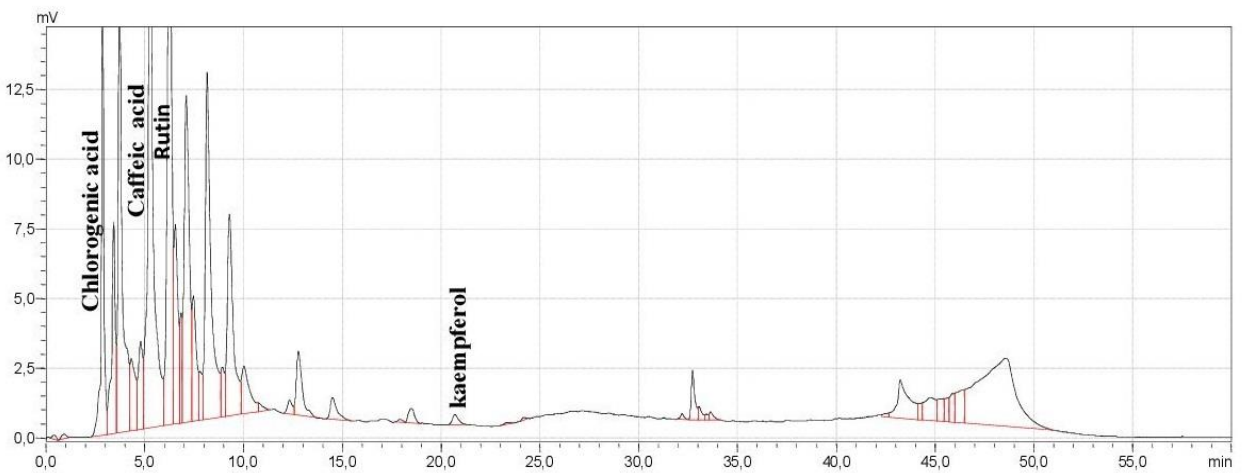


Figure 22: Chromatogramme de l'extrait des feuilles de *C. africanum* (Boiss&Reut).

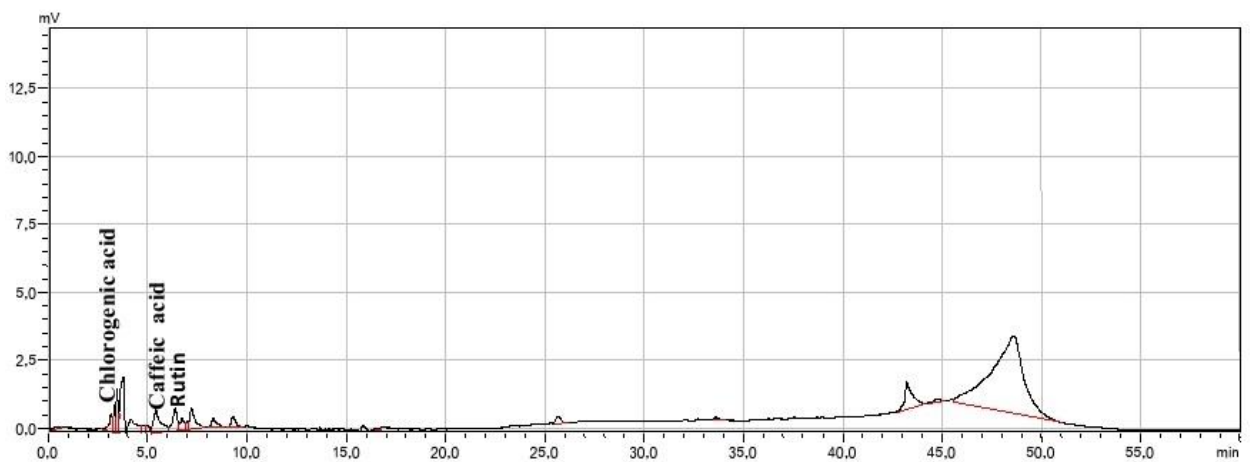


Figure 23: Chromatogramme de l'extrait des tubercules de *C. africanum* (Boiss&Reut).

Le kaempférol possède plusieurs propriétés pharmacologiques, notamment des activités antitumorales, antidiabétiques, antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, cardioprotectrices et neuroprotectrices, et il est utilisé dans la chimiothérapie du cancer (Imran et *al.*, 2019).

Une étude récente a prouvé l'utilisation de la rutine (également appelée quercétine-3-O-rutinoside) comme thérapie pour l'insuffisance veineuse et le traitement du diabète de type II (Lixon et Quinet 2020). L'acide caféique est un antioxydant et pourrait donc contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires. L'acide chlorogénique est un polyphénol alimentaire important et biologiquement actif, jouant plusieurs rôles importants et thérapeutiques tels que antiviral, antibactérien, antioxydant, hépatoprotecteur, cardioprotecteur, anti-obésité, anti-inflammatoire et antimicrobien (Naveed et *al.*, 2018).

Selon la littérature, jusqu'à ce jour aucune étude n'a été accomplie sur la composition chimique de l'extrait éthanolique de l'espèce *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut). Cependant plusieurs composés ont été identifiés précédemment chez d'autres espèces de *Cyclamen*.

Des résultats obtenus par Mahomoodally et *al.*, (2021) ont confirmé la présence des saponines cyclacoumin et cyclaminorin, qui avaient été précédemment identifiées à partir d'extraits de tubercules de *C. coum*. En outre, d'autres composés phénoliques, à savoir la phlorétine C-dihexoside, la quercétine 3-galactoside et la catéchine, ont également été identifiés dans les extraits de tubercules de *C. coum*.

Cyclacoumin ou cyclamine, ont été également caractérisés à partir des extraits de *C. cilicium*. La composition chimique de l'extrait de feuilles de *C. cilicium* était légèrement différente de celle de l'extrait de fleurs. Certains composés absents des extraits de fleurs et de feuilles ont été identifiés dans les extraits de racines et de tubercules. La quantité de composés phénoliques à la fin de l'HPLC peut s'accorder aux conditions de la région où elle pousse et à la méthode d'extraction de la plante (Kelebek et *al.*, 2012).

En 2021, Turan et Mammadov ont rapporté que l'acide férulique a été trouvé à 4483,34 mg/kg en tant que composé majeur dans *C. cilicium*.

En 2018, Turan et Mammadov ont identifié neuf composés phénoliques ont été identifiés dans *C. alpinum* et l'acide 4 hydroxy benzoïque (125,33 µg/g) a été trouvé comme le composé majoritaire.

Cela fait des espèces de ce genre des candidats pour de nouveaux médicaments dans la prévention des maladies humaines. Les profils chromatographiques des extraits de *C. africanum* analysés par HPLC montrent plusieurs pics, qui correspondent à plusieurs types de composés phénoliques. Selon nos résultats l'extrait de la feuille est plus riche en composants chimiques par rapport aux extraits de pétiole et de tubercule. Cependant, en raison du manque de standard, le composé majoritaire n'a pas été identifié dans l'étude; nous espérons que ces composés pourront être développés à l'avenir.

3.7. Activités pharmacologiques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) :

3.7.1. Activité anti-oxydante de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) :

Les radicaux libres sont des espèces très réactives dérivées de l'oxygène qui s'attaquent à nos cellules, ils peuvent entraîner diverses maladies telles que le cancer, la cataracte, le vieillissement, etc. Par conséquent, les antioxydants qui peuvent éteindre les radicaux libres peuvent être impliqués dans la prévention de ces maladies (Wu, C et *al.*, (2014). L'évaluation de l'activité antioxydante de plantes, ne peut pas être effectuée avec une seule méthode, car aucun test unique ne peut reflète avec précision tous les antioxydants pour un système mixte ou complexe (Zengin, G. et *al.*, (2014), Du, G. et *al.*, 2009).

Dans cette étude, nous avons jugé utile d'évaluer les extraits de *Cyclamen africanum* par plusieurs tests pour obtenir des résultats plus instructifs sur le potentiel antioxydant. Nous avons choisi les huit (08) méthodes suivantes :

3.7.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) :

Le test de DPPH est un des testes le plus utilisé pour déterminer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes (Bounatirou et *al.*, 2007). Il est largement utilisé pour tester les composés agissant en tant que donneur d'hydrogène pour le piégeage des radicaux libres (Aydın, C. et *al.*, 2016).

Les résultats de l'activité antioxydante au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (Figure 24).

D'après les résultats obtenus, on remarque une augmentation de l'activité anti-radicalaire proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits testés.

L'extrait de la feuille a témoigné une forte activité inhibitrice du radical, avec une valeur d' CI_{50} de l'ordre de $(78,66 \pm 12,09 \mu\text{g/mL})$ suivi de l'extrait du pétiole avec une valeur d' IC_{50}

comprise entre ($80,53 \pm 6,85 \mu\text{g/mL}$) cependant l'extrait de tubercule qui a montré une activité antioxydante moins importante avec une valeur d' IC_{50} égale à ($149,19 \pm 18,23 \mu\text{g/mL}$). L'activité antiradicalaire des trois extraits reste légèrement inférieure à celle des standards BHA et BHT.

L'extrait de la feuille a montré une meilleure activité antiradicalaire par rapport à l'extrait de pétiole et du tubercule, bien que le contenu en polyphénols de ce dernier soit supérieur. Les capacités de piégeage du radical sont classées dans l'ordre : BHA > BHT > Feuille > Pétiole > Tubercule.

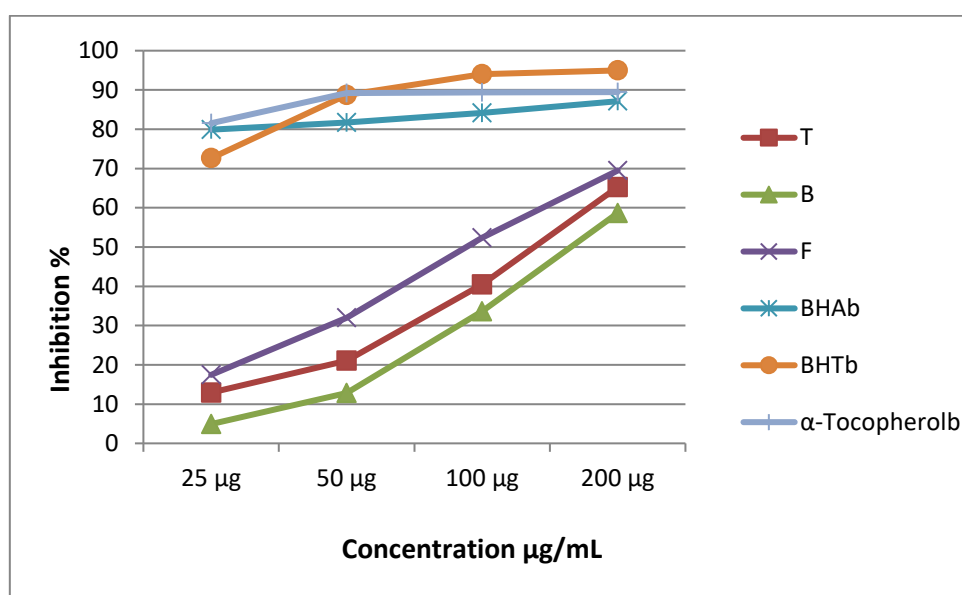


Figure 24: Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) et des standards contre le radical DPPH.

3.7.1.2. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) :

C'est une méthode basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm, après la formation d'un complexe stable entre les ions néocuproïne et le cuivre (I). Ce complexe est produit par la réduction des ions du cuivre (II) par les composés potentiellement antioxydants. Les résultats sont résumés dans la figure 25.

Les résultats montrent que l'extrait éthanoïque de la feuille possède une activité antiradicalaire importante avec une $A_{0.5}$ de $42,01 \pm 1,91 \mu\text{g/mL}$, ainsi que l'extrait de pétiole qui montre aussi une activité antiradicalaire importante mais inférieure à celle de la feuille avec une $A_{0.5}$ de $64,43 \pm 1,99 \mu\text{g/mL}$. Tandis que l'extrait éthanoïque de tubercule montre une activité antioxydante moyenne avec une $A_{0.5}$ de $165,39 \pm 15,15 \mu\text{g/mL}$. En comparant les activités des

trois extraits avec les standards, on trouve que l'extrait de la feuille ($A_{0.50}=42,01\pm 1,91\mu\text{g/mL}$) a montré un pouvoir réducteur du cuivre plus intéressant. Toutefois l'activité des trois extraits est inférieure à celle des standards BHT et BHA.

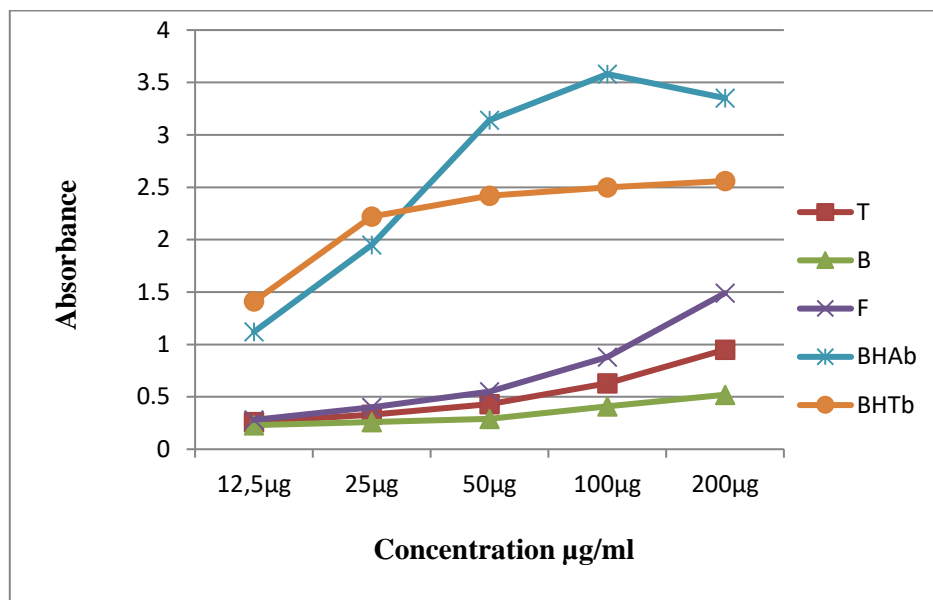


Figure 25: Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC) par les extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) et des standards.

7.3.1.3. Activité antioxydante déterminée par la méthode d'ABTS

Le test antioxydant ABTS détermine la production de radicaux $\text{ABTS}^+\bullet$ provoquée par le persulfate de potassium (Cheribet, 2019). Les résultats de la capacité des extraits de *Cyclamen africanum* à piéger les radicaux libres a été déterminée par la méthode ABTS sont dressés dans la figure 26.

Les résultats du pourcentage d'inhibition représenté dans la figure 26 en fonction des concentrations montre que :

L'extrait éthanolique de la feuille possède une activité anti radicalaire très importante contre l'ABTS avec une CI_{50} de $4,72\pm 1,77\mu\text{g/mL}$, bien que l'extrait de pétiole ait montré une bonne activité antiradicalaire mais qui reste un peu faible par rapport à l'extrait de la feuille, avec CI_{50} de $18,05\pm 1,38\mu\text{g/mL}$, suivi par l'extrait éthanolique du tubercule qui montre une activité antiradicalaire moyenne contre l'ABTS avec une CI_{50} de $32,40\pm 1,18\mu\text{g/mL}$.

En comparant les trois extraits avec les standards, on trouve que l'extrait de la feuille est le plus efficace en activité antioxydante, son activité est supérieure à l'activité des standards.

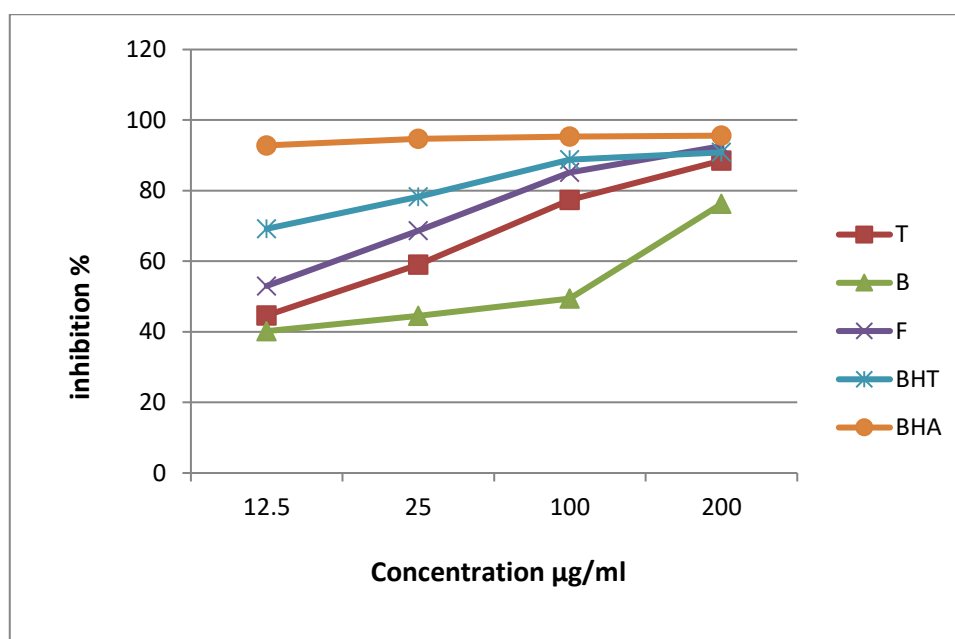


Figure 26: Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) et de standards contre l'ABTS.

3.7.1.4. Activité antioxydante par la méthode de Phenanthroline :

La phénanthroline est une méthode précise, pratique et simple pour la détermination des capacités antioxydante (Szydłowska, 2008). Les résultats de la réduction de Fe^{+3} -phénanthroline par les standards BHT, BHA et les extraits sont affichés dans la figure 27.

Les résultats obtenus ont montré que certains extraits pouvaient agir en tant que piègeurs de radicaux libres et cela s'es traduit par le changement de couleur. L'extrait du pétiole a témoigné une activité antioxydante avec une valeur d' A_{05} de l'ordre de $88,5 \pm 3,71 \mu\text{g/mL}$ cependant l'extrait des tubercules et feuilles ont montré une activité antioxydante beaucoup moins importante avec une valeur d' A_{05} égale à $136,25 \pm 1,44 \mu\text{g/mL}$ et $143,50 \pm 1,06 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

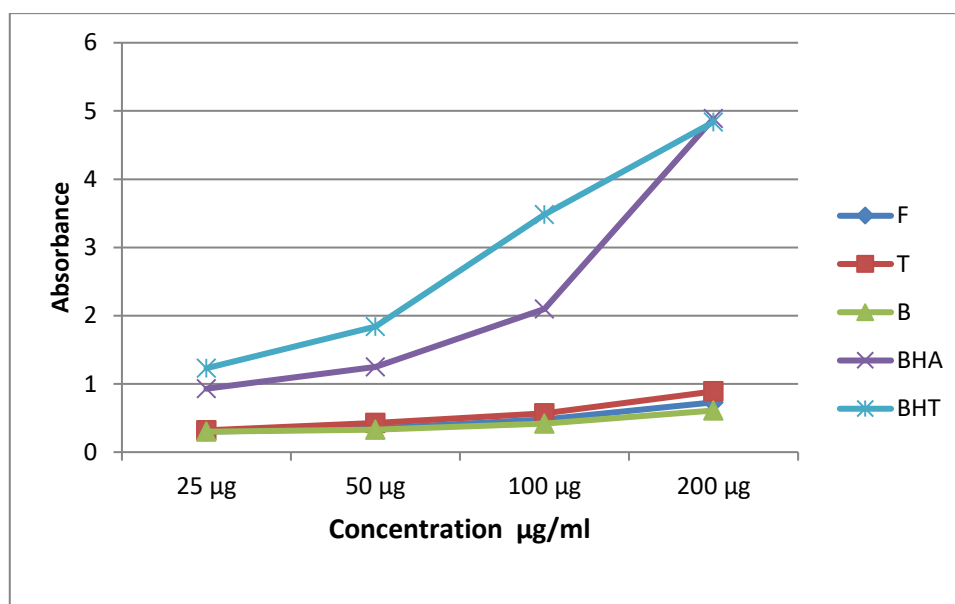


Figure 27 : Activité de phénanthroline par les extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

3.7.1.5. Test du blanchissement du β -carotène (β -carotene bleaching method) :

Cette méthode est basée sur la consommation du β -carotène par la perte de la couleur jaune, due à la réaction avec les radicaux constitués par l'oxydation de l'acide linoléique en émulsion (Bensouici, 2015), dans ce test, l'activité antioxydante peut être mentionnée lorsque la couleur est préservée (Lu, Y. et al., 2014). Les résultats sont résumés dans la figure 28 montre le pourcentage d'inhibition du blanchissement du β -carotène, exercée par les extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* et les antioxydants de référence BHA et BHT. Un pouvoir inhibiteur fort et élevé de l'oxydation couplée de l'acide linoléique a été trouvé dans l'extrait de feuille avec une valeur d' IC_{50} égale à $35,94 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$ (inférieur aux BHA et BHT de référence), l'extrait de tubercule a montré une faible activité avec une valeur $IC_{50} > 800 \mu\text{g/ml}$, l'extrait de pétiole était inactif.

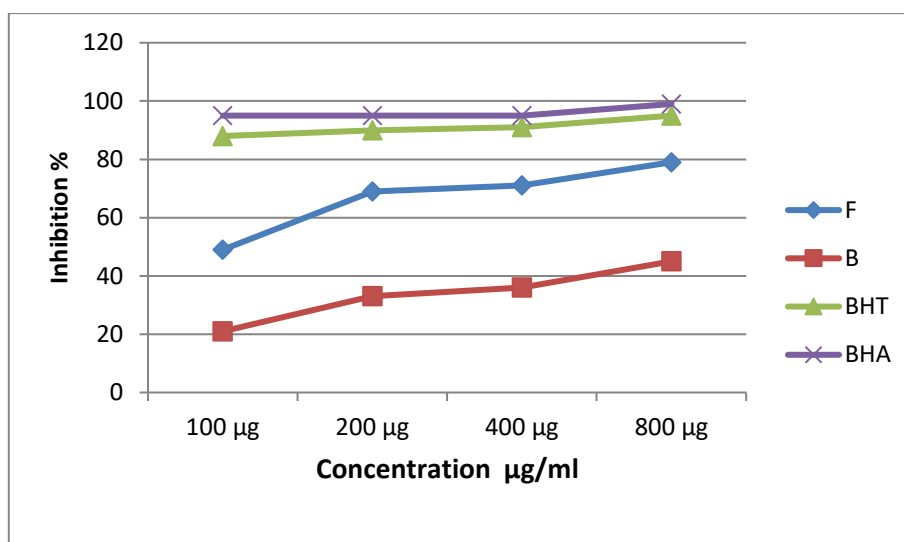


Figure 28: Courbe de pourcentage d'inhibition du β -carotène par les extraits éthanœique de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) et des standards.

3.7.1.6. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power) :

La méthode du pouvoir réducteur appelé FRAP est un essai simple, rapide et reproductible. La présence des réductants dans les extraits provoque la réduction de fer Fe^{3+} complexe ferricyanide en fer ferreux Fe^{2+} (Sofiane et al., 2017). Les résultats du pouvoir réducteur des extraits éthanœiques et de l'acide ascorbique sont représentés dans la figure 29. Tous les extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) présentent une faible activité réductrice avec une valeur $A_{0,5} > 200 \mu\text{g/ml}$.

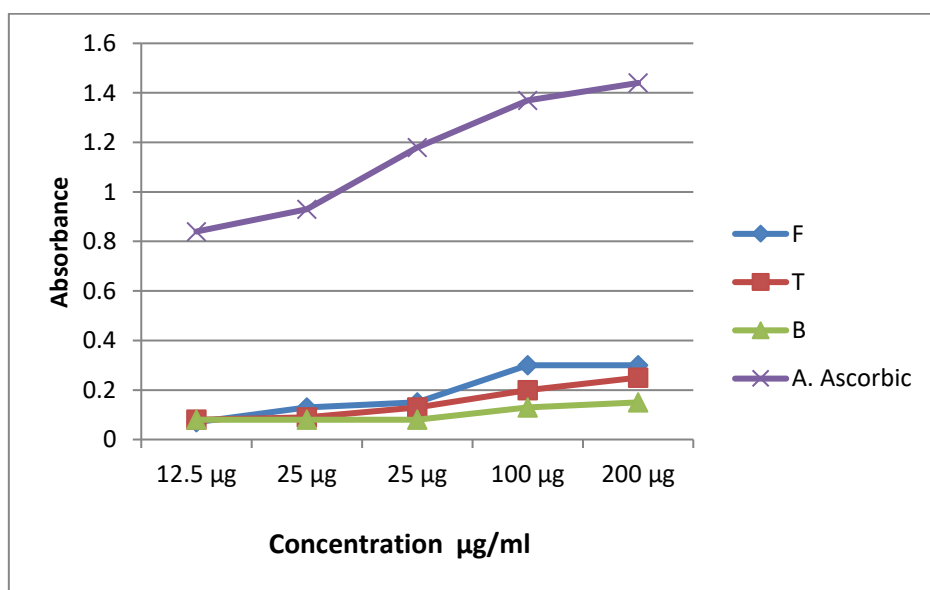


Figure 29 : Courbe de pouvoir antioxydant des extraits éthanœiques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) testé par la méthode de FRAP.

3.7.1.7. Activité du métal chélate :

L'effet chélateur des métaux des l'extrait et de l'étalon EDTA est également indiqué dans le la figure 30. Cependant, l'analyse de régression des extraits de feuilles, de pétioles et de tubercules a montré une faible capacité de chélation des métaux avec des valeurs $IC_{50} > 800 \mu\text{g/ml}$, qui ne sont pas un agent chélateur aussi prometteur que l'EDTA (valeur IC_{50} de $12,11 \pm 0,3 \mu\text{g/ml}$).

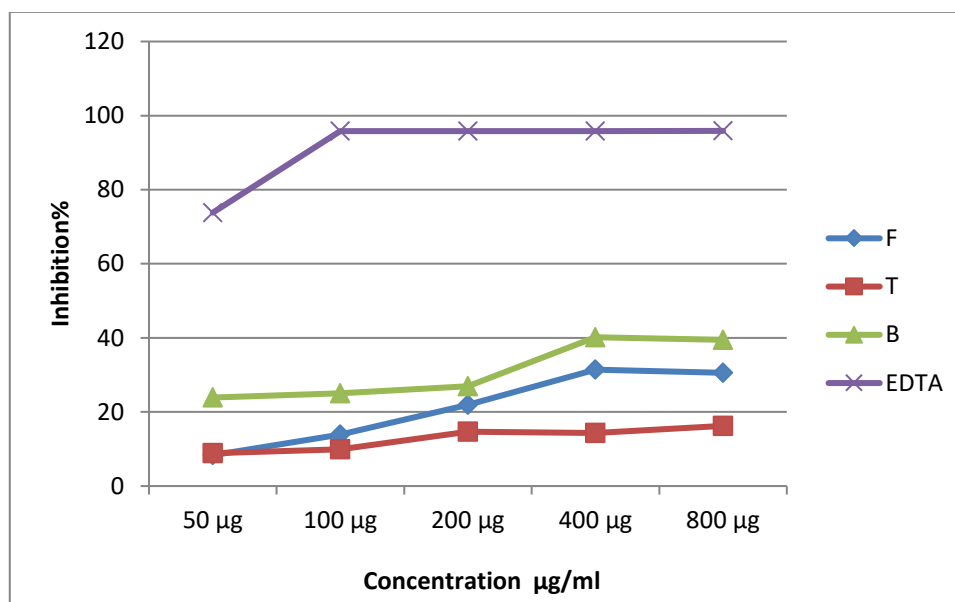


Figure 30: Courbe de pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïque de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) et des standards sur les ions chélates.

3.7.1.8. Piégeage de l'anion superoxyde :

Dans l'activité de piégeage de $HO^{\bullet 2}$, le radical hydroxyle est indirectement confirmé par l'hydroxylation de l'acide p-hydroxybenzoïque Marcio (2013). En ce qui concerne l'activité de piégeage de l'anion superoxyde de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), tous les extraits de ont montré une faible capacité à transférer des électrons avec des valeurs $IC_{50} > 800 \mu\text{g/ml}$ inférieur à celle de l'acide ascorbique (Figure 31).

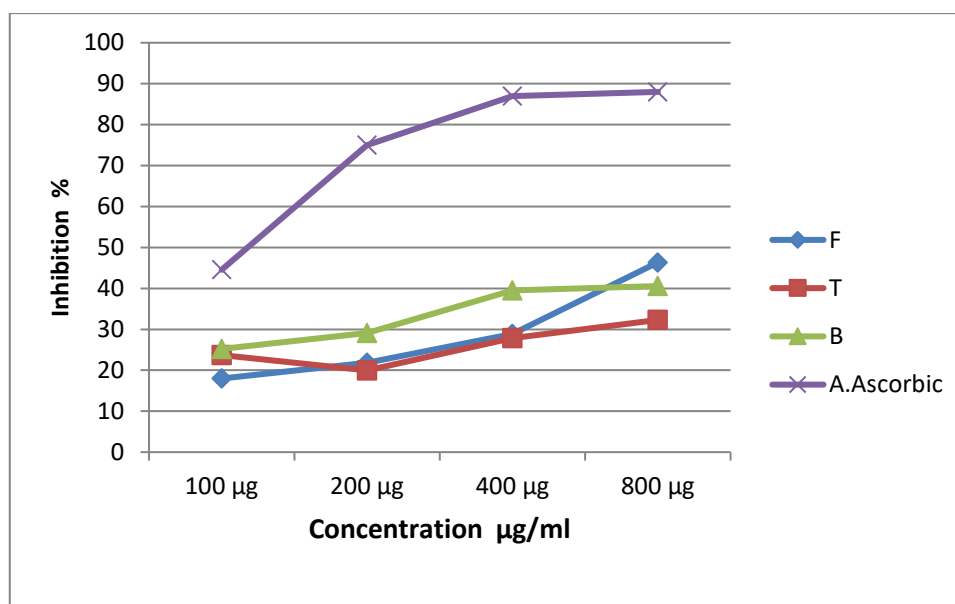


Figure 31 : Activité des extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) sur les anions superoxydes.

D'après les résultats présentés, nous remarquons que les contrôles positifs utilisés possèdent une activité anti-radicalaire supérieure à celle des extraits de la plante étudiée. Les différents extraits sont classés par ordre de réactivité croissante : Les contrôles positifs > feuille > pétiole > tubercule.

En comparant les résultats obtenus par les différentes méthodes, on trouve que la méthode d'ABTS a montré l'activité antioxydante la plus intéressante ($CI_{50} : 4,72 \pm 1,77$). Cette observation est en accord avec les résultats rapportés par Turan et mammadov (2018) qui ont démontré que dans le test ABTS, l'extrait de *Cyclamen alpinium* a montré la plus grande activité de piégeage de radicaux libres ($76,21 \pm 0,32\%$). En 1998, Wang *et al.*, ont signalé que certains composés qui ne sont pas efficaces pour l'activité de piégeage de DPPH sont actifs pour l'activité de piégeage d'ABTS.

Si nous comparons les IC_{50} et les A_{05} des trois extraits testés, nous remarquons que l'extrait éthanolique de feuilles de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a montré l'activité antioxydante la plus puissante, ce qui peut être attribué à sa teneur élevée en composés phénoliques.

L'activité antioxydante des extraits de plantes est généralement liée à la présence de composés phénoliques (Shahidi et Ambigaipalan, 2015). Cependant plusieurs recherches ont noté que l'activité antioxydante est en corrélation avec la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes (Cheribet, 2019). Nos résultats sont cohérents avec d'autres études antérieures, qui

ont signalé une relation étroite entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques (Derakhshan et al., 2018 ; Lekouaghet et al., 2020 ; El Aanachi et al., 2020). En effet, une telle observation a déjà été rapportée chez certaines espèces de *Cyclamen* comme, *Cyclamen Mirabile* (Sarikurkcü, 2011) et *Cyclamen Alpinum* (Turan et al. 2018).

L'activité antioxydante de *C. africanum* est peu rapportée dans la littérature. Notre observation est en accord avec les résultats rapportés par certaines recherches antérieures qui ont démontré que la partie des feuilles de *Cyclamen alpinum* et *Cyclamen mirabile* a montré la plus grande activité de piégeage des radicaux libres (Sarikurkcü, 2011 ; Turan et al., 2018). La méthode de décoloration du β -carotène a été réalisée par Turan et Mammadov (2018) les résultats ont également confirmé que l'extrait de feuilles de *Cyclamen alpinum* avait l'activité la plus élevée.

Mazouz et Djeddi (2014) ont rapporté l'activité antioxydante de différents extraits de parties aériennes de *C. africanum* évaluée à l'aide de DPPH. Les extraits de méthanol ont montré une activité antioxydante intéressante avec une valeur ($IC_{50} = 429,21$ mg/l). Ce résultat est nettement inférieur aux valeurs obtenues dans notre étude sur la même espèce.

Récemment, Gaamoune et Nouioua (2020) ont démontré un effet antiradicalaire intéressant des parties aériennes de *C. africanum* avec une valeur d' $IC_{50} = 36,85 \pm 14,99$ μ g/mL.

Des études antérieures sur l'activité antioxydante de l'extrait de tubercules et de feuilles de *Cyclamen mirabile* (Sarikurkcü, 2011) ont montré une activité de pouvoir réducteur élevée par rapport à celle obtenue dans le présent travail.

L'effet anti-radicalaire de l'extrait aqueux des feuilles de *Cyclamen mirabile* récoltée de la Turquie a été estimé à 88,25% à la concentration 1000 μ g/ml, et ces valeurs étaient supérieures à celle d'une dose de 0,1 mg de BHT (45,13%) et celle de 0,02 mg d'acide ascorbique (42,44%) (Sarikurkcü 2011). La même étude a montré que tous les extraits de tubercules et de feuilles *Cyclamen mirabile* avaient un pouvoir efficace de piégeage et de réduction des radicaux libres, ce résultat n'est pas en accord avec ceux que nous avons obtenu, où seul l'extrait de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) avait un pouvoir réducteur efficace.

Frankel et Meyer (2000) ont montré que dans le test du β -carotène, les antioxydants apolaires possèdent des propriétés antioxydantes plus importantes que les composés polaires. Cependant, les extraits de pétiole et de tubercule de *C. africanum* de notre région, représentent un composé polaire, ce qui complique l'explication de leur activité antioxydante par cette méthode.

D'une façon globale, l'activité réductrice est mise sur le compte de la composition chimique des extraits de la plante étudiée, notamment les composés phénoliques et flavonoïdes.

3.7.2. Activité d'inhibition de l'enzyme acétylcholine estérase (AChE) et α -glucosidase :

Les extraits de *C. africanum* ont été évalués pour leur capacité à inhiber l'acétylcholinestérase et l' α -glucosidase et les résultats sont présentés dans les tableaux 21 et 22 en termes d'IC₅₀. Les pourcentages d'inhibition des extraits contre l' α -glucosidase à différentes concentrations sont également indiqués dans la figure 32.

Comme le montre le tableau 13, tous les extraits de *C. africanum* B. &R. n'ont aucun effet sur l'acétylcholinestérase.

Bien que les extraits de *C. africanum* soient inactifs contre l'acétylcholinestérase, ils ont néanmoins montré une forte activité inhibitrice contre l' α -glucosidase, qui est dose-dépendante (Fig.32). L'acarbose utilisé à des concentrations élevées par rapport aux extraits a montré une activité plus faible et une inhibition maximale de $91,05 \pm 0,72\%$ à $5000 \mu\text{g/mL}$ (Fig. 32b). Cependant, la détermination des valeurs IC₅₀ a montré que les pétioles ont inhibé 50% de l'activité α -glucosidase à faible concentration ($47,13 \pm 3,98 \mu\text{g/mL}$), suivi par le tubercule, tandis que les feuilles ont montré l'effet inhibiteur le plus faible (Fig. 32a). Il est intéressant de noter que tous les extraits ont montré un effet plus important par rapport à l'acarbose standard (IC₅₀= $275,43 \pm 1,59 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats peuvent donner du crédit à l'utilisation possible de cette plante pour gérer le diabète de type 2, en particulier le pétiole.

Tableau 13 : Valeurs IC₅₀ des extraits de *C. africanum* B. &R. contre l'acétylcholinestérase.

Extraits	Inhibition %					
	12,5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	IC ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
Feuille	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Pétiole	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Tubercule	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Galantamine	$68,5 \pm 0,31$	$80,69 \pm 0,41$	$85,78 \pm 1,63$	$91,80 \pm 0,20$	$94,77 \pm 0,34$	6.27 ± 1.15

NA: pas d'absorbance

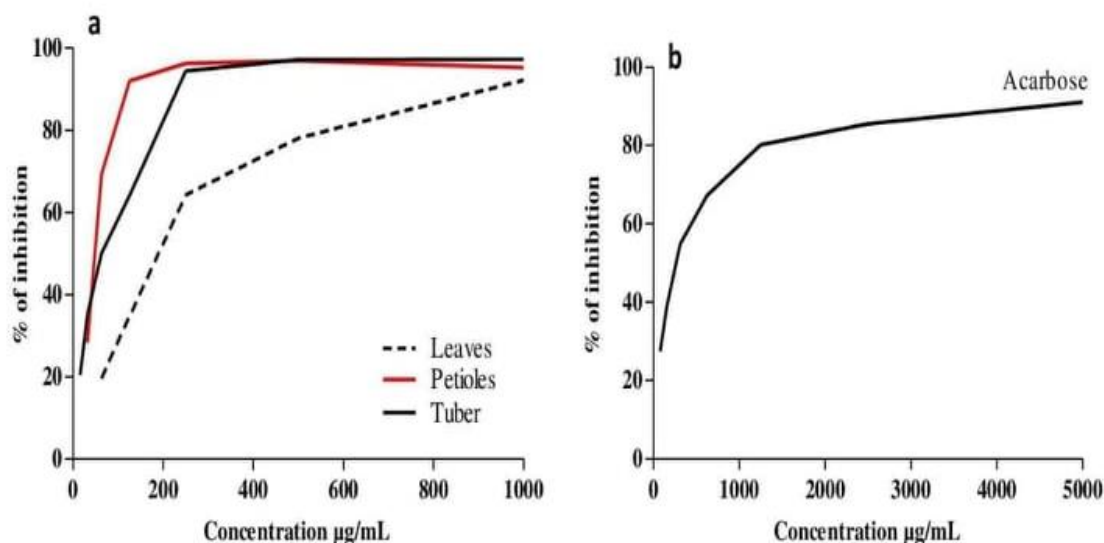


Figure 32 : Effet inhibiteur des extraits de *C. africanum* (Boiss&Reut). (a) et de l'acarbose (b) à différentes concentrations sur l' α -glucosidase. Chaque point représente la moyenne de trois mesures parallèles.

Les polyphénols et de nombreuses autres molécules dérivées des plantes ont été signalés comme ayant la capacité d'interagir avec des protéines exerçant des actions fonctionnelles telles que les enzymes (Quiñones et al., 2013). Plusieurs articles ont rapporté l'effet anticholinestérasique d'extraits de plantes ou de composés isolés, notamment des alcaloïdes, des polyphénols et des terpénoïdes (Gali et Bedjou, 2019). Ainsi, l'inhibition de la dégradation de l'ACh par l'acétylcholinestérase a longtemps été la principale approche du traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer, qui vise à retarder la dégradation de l'acétylcholine et à améliorer les capacités cognitives des patients (Ballinger et al., 2016 ; Zengin et al., 2020b).

Zengin et al., (2020a) ont rapporté un effet anticholinestérasique significatif des différentes parties de *Cyclamen cilicium* avec des valeurs comprises entre $3,80 \pm 0,14$ et $4,46$ mg d'équivalent galantamine/g d'extrait.

L'inhibition des enzymes digestives responsables de la dégradation des glucides complexes, telles que l' α -glucosidase, joue un rôle essentiel par leur action hydrolytique sur l'absorption de ces composés. Par la suite, l'inhibition de ces enzymes empêche le passage des glucides alimentaires dans la circulation sanguine et prévient l'hyperglycémie postprandiale (Tundis et al., 2010).

Plusieurs études ont été consacrées à l'évaluation de l'effet hypoglycémiant des extraits de plantes et ont montré un effet significatif et plus important que celui montré par l'acarbose et le voglibose habituellement utilisés comme inhibiteurs de l' α -glucosidase et de l' α -amylase (Madikizela et *al.*, 2017 ; Djermane et *al.*, 2020).

Une étude précédente de Zengin, et *al.* (2020a) sur différentes parties de *C. cilicium* a montré que la racine possède un effet inhibiteur remarquable contre l' α -glucosidase ($15,75 \pm 0,02$ mmol d'équivalent acarbose/g d'extrait) avec une teneur phénolique totale plus élevée, mais une teneur en flavonoïdes plus faible.

On en conclura donc que la nature des composés présents dans les extraits joue un rôle central dans son activité. En effet, une analyse préliminaire de la composition chimique de *C. africanum* a montré la présence de terpènes et de tanins dans les parties aériennes (Mazouz et Djeddi, 2014). De plus, une relation entre la présence de tanins condensés et l'inhibition de l'activité de l' α -glucosidase a été observée (Renda et *al.*, 2018 ; de Oliveira Raphaelli et *al.*, 2019).

3.7.3. Activité photoprotectrice déterminée par la méthode FPS (Facteur de Protection Solaire) :

Une exposition prolongée aux rayons ultraviolets (UV) peut entraîner un certain nombre de réactions, notamment la formation de photoproduits pyrimidiques, la génération des espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species ROS), la photocancérogénèse et le photovieillissement (Saewan et Jimtaisong, 2013).

Récemment, l'utilisation de produits d'origine végétale, principalement ceux qui ont des effets anti-inflammatoires et antioxydants pour protéger contre les dommages induits par les UV, a suscité un intérêt considérable (Nichols et Katiyar, 2010 ; El Aanachi et *al.*, 2020).

La capacité des extraits de *C. africanum* (Boiss&Reut) à absorber les rayons UV dans la plage comprise entre 280 et 320 nm a été évaluée en déterminant le FPS. Les résultats présentés dans la figure 33 montrent clairement que l'extrait de feuilles présente l'activité photoprotectrice la plus élevée avec un SPF élevé ($30,90 \pm 0,21$) et a également montré sa capacité à bloquer environ 96% du rayonnement UV, suivi par l'extrait de tubercules (SPF = $19,75 \pm 0,53$), tandis que les pétioles ont donné une très faible capacité d'absorption des UV avec un SPF de $7,17 \pm 0,19$. Les résultats de l'effet photoprotecteur des extraits ont été comparés à ceux des standards Nivea et Vichy, qui ont donné des valeurs SPF de $50,11 \pm 0,53$ et $44,22 \pm 0,35$, respectivement. L'effet photoprotecteur élevé des feuilles peut être expliqué par la présence de grandes quantités

de composés phénoliques, principalement des flavonoïdes, qui sont connus pour protéger les plantes des rayons UV et peuvent exercer des effets bénéfiques sur la peau en raison de leur capacité à absorber les rayons UV, et à éliminer les ROS générés par les rayons UV (Saewam et Jimtaisong, 2013).

Par conséquent, les puissants effets antioxydants et photoprotecteurs des feuilles peuvent en faire des candidats intéressants pour leur utilisation dans les formulations d'écrans solaires.

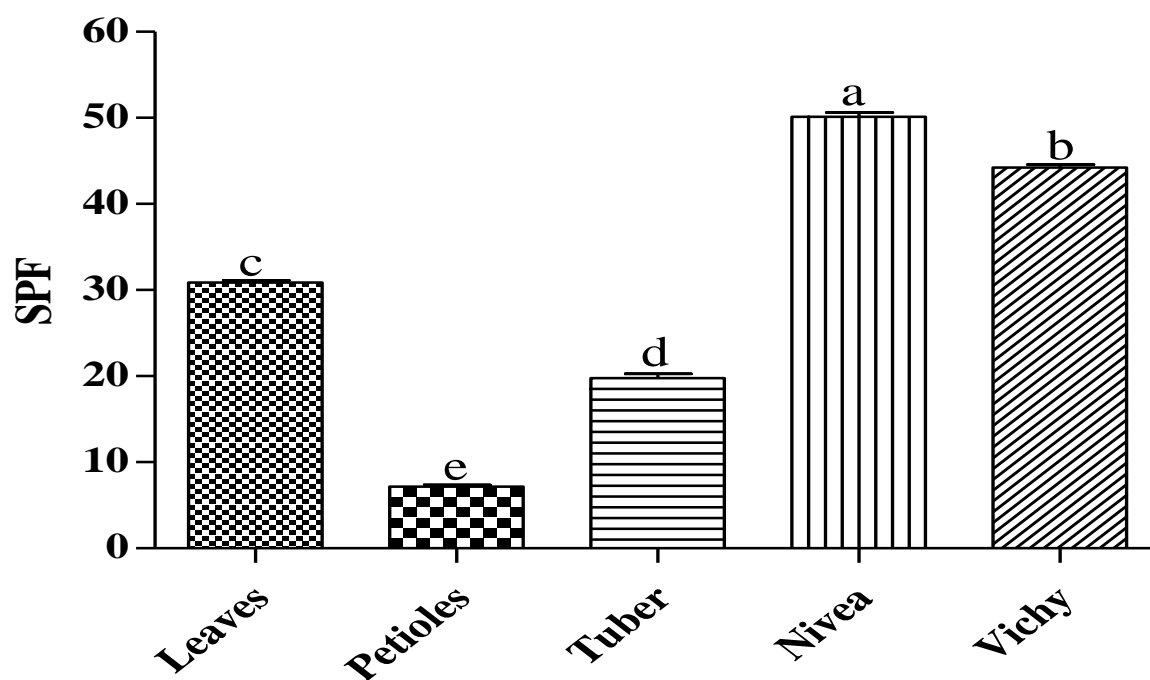


Figure 33 : Valeurs de protection solaire des extraits de *C. africanum* (Boiss&Reut) et des standards (Nivea, Vichy). Les valeurs représentent les moyennes \pm SD de trois mesures. Les lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

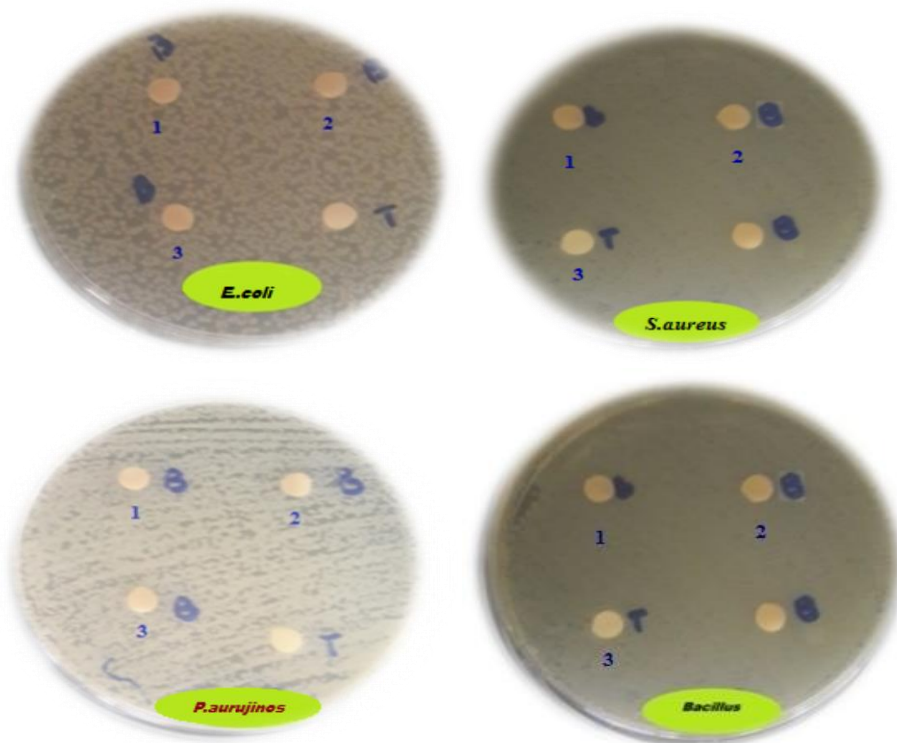
3.7.4. Activité antimicrobienne de *C. africanum*:

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a montré qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée pour toutes les concentrations de l'extrait appliquée (100 mg/ml, 50 mg/ml et 25mg/ ml) vis-à-vis les 4 souches bactérienne (Tableau 14, Figures 34, 35, 36).

Tableau 14: Activité antimicrobienne des différentes concentrations des extraits éthanoliques de différentes parties (feuilles, tubercules, pétioles) de *C. africanum* (Boiss&Reut).

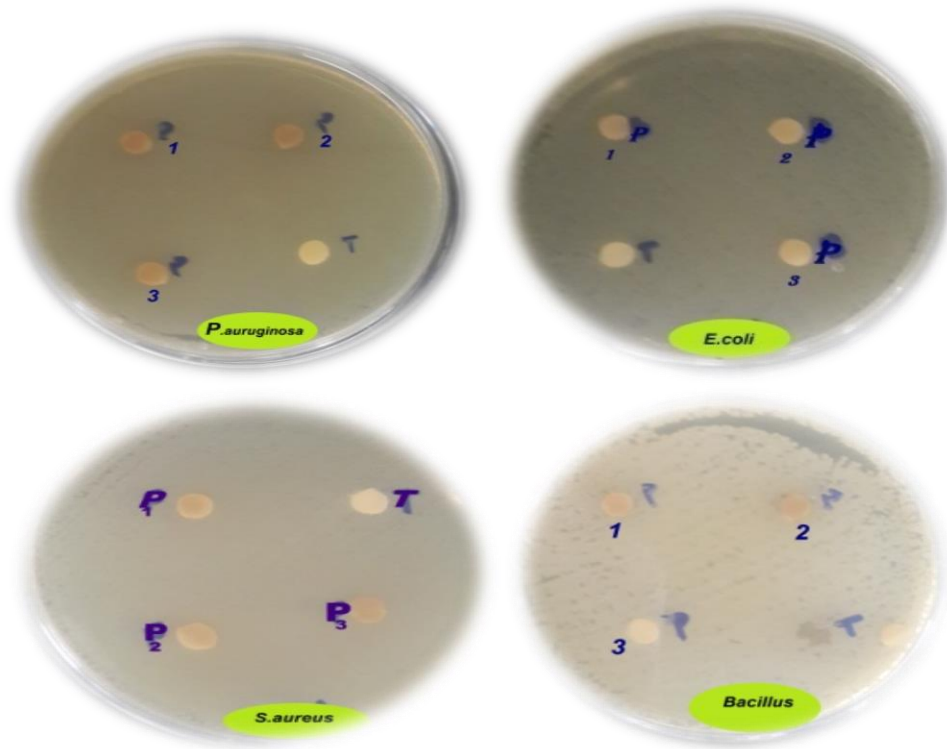
		Souches		<i>S. aureus</i> 252923	<i>E. coli</i> 25922	<i>P. aeruginosa</i> 27853	<i>B. subtilis</i> 6633
<i>C. africanum</i> (Boiss & Reut)	F	100	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-
	T	100	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-
	B	100	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-

(-) sans action



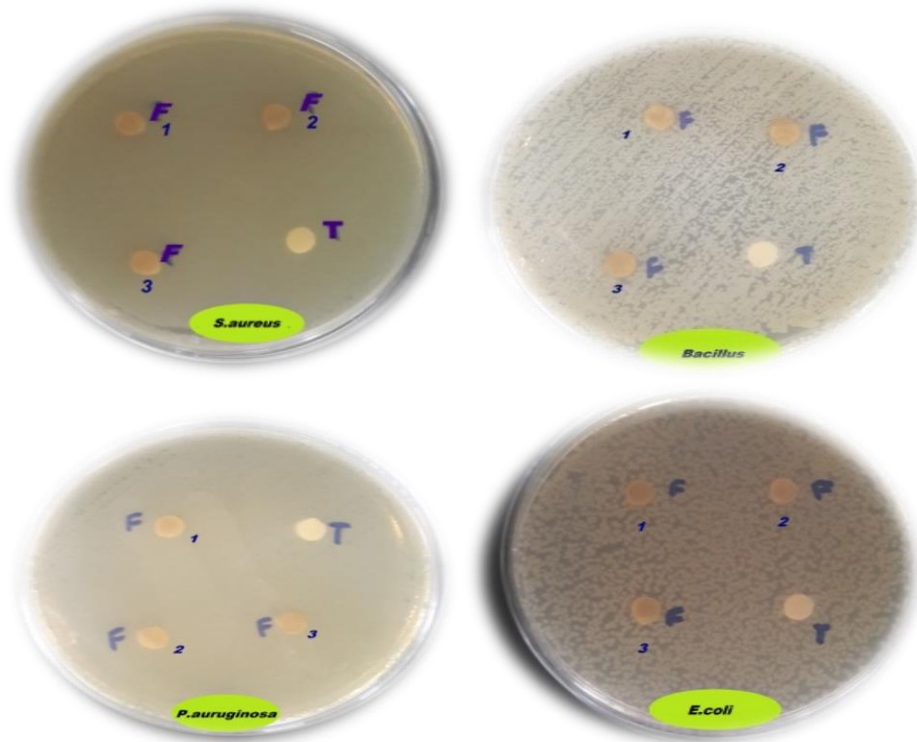
1: [100mg /ml], 2: [50 mg /ml], 3: [25mg /ml], T: témoin négatif (DMSO).

Figure 34: Effet antimicrobien du tubercule de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).



1: [100mg /ml], 2: [50 mg /ml], 3:[25mg /ml], T: témoin négatif (DMSO).

Figure 35: Effet antimicrobien du pétiole de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).



1: [100mg /ml], 2: [50 mg /ml], 3: [25mg /ml], T: témoin négatif (DMSO).

Figure 36: Effet antimicrobien de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut).

Selon nos connaissances, très peu de recherches se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut). Un seul cas a été signalé par Mazouz Wissam et ces collègues (2014). Nos résultats corrobore avec ce de Mazouz Wissam et ces collègues (2014), où ils ont étudié l'activité antibactérienne des extraits polaire de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) contre sept souches bactériennes, les résultats obtenus ont montré que l'ensemble des extraits étudiés s'avèrent inactifs contre toutes les souches testées.

Une étude effectuée par Turan *et al.* (2018) a montré que les extraits éthanolique, méthanolique et acétonique de *Cyclamen alpinum* de (feuilles et tubercule) sur les quatre souches d'*Escherichia coli* (ATCC 35218), *candida albicans* (ATCC 10239), *Bacillus cereus* (RSKK 863) et *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) sont partiellement actifs, et qu'ils sont inactifs contre les trois souches ; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598) et *Pseudomonas aeruginosa* (NRLL B-23).

Une autre étude de l'activité antibactérienne de *Cyclamen hederifolium* effectuée par Mansour *et al.*, (2018) a montré que les extraits méthanoliques des tubercules de *Cyclamen Hederifolium* ont montré des activités antimicrobiennes plus importantes que les autres extraits contre les bactéries testées, suivis par les extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme.

De nombreux chercheurs démontrent que *Cyclamen mirabile* est utilisé comme agent antifongique contre les espèces de *Candida* et *Cryptococcus neoformans* (Mazouz *et al.* 2013).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (Essawi et Srour, 2000). Pour cela, la comparaison cas par cas de l'activité antimicrobienne de plusieurs extraits, en se basant sur le dosage d'un seul constituant actif, nous semble inutile.

La période de collecte de la plante peut influencer l'activité antibactérienne des extraits. Bounatirou *et al.*, ont prouvé que l'huile essentielle de *Thymus capitatus* Hoff & Link présentait une activité antibactérienne très élevée pendant la période de floraison, alors qu'elle n'avait pas d'activité antibactérienne pendant la période de pré-floraison.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* se révèlent les plus résistantes, cela est liée à sa grande capacité de développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens, d'où son implication fréquente dans les infections hospitalières (Mann *et al.*, 2000).

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne peut aussi affecter les résultats ; Fazeli et *al.*, (2007) et Natarajan et *al.*, (2005) ont estimé que la méthode de diffusion à partir de puits sur gélose est plus efficace pour l'étude de l'activité antibactérienne des extraits de *Rhus coriaria*, d'*Euphorbia fusiformis*, et *Zataria multiflora*, que la méthode de diffusion de l'agar.

Conclusion et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'investigation et la valorisation de notre patrimoine en ressources naturelles végétales avec un moindre coût ainsi que l'évaluation de l'effet potentiel de leurs applications comme source naturelle pour le traitement de certaines maladies.

A cet effet, nous nous sommes intéressées à une espèce endémique à l'Algérie, le *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) qui est très répandue dans la péninsule d'Edough à Seraidi (Nord est de la wilaya d'Annaba). Notre choix est justifié par l'utilisation de cette espèce en médecine traditionnelle, mais elle reste peu exploitée et peu étudiée.

Le présent travail a porté sur l'étude des extraits organiques préparés à partir de la partie aérienne et souterraine de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) qui ont un intérêt thérapeutique.

Pour un complément d'identification de *Cyclamen africanum*, nous avons effectué une étude histologique de la feuille, du pétiole et de la racine qui a montré la présence de structures particulières qui nous a permis de souligner les caractéristiques propres de la famille des Primulacées dont : La richesse en poils tecteurs dans la feuille et le pétiole.

L'extraction de la partie aérienne puis souterraine de la plante par extracteur Soxhlet nous a permis d'obtenir des rendements des extraits qui diffèrent entre eux par l'aspect, la couleur et le taux. Le rendement d'extraction de la feuille (67,6%) est le plus important, il est suivi par celui du tubercule (40,4%) et enfin par le pétiole (12,6%).

Le screening chimique réalisé sur l'infusé, le macéré et la poudre de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut), a fait ressortir une richesse en métabolites secondaires à savoir les anthocyanes, les saponosides, les terpènes et stéroïdes et les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les leuco-anthocyanes et l'amidon.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin ciocalteu et dosage sur microplaque (Muller et al., 2010) montre que l'extrait des feuilles de *Cyclamen africanum* est le plus riche en phénols totaux (122,888µg GAE/ml d'extrait). Le dosage des flavonoïdes par la méthode de Topçu et al., (2007), révèle également que la teneur en flavonoïde de l'extrait des feuilles est la plus élevée (73,819 µg QE/ml d'extrait).

La composition chimique de l'extrait éthanolique de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a été établie pour la première fois en utilisant la Chromatographie en Phase Liquide (HPLC). L'analyse par HPLC révèle la présence de différents composants phénoliques dans les feuilles, les pétioles et les tubercules, tels que l'acide chlorogénique, la rutine, l'acide caféique et le kaempférol.

L'analyse de l'activité antioxydante in vitro des extraits éthanoliques de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a été évaluée par diverses méthodes, à savoir, le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du cuivre (CUPRAC), le piégeage de l'ABTS, la chélation des ions métalliques, blanchissement du β -carotène, le piégeage de l'anion superoxyde, le pouvoir réducteur (FRAP) et l'activité du phenanthroline. Les résultats obtenus ont montrés un important pouvoir réducteur des extraits de la feuille de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) via la méthode de l'ABTS.

L'effet inhibiteur des enzymes (α -glucosidase, AChE) des différents extraits a été vérifié. Il s'est avéré que tous les extraits n'ont aucun effet d'inhibition sur l'enzyme cholinestérase. Alor que l'extrait du pétiole de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) a montré un effet inhibiteur intéressant de l'alpha-glucosidase, plus actif que le contrôle positif Acarbose. Ces résultats ont donné un premier aperçu de l'efficacité de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) pour le traitement du diabète.

Nous avons également testé l'activité antibactérienne des différents extraits étudiés (feuilles, pétioles et tubercules) contre quatre souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas auruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) en adoptant la méthode de diffusion sur milieu gélosé. L'ensemble des extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) s'avèrent inactifs contre toutes les souches testées.

La capacité des extraits de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) à absorber les rayons UV a été évaluée en déterminant le Facteur de Protection Solaire (FPS) selon la méthode spectrophotométrique de Mansur et *al.*, (1986). Les résultats montrent que l'extrait de la feuille a une activité photoprotectrice très élevée avec la capacité de bloquer environ 96% du rayonnement UV. Par conséquent, le puissant effet photoprotecteur du *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) pourrait en faire un candidat potentiel pour leur utilisation dans les formulations d'écrans solaires.

Nos modestes résultats semblent prometteurs, on peut conclure que *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) peut constituer une bonne source de composés bioactifs. Cependant, à l'issue de notre recherche et afin de consolider ce travail de thèse nous proposons quelques perspectives:

- Purifications des extraits des feuilles de *Cyclamen africanum* (Boiss&Reut) afin d'identifier la structure chimique du composé responsable de ces effets pharmacologiques.
- Caractérisation des substances majeures par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).
- Estimation des effets inhibiteurs de l'enzyme α -glucosidase sur un échantillon animal, avec des essais pharmacologiques et des essais cliniques.
- Evaluation des tests microbiens sur d'autres souches fongiques et bactériennes, pourquoi pas d'autres tests biologiques: anticancéreux (cancer du sein), l'effet hémolytique de cette plante.... en utilisant les tests pharmacologique et cliniques. .

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A., 2007. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Jt. bone spine* 74, 324–329.

Al-Ismail, K., Herzallah, S-M.,Rustom, A-S.2007. antioxidant activities of some edible wild mediterranean plants. *Italian journal of food science*, 19 (3).

Anna Speranza, Gian Lorenzo Calzoni, 2005 .Atlas de la structure des plantes: guide de l'anatomie microscopique des plantes vasculaires en 285 photos. Ed. BELIN EDUCATION, p224.

Anderberg, A-A.1994. Phylogeny and subgeneric classification of *Cyclamen L.* (Primulaceae). *Kew Bulletin*, 455-467.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970–7981.

Arslan, Ozgun, Celik, Semiz, Dusen, Mammadov, Sen, 2011. Effects of *Cyclamen trochopteranthum* on Hepatic Drug-Metabolizing Enzymes, *Archives of Biological Sciences*, Volume 63, Issue 3, 545-555.

Aydın, C., TaşdelenOzcan, G., Turan, M. and Mammadov, R., 2016. Phenolic Contents and Antioxidant Properties of *Echinops ritro L.* and *E. tournefortii Jaup.* ET. Spach Extract. *International Journal of Secondary Metabolite*, 3, 74-81.

Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y.2007. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*, Vol. 12 ; 607-621.

Ballinger, E.C., Ananth, M., Talmage, D.A., Role, L.W., 2016. Basal forebrain cholinergic circuits and signaling in cognition and cognitive decline. *Neuron* 91, 1199–1218.

Betina B, Miyamoto, Tanaka, Kabouche, Mitaine-O, Lacaille-D, 2012. Two New Triterpene Saponins from *Cyclamen africanum*, *Planta Med*; 78 - PI298.

Betina, S. 2014. Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*, *zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire. Thèse de doctorat en Biologie. Université de Constantine 1, Algérie. p203.

Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199–1200.

Boros, B., Jakabova, S., Dorneyi, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felingera, A. 2010. Determination of polyphenolic compound by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.

Bounatirou, S., S. Smiti, M. G. Miguel, L. Faleiro, M. N. Rejeb, M. Neffati, M. M. Costa, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso et L. G. Pedro, 2007. Chemical Composition, Antioxidant And Antibacterial Activities of The Essential Oils Isolated from Tunisian *Thymus Capitatus* Hoff. Et Link. *Food Chemistry*, 105: 146-155.

Bourebaba, L., Saci, S., Touguit, D., Gali, L., Terkmane, S., Oukil, N., Bedjou, F., 2016. Evaluation of antidiabetic effect of total calystegines extracted from *Hyoscyamus albus*. *Biomed. Pharmacother.* 82, 337–344.

Bourgou, S., SerairiBeji, R., Medini, F., et Ksouri, R. 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbiahelioscopia*. *Journal of new sciences Agriculture and Biotechnology*, V(28), pp.1649-1655.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales, Ed. Tec-Doc, 3^{ème} éditions, Paris, p1120.

Bruneton, J. 2005. Plantes Toxiques, Végétaux Dangereux Pour L'homme et Les Animaux, Ed. Tec et Doc Lavoisier, 5^{ème} éditions, Paris, p618.

Çalış, Ş, Yürüker, K, Demirdamar , A ,Tanker , Rüeegger , S, 1997. Triterpene Saponins from *Cyclamen mirabile* and Their Biological Activities, 1997, *J. Nat. Prod.*, 60 (3), 315–318.

Cao, G. et R. L. Prior, 1998, Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry* 44(6): 1309-1315.

Cazin, 1868. Traité Pratique et Raisonné des Plantes Médicinales Indigènes, Troisième Edition, P. Asselin, p 360.

Charline L. 2016. Fusariose du cyclamen : détection préventive du risque et contrôle biologique ; Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne.

Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M.J., 2017. Type 2 diabetes. Lancet 389, 2239–2251.

Cheribet, M., Zaabat, N., Souilah, N., Bensouici, Ch., and Akkal, S., 2019. LC-MS analysis, antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activities of *Centaurea papposa* extracts, Bangladesh J Pharmacol; 14: 159-165.

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. 2008. Les polyphénols du raisin. Phytothérapie, 6(2), 75-82.

Commission of European Communities. Recommendation of 22 September 2006. On sun screen products and manufacturers claims. <https://eur-lex.europa.eu>.

Corner. E. J. H. 1961. Traité de botanique systématique, tome 1, M. Chadeffaud, L Emberger, Tome 1, Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). Masson et Cie, Paris (1960).xv, Transaction of the British Mycological society.

Dall'Acqua, Castagliuolo, Brun, Ditadi, Palù, Innocenti, 2010. Triterpene Glycosides With In Vitro Anti-Inflammatory Activity from *Cyclamen repandum* Tubers, Carbohydrate Research 345, p711

Decker, E.A., Welch, B., 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. J. Agric. Food Chem. 38, 674–677.

De Godoi, R. S., Almerão, M. P., & da Silva, F. R. 2020. In silico evaluation of the antidiabetic activity of natural compounds from *Hovenia dulcis* Thunberg. Journal of Herbal Medicine, 100349.

De Luna, B. N., de Fátima Freitas, M., Baas, P., De Toni, K. L. G., & Barros, C. F., 2017. Leaf Anatomy of Five Neotropical Genera of Primulaceae. International Journal of Plant Sciences, 178(5), 362–377.

Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M.S., Conti, G.O., Sadrabad, E.K., 2018. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food Chem. Toxicol.* 114, 108–111.

Dif, M.M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., et Bouterfes, K. 2015. Etude quantitative des polyphénols dans les differentorgans de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie.* V(13), 314-319.

Dimkić, I., Gobin, I., Begić, G., Antić, D. R., Ristivojević, P., Jurica, K., Berić, T., Lozo J., Abram, M., Stanković, S. 2021. Antibacterial activity of herbal extracts towards uropathogenic *Enterococcus* isolates as a natural approach in control of urinary tract infections. *Journal of Herbal Medicine,* 28, 100445.

Djermane, N., Gali, L., Arhab, R., Gherraf, N., Bensouici, C., Erenler, R., Gok, M., Abdessamed, A., 2020. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities of *Erucariauncata* and *Thymeleaehirsuta*. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 29, 101834.

Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant Capacity and the Relationship with Polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* Fruits. *Food Chemistry* , 113, 557-562.

El Aanachi, S., Gali, L., Nacer, S.N., Bensouici, C., Dari, K., Aassila, H., 2020. Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 29, 101819.

El Hosry, L., Di Giorgio, C., Birer, C., Habib, J., Tueni, M., Bun, S.-S., Elias, R. 2014. In vitro cytotoxic and anticlastogenic activities of saxifragifolin B and cyclamin isolated from *Cyclamen persicum* and *Cyclamen libanoticum*. *Pharmaceutical Biology,* 52(9), 1134–1140.

Emre, O., S. Kok, O. D. Dusen, R. Mammadov et H. Cetin, 2013. Larvicidal activity of *Cyclamen* (Myrsinaceae) extracts against the larvae of West Nile virus vector *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicicne,* 449-452.

Essawi T. et Srour M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharm.* 70, 343-349.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. 2008. Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies, Vol. 331;pp 372-379.

Fazeli, M.R., G. Amin, M.M. Attari, H. Ashtiani, H. Jamalifar and N. Samadi, 2007. Antimicrobial Activities of Iranian Sumac and Avishan-E Shirazi (*Zataria multiflora*) Against Some Food-Borne Bacteria. Food Control, 18: 646-649.

Frankel E. N., Meyer A. S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Science of Food and Agriculture* 80 : 1925-1940.

Fournier, P. 1990. Plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed. Paul Lechevallier, Paris.

Fournier, P. 1999. Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome 2, Connaissance et mémoires européennes, Société nationale d'horticulture de France, 34-35.

Gaamoune, S., Nouioua, w., 2020. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities development of methanol extract of *Cyclamen africanum* B. et R., growth in Jijel – Algeria. *J. Drug Deliv. Ther.* 10, 130-134.

Gali, L., Bedjou, F., 2019. Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Rutachalepensis*. *South African J. Bot.* 120, 163–169.

Galvez, J., Zarzuelo, A., Crespo, ME.1993a. Antidiarrhoeicactivity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of active flavonoid constituent. *Planta Med*, 59: 333–336.

Galvez, J., Crespo, ME., Jimenez, J.1993b. Antidiarrhoeicactivity of quercitrin in mice and rats. *J Pharm Pharma-col*, 45: 157–159.

Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12):8813-8826.

Grey-Wilson, Christopher. 1988. The Genus *Cyclamen*. A Kew Magazine Monograph. London: Christopher Helm. Portland: Timber Press. ISBN (Christopher Helm) 0-7470-1221-0. (Timber Press) 0-88192-111-4.

Grey-Wilson, C. 2002. Cyclamen: A Guide for Gardeners, Horticulturists and Botanists, Ed. Pavilion Books, United Kingdom, p300.

Golshan, Z., E Çilden, ÖG Çelemlı, 2023. Comparative anatomical survey of *Cyclamen L.* (Primulaceae) taxa and their traditional medicinal uses in Turkey. *Microscopy Research and Technique.* 86 (4), 414-430.

Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. 2006.Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* Vol. 41: 1220-1234.

Goodarzi, M.T., Zal, F., Malakooti, M., Safari, M.R., Sadeghian, S. 2006. Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats. *Acta Med. Iran,* 44(1): 41-5.

Harborne, JB.1993. The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman and Hall, London.

Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., AslamGondal, T., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., TsouhFokou, P.V., Umair Arshad, M., Khan, H., 2019. Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules* 24, 2277.

Ishizaka, Kondo, Kameari, 2012. Production of Novel Flower Color Mutants from the Fragrant Cyclamen (*Cyclamen persicum* X *C. purpurascens*) by Ion-Beam Irradiation, *Plant Biotechnology,* 29, 201-208.

Israa, A.I., Haider M.H., Imad H.H., 2017. Cyclamen persicum: Methanolic Extract Using Gas ChromatographyMass Spectrometry (GC-MS) Technique. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance.* 8, 200-213.

Kasmi, S., Hamdi, A., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Jaramillo-Carmona, S., Rodríguez-Arcos, R., Jiméneez-Araujo, A., Ayouni, K., Atmani, D., Guillén-Bejarano, R. 2021. Characterization of phenolic compounds isolated from the *Fraxinus angustifolia* plant and several associated bioactivities. *Journal of Herbal Medicine,* 29, 100485.

Kelebek, H., ÇSS, S., Kesen Selli . 2012. Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen natürel zeytinyağında fenol bileşiklerinin ve antioksidan kapasitenin belirlenmesi. *GIDA: The Journal of Food*, 2012, Vol 37, Issue 3, p133.

Khelfallah, A., Merghem, R., 2013. Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires. *archives.umc.edu.dz*. 82-84.

Krishna, D., Chaluvadi, M., Raj, N., and Sripal, R.2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol*, 33: 2-16.

Lecomte C. 2016. Fusariose du cyclamen : détection préventive du risque et contrôle biologique. Thèse de doctorat Science Vie .Université de Bourgogne, France. p207.

Lekouaghet, A., Boutefnouchet, A., Bensuici, C., Gali, L., Ghenaiet, K., Tichati, L., 2020. In vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from *Leuzeaconifera* L. roots. *South African J. Bot.* 132, 103–107.

Lixon, MV., Quinet, M., 2020. L'utilisation de la rutine: traitement de l'insuffisance veineuse et perspective thérapeutique dans le traitement du diabète de type II et ses complications. Thesis, *dial.uclouvain.be*.

Lizelle T. Fox, Minja Gerber, Jeanetta Du Plessis, Josias H. Hamman, 2011. Transdermal Drug Delivery Enhancement by Compounds of Natural Origin, *Molecules*, p 1050.

Lordan, S., Smyth, T.J., Soler-Vila, A., Stanton, C., Ross., R.P., 2013. The alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chem.* 141, 2170–2176.

Lu, Y., Khoo, T.J. and Wiart, C. 2014. Antioxidant Activity Determination of Citronellal and Crude Extracts of Citronellal and Crude Extracts of *Cymbopogon citrates* by 3 Different Methods. *Pharmacology & Pharmacy* , 5, 395-400

Madikizela, B., Ndhlala, A.R., Rengasamy, K.R.R., McGaw, L.J., Van Staden, J., 2017. Pharmacological evaluation of two South African commercial herbal remedies and their plant constituents. *South African J. Bot.* 111, 291–298.

Mahomoodally Mohamad Fawzi, MCN Picot-Allain, G Zengin Eulogio J. Llorent-M., Azzurra S., Gunes A., Ismail S., Michal T., Adriano M., 2021. Chemical profiles and

biological potential of tuber extracts from *Cyclamen coum* Mil. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 33, 102008.

Mann C. M., Cox S. D., Markham J. L. 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), Letters in appl. Microbiol. 30 : 294-297.

Mansur, J. S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. A., and Azulay, R. D. 1986. Determination of the factor of solar protection by spectrophotometry. An Bras Dermatol Rio de Janeiro,6, 121–4.

Mansour O., Salamma R., Abbas L., 2017. Screening of antibacterial activity in vitro of *Cyclamen hederifolium* tubers extracts. Research Journal of Pharmacy and Technology. 9, 11.

Marcio Carocho, Isabel C.F.R. Ferreira, 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, Food and Chemical Toxicology 51 15–25.

Marco, G.J., 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 45, 594–598.

Martinet, S., Andriantsitohaina, R. 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaires des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologies et d'angéiologies, 51(6) : 304-315.

Martini, N-D.,Katerere, D-R-P., Eloff, J-N. 2004. Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). Journal of Ethnopharmacology, Volume 93, Issues 2–3, 207-212.

Massaux, C.2012. Polyphénols : des alliés pour la santé. Abeilles&Cie, 149 :1-4.

Mazouz, W., Djeddi, S., 2013. A biological overview on the Genus *Cyclamen*. European Journal of Scientific Research. Academia.edu.110, 7-22.

Mazouz, W., Djeddi, S., 2014. Biological Properties of Algerian *Cyclamen africanum* Extracts. Adv. Environ. Biol. 8, 900-903

Mazouz W., Djeddi, S., 2014, Biological Properties of Algerian *Cyclamen africanum* Extracts, *Advances in Environmental Biology*, 8(4) March 2014, 900-903

Mohammedi Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen. Algérie, p24.

Muanda F. 2010. Identification de poly phénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat en Biologie. Université Paul Verlaine-Metz, France.

Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A.M., V. Böhm, V.2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.

Murat Turan, Ramazan Mammadov, 2018. Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, Larvicidal and Anthelmintic Activities and Phenolic Contents of *Cyclamen alpinum*, *Pharmacology & Pharmacy* 9, 100-116

Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., Krishna, D. R. 2001. Bioflavonoids Classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33 : 2-16.

Natarajan, D., S. John Britto, K. Srinivasan, N. Nagamurugan, C. Mohanasundari and G. Perumal, 2005. Anti-Bacterial Activity of *Euphorbia fusiformis*-A Rare Medicinal Herb. *J. Ethnopharmacol.*, 102: 123-126.

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., AliKamboh, A., Khan, G., J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., Fang, X., F., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, Li., XiaoHui. Z., 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 97, 67-74.

NCCLS, 1997. Performance Standars For Antimicrobial Disk Suceptibility Tests, Approved Standard M2-A7.National Committee For Clinical Laboratory Standard, Wayne, Pa, Usa.

Nichols, J.A., Katiyar, S.K., 2010. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory,antioxydant and DNA repair mechanisms. *Arch. Dermatol. Res.* 302, 71–83.

Nouari, S. 2018. Etude histologique et phytochimique d'une plante médicinale de la péninsule de l'Edough *Cyclamen africanum* (Boisson & Reuter) région de la marsa. Thèse de master en Biologie. Université de Badji Mokhar Annaba, Algérie. p44.

Oliveira Raphaelli, C., dos Santos Pereira, E., Camargo, T.M., Vinholes, J., Rombaldi, C.V., Vizzotto, M., Nora, L., 2019. Apple phenolic extracts strongly inhibit α -glucosidase activity. *Plant Foods Hum. Nutr.* 74, 430–435.

Ouali, K., Trea, F., Toumi, L., Bairi, A., Maurel, D., Guellati, M.A. 2007. L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental. *Phytothér.* 5 (4): 204-9.

OUCHTATI S., 2018. Contribution à l'étude des activités biologiques de deux plantes médicinales algériennes à effet antidiabétique. *pnst.cerist.dz.* p55.

Oularbi A., Zeghiche A. 2009. Sensibilité à l'érosion du massif cristallophyllien d de l'Edough (Nord-est Algérien). *Revue Synthèse.* (20), 58-67

Paris. M et Hurabielle. M. 1981. Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Tome 1. Faculté de pharmacie. Ed Masson, Paris.

Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R., & Defraigne, J. O. 2001. Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Act Med Int*, 4, 18-23.

Quezel P., Santa S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique. Tome 2, Paris, p772 .

Quezel, P. et Santa, S.1963. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Vol 2, Editons CNRS, Paris, pz978.

Quiñones, M., Guerrero, L., Suarez, M., Pons, Z., 2013. Alexandre, a.; Arola, L.; Muguera, B. Low-Molecular Procyanidin Rich Grape Seed Extract Exerts Antihypertensive Effect in Males Spontaneously Hypertensive Rats. *Food Res. Int* 51, 587–595.

Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr. Diet.* 44, 307–315.

Rahal K, 2005. Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle

Nationale selon les recommandations de l’OMS, 4^{ème} Ed, Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radicals Biol Med 26: 1231-1237.

Rehman S., Abdul L., Shamim A. and Asad U.K. 2010. Antibacterial activity of Shahtra (*Fumaria officinalis* Linn) extracts against MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*). Unani Medicus- An International Journal. V (1), 57-61.

Renda, G., Özel, A., Barut, B., Korkmaz, B., Şoral, M., Kandemir, Ü., Liptaj, T., 2018. Bioassay Guided Isolation of Active Compounds from *Alchemilla barbatoria* Juz. Rec Nat Prod 12 (1): 76-85.

Saadi H. 2013. Les facteurs du dépérissement des subéraies de l’Edough (Séraïdi). Etude des ravageurs des feuilles et des glands du chêne-liège (*Quercus suber* L.). Mémoire de Master en Biologie Animale. Université Mohamed Cherif Messaadia. Algérie, 100-101.

Saadou Nina, 2008. Etude et caractérisation chimique des huiles essentielles du genre *Pinus*, dans le Parc National d’El Kala (P.N.E.K.). pnst.cerist.dz. p 89.

Saadou, N. 2017. Etude phytochimique et activité biologique de quelques Plantes Médicinales de l’Est algérien. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.

Saewan, N., Jimtaisong, A., 2013. Photoprotection of natural flavonoids. J. Appl. Pharm. Sci.3, 129-141.

Sarikurkcu, C., 2011. Antioxidant Activities of Solvant Extracts from Endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. Tubers and Leaves. Afr. J. Biotechnol. 15, 831-839.

Sanogo R., Doucouré M., Fabre A., Haïdara M., Diarra B., Dénou A., Kanadjigui F., Benoit V.F., Diallo D., 2014. Standardisation et essai de production industrielle d’un sirop antipaludique à base d’extraits de *Argemone mexicana* L. Revue CAMES – Série Pharm. Méd. Trad. Afr., 17(1) : 15-20.

Sarikurkcu, C., 2011. Antioxidant Activities of Solvant Extracts from Endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. Tubers and Leaves. Afr. J. Biotechnol. 15, 831-839.

Scarpini, E., Scheltens, P., Feldman, H., 2003. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *Lancet Neurol.* 2, 539-547.

Seltzer, B., 2006. Cholinesterase inhibitors in the clinical management of Alzheimer's disease: importance of early and persistent treatment. *Journal of international medical research.* 34, 339.

Seyring, Ewald, Mueller, Haensch, 2009. Screening for Propagation Suitability in vitro of Different Cyclamen Species, *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol.12 No.4, Issue of October 15, pp: 1-10.

Singleton, V.L., and Rossi, J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.

Shahidi, F., Ambigaipalan, P., 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *J. Funct. Foods* 18, 820–897.

Smirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28, 1057–1060.

Sofiane I, Seridi R, Cortes DM, Cabedo N, 2018. Phytochemical Composition and Evaluation of the Antioxidant Activity of the Ethanolic Extract of *Calendula suffruticosa* subsp. *suffruticosa* Vahl. *Pharmacog J*;10 (1):64-70.

Sofiane I, Seridi R, 2021a. Phytochemical study and extraction of total flavonoids in the aerial parts of *calendula suffruticosa* vahl., proceedings of Academics World 74th International Conference, Oslo, Norway, p128.

Sofiane I, Seridi R, 2021b. Phytochemical profile, total phenolics and antioxidant activity of *Fumaria capreolata* from Algeria. *European Journal of Biological Research*; 11(4): 404-416.

Sofiane I, Azine K, Seridi R, 2021c. Evaluation of the Anti-inflammatory and Analgesic Activity of the Ethanolic Extract Aerial Parts of *Calendula suffruticosa* subsp. *Suffruticosa* Vahl. *Phytotherapie* 19 (5-6).

Solfo R. 1973. Etude d'une Plante Médicinale Malgache *Buxus madagascariensis* Bail et ses variétés. Ed: O.R.S.T.O.M.

Speranza A, Calzoni G.L, 2004. Atlas de la structure des plantes. Ed. Belin Paris. p223.

Sungur Civelek, Melda Çolak, 2008. Effects of Some Plant Extracts and Bensultap on *Trichoferus griseus* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Cerambycidae), *World Journal of Agricultural Sciences* 4 (6): 721-725;

Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., Szlyk, E., 2008. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 76, 899–905.

Tabidze, Tabatadze, Dekanosidze, Elias, Faure, 2009. New Triterpene Glycoside from *Cyclamen Adzharicum* Tubers, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 45, No. 5, 660-663.

Takamura, Miyajima, Maehara, Toshiya, 1993. Seedling Selection and Micropropagation for the Breeding of Yellow-Flowered *Cyclamen* Cultivars, *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 37(3/4), 265-271.

Takamura, T. 2007. *Cyclamen*, in Anderson N.O.(eds) *Flower Breeding and Genetics*, Ed. Springer, Dordrecht, pp. 459-478.

Topçu, G., Ay A., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., and Ulubelen, A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816–822.

Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F., 2010. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev. Med. Chem.* 10, 315–331.

Turan, M., Mammadov, R., 2018. Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, Larvicidal and Anthelmintic Activities and Phenolic Contents of *Cyclamen alpinum*. *Pharmacol. & Pharm.* 09, 100.

Turan, M., Mammadov, R., 2021. Phenolic Compounds Screening and Potential of Larvicidal Activity of Water Extract of *Cyclamen cilicium* Boiss. & Heldr. *Natural Products and Biotechnology*, Vol. 1 No. 1.

Vincent M.C., 1991. L'aromatogramme. *Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie.* 4, Paris 6.

Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., La Voie, E.J. and Huang, T. 1998. Antioxidative Phenolic Compounds from Sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 46, 4869-4873.

Webby, R.F. MR Boase, 1999. Peonidin 3-O-neohesperidoside and other flavonoids from *Cyclamen persicum* petals. *Phytochemistry*, 52 (5), pp 939-941.

Widmer R.E., 1992. *Cyclamen* In: Introduction to floriculture. R. A. Larson (éditeur). Academie Press Inc., San Diego, USA, 385-407.

Wu, C., Chen, F., Wang, X., Kim, H., He, G., Haley-Zitlin, V. and Huang, G. 2006. Antioxidant Constituents in Feverfew (*Tanacetum parthenium*) Extract and Their Chromatographic Quantification. *Food Chemistry* , 96, 220-227.

Wu, Z. Y., & P. H. Raven, eds. 1996. *Flora of China*. Vol. 15 (Myrsinaceae through Loganiaceae). Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. p387.

Xu, Z., Chang, L. 2017. Primulaceae. In *Identification and Control of Common Weeds*, Springer, Singapore. Volume 3. 51-81.

Yayli, Baltaci, 1996. the Sterols of *Cyclamen Coum*, *Tr. J. of Chemistry*, 20, 329-334.

Zengin, G. and Aktumsek, A., 2014. Investigation of Antioxidant Potentials of Solvent Extracts from Different Anatomical Parts of *Asphodeline anatolica* E. Tuzlaci: An Endemic Plant to Turkey. *African Journal of Traditional , Complementary and Alternative Medicines* , 11, 481-488.

Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Sinan, K.I., Picot-Allain, M.C.N., Yildiztugay, E., Cziáky, Z., Jekó, J., Saleem, H., Ahemad, N., 2020a. Chemical characterization, antioxidant, enzyme inhibitory and cytotoxic properties of two geophytes: *Crocus pallasii* and *Cyclamen cilicium*. *Food Res. Int.* 133, 109129.

Zengin, G., Sinan, K.I., Mahomoodally, M.F., Angeloni, S., Mustafa, A.M., Vittori, S., Maggi, F., Caprioli, G., 2020b. Chemical Composition, Antioxidant and Enzyme Inhibitory Properties of Different Extracts Obtained from Spent Coffee Ground and Coffee Silverskin. *Foods* 9, 713.

Webographie:

⁽¹⁾ <https://www.maison.com/>

⁽²⁾ <http://www.growingwithplants.com/2013/01/uncommon-alpine-bulbs.html>

⁽³⁾ <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:265:0039:0043:fr:PDF>

⁽⁴⁾ <http://www.ottawand.com/articles-and-events/articles/sun-safety-for-summer/>



Research Paper

Chemical Profiles and Biological Potential of Different Parts of *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter—A Medicinal PlantA. Amari^{a,*}, R. Seridi^a, N. Sadou^a, L. Gali^b, N. Mekersi^c, B. Ali Rachedi^d^a Laboratory of Plant Biology and Environment, Natural Substances, Plant and Pharmacognosy Axis, Faculty of Sciences, University BADJI Mokhtar, BP12, 23000 Annaba, Algeria^b Biotechnology Research Center_CRBT, Constantine, Algeria^c Laboratory of Biotechnology, Water, Environment and Health, University of Abbes Laghrour, Khenchela, Algeria^d LGEG Laboratory, University of Guelma, BP401, 24000 Guelma, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:

Cyclamen africanum Boiss. & Reuter
HPLC

Antioxidant activity

Anti-acetylcholinesterase activity

Anti-alpha-glucosidase activity

ABSTRACT

Introduction: No literature was found on the chemical composition of *Cyclamen africanum*. The aim of the current study was to assess the phytochemical and pharmacological properties of the plant.**Methods:** The identification of the phenolic constituents of *C africanum* extracts was established for the first time using the HPLC technique. The investigation of antioxidant, anti-Alzheimer, and anti-alpha-glucosidase effects of the ethanolic extract of leaves, petioles, and tubers of the plant was evaluated *in vitro*.**Results:** The HPLC results detected the presence of phenolic components such as rutin, chlorogenic acid, caffeic acid, and kaempferol. The leaf extract exhibited the highest antioxidant activity. This activity can be attributed to the high phenolic content observed in the leaf extract. All the extracts have no effect on acetylcholinesterase, while they showed an interesting inhibitory effect on alpha-glucosidase.**Conclusions:** These results showed that the *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter could be a potential source of bioactive molecules in the prevention of human diseases.

Introduction

Reactive oxygen species and reactive nitrogen species are continually produced in aerobic organisms and have many physiological roles. The exposition to external factors like UV rays can also stimulate the production of free radicals. The overproduction of these species can lead to many metabolic, inflammatory, and neurodegenerative disorders, including cancer and diabetes (Afonso et al., 2007). Type 2 diabetes mellitus or non-insulin-dependent diabetes mellitus is the most dominant diabetes mellitus with a prevalence of about 90%. Non-insulin-dependent diabetes mellitus is characterised by increased hyperinsulinemia and the dysfunction of its secretion, leading to elevated blood glucose levels (Bourehaba et al., 2016; Chatterjee et al., 2017). High blood glucose levels can increase the production of free radicals, which has been observed in type 2 diabetes. In fact, various factors have been identified to intervene in the oxidation state in type 2 diabetes, including auto-oxidation of glucose, decrease in cellular antioxidants, and especially the formation of advanced glycation end products and their interaction with Receptor for Advanced Glycation Endproducts

receptors (Sindhi et al., 2013). The management of this disorder is mainly based on the administration of oral hypoglycaemic agents, including α -glucosidase and α -amylase inhibitors, which aim to lower blood sugar and prevent pathological complications (Tundis et al., 2010).

Oxidative stress is thought to play a central role in the pathogenesis of Alzheimer's disease (Gali and Bedjou, 2019). The inhibition of acetylcholinesterase (AChE) responsible for the end of transmission through its action on the neurotransmission of acetylcholine (ACh) represents the essential remedy available to improve the cognitive, behavioural, and functional symptoms of patients (Scarpini et al., 2003). Various medicinal plant extracts have been extensively investigated by the diabetes pharmacologists for antidiabetic potential (Naveen et al., 2021). The need for new therapeutic molecules to manage type 2 diabetes and Alzheimer's disease is mainly related to the toxicity of current commercially available drugs (Seltzer, 2006). The use of natural molecules with various therapeutic effects and low toxicity can be considered a promising tool for the treatment of these diseases (Gali and Bedjou, 2019).

* Corresponding author.

E-mail addresses: asma.amari@univ-annaba.org (A. Amari), ratibaseridi@yahoo.fr (R. Seridi), bionina2001@yahoo.fr (N. Sadou), lyndag652@gmail.com (L. Gali), mekersinawal@gmail.com (N. Mekersi), billel.alirachedi@gmail.com (B. Ali Rachedi).<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100769>

Received 15 September 2022; Received in revised form 27 April 2023; Accepted 15 September 2023

Available online 18 September 2023

2210-8033/© 2023 Elsevier GmbH. All rights reserved.

Aromatic and medicinal plants have been used since antiquity to treat various diseases. For example, 85% of Indians use crude plant preparations for the treatment of various ailments and diseases. At least 25% of pharmaceuticals prescribed worldwide are directly obtained from plants. Approximately 119 pure chemical substances extracted from plants are used in medicine throughout the world (Bendjedid et al., 2020). However, plants whose use in phytotherapy is rare, less frequent, or unknown can represent a new source of active compounds (Turan and Mammadov, 2018).

Flavonoids polyphenol family is a large group of secondary plant metabolites (De Godoi et al., 2020) that are characterised by many pharmacological and biological activities. The most common polyphenols are flavonoids, phenolic acids, and tannins (Dimkić et al., 2021). Extraction by solvents is an efficient method to recover flavonoids from medicinal plants; the amount of these compounds in each extract varies according to the plant (Kasmi et al., 2021).

Plants of the genus *Cyclamen* have been used as ornamental and as medicinal plants (Turan and Mammadov, 2018). The Egyptian, Greek, and Roman populations used these plants to treat many diseases, such as digestive disorders, bladder spasms, rheumatic pain, infections, and various skin diseases (Mazouz and Djeddi, 2013). In several studies, it has been reported that certain species of the genus *Cyclamen* influence the development of toxicity and carcinogenesis (Arslan et al., 2011). The study of the pharmacological properties of local plants could constitute their valorisation (El Aanachi et al., 2020).

Cyclamen africanum Boiss. & Reuter is a medicinal plant belonging to the family of Primulaceae (Israa et al., 2017). However, very few studies have examined their biological activities and most of them were focused on the aerial part. Therefore, this work aimed to investigate the anti-Alzheimer, antioxidant, and antidiabetic activities of the ethanolic extract from different parts of *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter (leaves, petioles, and tubers).

Material and Methods

Chemicals

Folin-Ciocalteu, sodium carbonate, AChE type VI-S, from electric eel < 1 000 U/mg solid, α -glucosidase type I from *Saccharomyces cerevisiae* 10 U/mg solid, 5,50 dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB), galanthamine, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,20-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), potassium persulfate, linoleic acid, β -carotene, 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHA), Tween 40, and neocuproine were purchased from Sigma Aldrich. Acetylthiocholine iodide was obtained from Biochemica.

Plant Material

Cyclamen africanum Boiss. & Reuter was collected from its biotope of natural existence in March 2018 in the region of Edough (Northeast Annaba, Algeria). The species was identified according to the description reported in the literature (Quezel and Santa, 1963) and validated by Dr Hamel Tarek (Department of Biology, Annaba University, Algeria). The different parts of *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter (leaves, petioles, and tuber) were separated, cleaned, and air-dried in a dry place and then ground into a fine powder.

Preparation of the Ethanolic Extract

The preparation of the ethanolic extracts from the different organs of the plant was carried out in a Soxhlet apparatus. The powder (10 g) of each organ was placed in a Soxhlet apparatus at 40 °C and exhaustively extracted with 150 ml of ethanol 90% for the duration of 8 hours (six extraction cycles). The extracts were filtered and the ethanol was removed under reduced pressure in a rotary evaporator (BUCHI, R215, Switzerland). The resulting residues were then stored in dark vials for later

analysis. The extraction yield for each extract considered as the ratio between the residue obtained and the initial quantity of powder used for the extraction was calculated (yield (%) = extract/powder * 100).

Total Phenolic and Flavonoids Contents

The total phenolic content of the different extracts was measured by the method described by Müller et al. (2010). A volume of 20 μ l extract was mixed with 100 μ l of Folin-Ciocalteu reagent (0.2 N diluted in distilled water) and 75 μ l of sodium carbonate (7.5%). The mixture was left for 2 hours in the dark and the absorbance was then measured at 765 nm using a multimode microplate reader (PerkinElmer Enspire, Singapore). A blank is prepared in the same way by replacing the extract with the solvent used (ethanol). The content of total phenolic was expressed in microgram gallic acid equivalent per milligram of extract (μ g GAE/mg extract) using a standard curve plotted with gallic acid ($Y = 0.003x + 0.104$; $R^2 = 0.997$).

The content of total flavonoids was determined according to the method described by Topçu et al. (2007). Briefly, 130 μ l of methanol, 10 μ l of potassium acetate (CH_3COOK , 1 M), and 10 μ l aluminium nitrate were added to 50 μ l of plant extract and the mixture was incubated during 40 minutes. Absorbance was measured at 415 nm against a blank, which consists of methanol (instead of reagents) and the extract in order to remove the absorbance of the yellow colour of the extracts. Flavonoids contents were expressed in microgram equivalent of quercetin per milligram of extract (μ g QE/mg extract) using quercetin as a standard to perform the standard curve ($Y = 0.004x$; $R^2 = 0.997$).

The phytochemical screening of *C. africanum* was realised in order to know the major constituents of the plant extracts. These preliminary tests were performed according to Antonisamy et al. (2012).

HPLC Protocol

Analysis of phenolic compounds in HPLC with standards was performed with Shimadzu Prominence-I LC-2030C liquid chromatography (Japan). The analysis was carried out C-18 column 5 μ m (250 \times 4.6 mm) (USA). Before starting the chromatographic analysis, the mobile phases (phase A includes 19% acetonitrile, 80% water, and 1% formic acid, and phase B includes 59% acetonitrile, 40% methanol, and 1% formic acid) and the extracts are placed in an ultrasonic tank for degassing. The injection volume was 10 μ l of each extract (at concentrations of 5 mg/ml) at 40 °C. The solutions of the standards were prepared in methanol at a concentration of 1 mg/ml. After each injection, the analytical system was rinsed for 1 hour with the mobile phase to ensure that any products that may have remained on the column were dislodged. For all analyses, the solvents used were HPLC quality, with a flow rate of 1 ml/min and a wavelength of 350 nm. The identification of the products on the chromatograms was made by comparing the retention times with those of the standards.

Antioxidant Activity

DPPH Free Radical Scavenging

The DPPH radical-scavenging activity test was determined according to the method reported by Bendjedid et al. (2020) with some modifications. Briefly, a solution of DPPH (1 mM) was prepared in methanol, and the absorbance was adjusted to 0.5 at 517 nm. In a 96-well microplate, 160 μ l of the DPPH solution was added to 40 μ l of samples at different concentrations. The incubation was carried out at room temperature and in the dark for 30 minutes, and the absorbance was then measured at 517 nm. BHT, BHA, and ascorbic acid were used as standards for the purpose of comparison. The capacity to scavenge the DPPH radical was expressed in terms of percentages of inhibition according to Equation (1) below:

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100 \quad (1)$$

where A_0 is the absorbance of the control, as is the absorbance of the reaction with the samples. The concentration of the sample causing a reduction in the absorbance of the DPPH solution by 50% referred to as IC_{50} was determined from the curves plotted with the percentages of inhibition against different concentrations.

ABTS Radical-Scavenging Activity

The trapping activity of the extracts using the ABTS radical was evaluated according to the method described by Benouchene et al. (2020). Beforehand, the $ABTS^{•+}$ cation was generated by reacting 7 mM ABTS with 2.5 mM potassium persulfate for 16 hour at room temperature and in the dark. The resulting solution was then diluted with distilled water to an absorbance of 0.7 at 734 nm. Then, 160 μ l of the $ABTS^{•+}$ solution was added to 40 μ l of the extracts at different concentrations. After 10 minutes, the absorbance was measured at 734 nm using a 96-well microplate reader (Perkin Elmer, Enspire, Singapore). BHT and BHA were used as standards. $ABTS^{•+}$ trapping capacity was calculated using the previous Equation (1).

Hydroxyl Radical Scavenging

The ability of different extracts to scavenge hydroxyl radicals was determined using the method reported by Bendjedid et al. (2021). The reaction was performed by mixing 40 μ l of each extract with 24 μ l of ferrous sulphate solution ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 8 mM), 20 μ l of hydrogen peroxide (20 mM), and 80 μ l of salicylic acid (3 mM). After incubation for 30 minutes at 37 °C, 36 μ l of distilled water was added. The absorbance was therefore measured at 515 nm. Ascorbic acid was used as standard. The results were expressed as percentages of inhibition, and the IC_{50} values were also determined from the inhibition curves.

Reducing Power

The reduction of ferrous ions (Fe^{2+}) was carried out using the method reported by Yakoubi et al. (2021) with some modifications. Briefly, 10 μ l of the sample was mixed with 40 μ l of phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 10 μ l of potassium ferricyanide (0.1%). The mixture was incubated at 50 °C for 20 minutes. Afterwards, 50 μ l of trichloroacetic acid (10%), 40 μ l of distilled water, and 10 μ l of ferric chloride ($FeCl_3$, 0.1%) were added and the absorbance was read immediately at 700 nm. BHA, BHT, and ascorbic were used as standards. The results were reported in the form of absorbances, and the parameter $A_{0.5}$ corresponding to the concentration giving an absorbance of 0.5 was calculated from the absorbance curve plotted with absorbances obtained at different concentrations.

Phenanthroline Assay

The phenanthroline test was used for further evaluation of iron reduction according to the method described by Szydłowska-Czerniaka et al. (2008). A volume of 10 μ l of the samples at different concentrations was mixed with 50 μ l of a solution of $FeCl_3$ (0.2%), 30 μ l of phenanthroline (0.5%), and 110 μ l of methanol. The mixture was incubated for 30 minutes and the absorbance was measured at 510 nm. BHA, BHT, and ascorbic acid were used as standards. The results were expressed in absorbances and the $A_{0.5}$ values were determined.

Cupric-Reducing Antioxidant Capacity

The copper-reducing antioxidant capacity test was carried out according to the protocol reported by Apak et al. (2004). The reaction consists of mixing in a 96 microplate, 40 μ l of the extracts with 50 μ l of neocuproine (7.5 mM), 50 μ l of $CuCl_2$ (10 mM), and 60 μ l of CH_3COONH_4 buffer (1 M, pH 7). After 1 hour of incubation, the absorbance was measured at 450 nm. The results were expressed in absorbance and $A_{0.5}$ was determined. BHA, BHT, and ascorbic acid were used as standards.

Metal Chelating Activity

Iron sequestration capacity was determined according to the method described by El Aanachi et al. (2020) using ferene. A volume

of 40 μ l of extracts at different concentrations was placed in a 96-well microplate and subsequently 40 μ l of $FeCl_2$ (0.2 mM), 40 μ l of ethanol, and 80 μ l of ferene (0.5 mM) were added. The mixture was stirred vigorously and allowed to stand at room temperature for 10 minutes. Absorbance was determined at 562 nm and EDTA was used as a standard. The results were given in percent inhibition by applying Equation (1).

β -Carotene Bleaching Assay

The β -carotene bleaching assay was carried out following the protocol provided by El Aanachi et al. (2020). The β -carotene/linoleic acid emulsion was prepared beforehand by dissolving 0.5 mg of β -carotene in 1 ml of chloroform to which 25 μ l of linoleic acid and 200 mg of Tween 40 were added. The solvent (chloroform) was then evaporated using a rotary evaporator at 40 °C and the resulting residue was collected with 50 ml of hydrogen peroxide (H_2O_2) to give an orange solution, the absorbance of which was adjusted with H_2O_2 to an absorbance 0.8–0.9 at 470 nm. In a microplate, 40 μ l of samples at different concentrations were reacted with 160 μ l of β -carotene/linoleic acid emulsion. Absorbance was measured at 470 nm using a microplate reader at 0 minutes and after 120 minutes incubation at 45 °C in an oven (brand). BHA and BHT were used as standards. The results were expressed as percentages of inhibition using the following equation:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{t=0} - A_{t=120}) / (A_{0t=0} - A_{0t=120})] * 100.$$

where $A_{t=0}$ and $A_{t=120}$ are the absorbances at 470 nm of the reaction in the presence of the tested samples at 0 minutes and 120 minutes, respectively. $A_{0t=0}$ and $A_{0t=120}$ are the absorbances (470 nm) of the control at 0 minutes and 120 minutes, respectively.

Anti-acetylcholinesterase Activity

The inhibitory effect of AChE was studied according to the method provided by Gali and Bedjou (2019). Briefly, 150 μ l of sodium phosphate buffer (100 Mm, pH 8.0), 10 μ l of samples prepared in ethanol at various concentrations, and 20 μ l of AChE (5.32×10^{-3} U) were mixed in a microplate and incubated for 15 minutes at 37 °C. Then, 10 μ l of DTNB (0.5 mM) and 20 μ l of the substrate acetylthiocholine iodide (0.71 mM) were added to start the reaction. Absorbance was measured at 412 nm at 0 minutes and after 15 minutes incubation at 37 °C. Galantamine was used as a reference compound. The percentage inhibition of AChE was determined using the following:

$$\text{Inhibition (\%)} = (E - S) / E \times 100 \quad (2)$$

where E is the activity of the enzyme in the absence of the test sample and S is the activity of the enzyme in the presence of the test sample.

Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity

The inhibition of α -glucosidase was determined according to the method reported by Lordan et al. (2013). A volume of 50 μ l of extracts was mixed with 100 μ l of the enzymatic solution (0.1 U/ml) prepared in 100 mM of phosphate buffer, pH 6.9. The microplate was then left to stand for 10 minutes at 37 °C. Subsequently, 100 μ l of p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (5 mM prepared in phosphate buffer) was added and the mixture was allowed to incubate for 40 minutes at 37 °C. Absorbance was recorded at 405 nm using a microplate reader. Acarbose is used as a positive standard, and the inhibitory effect was expressed in percentages of inhibition calculated using the previous Equation (2).

Table 1Total phenolic and total flavonoid content of ethanolic extract from different parts of *Cyclamen africanum* Boiss. & Reuter.

	Extraction yield	Total phenolic content ($\mu\text{g GAE/mg}$)*	Total flavonoid content ($\mu\text{g QE/mg}$)*
Leaves	67.6	122.88 \pm 4.68 ^a	75.625 \pm 8.10 ^a
Petioles	12.6	88.55 \pm 9.72 ^b	21.875 \pm 0.29 ^b
Tuber	40.4	15.17 \pm 1.06 ^c	11.04 \pm 0.21 ^c

Values are means \pm SD (n = 3). Values with different subscript letters in the same column are significantly different at $P < 0.05$. GAE, gallic acid equivalent; QE, quercetin equivalent.

Statistical Analyses

All data were presented as mean \pm SD values of three measurements. One-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison tests was performed on GraphPad Prism version 5 software (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA). The values are considered to be significantly different at $P < 0.05$.

Results

Extraction Yield and the Contents of Phenolic Compounds

The extraction yield as well as the contents of total phenolic and flavonoids of the ethanol extract of the different organs of *C africanum* Boiss. & Reuter were determined and the results are depicted in Table 1. As seen, the extraction yields strongly depend on the plant organ with the highest yield obtained with the leaf extract (67.60%), followed by tuber and finally petioles, which gave the lowest yield. The spectrophotometric quantification of main phenolics showed that leaves also contain the highest concentrations of total phenolic and flavonoids (122.88 \pm 4.68 $\mu\text{g GAE/mg}$ and 75.625 \pm 8.10 $\mu\text{g QE/mg}$, respectively), followed by petioles, whereas tubers gave the lowest contents.

Phytochemical Screening

The results indicate the presence of flavonoids, leuco-anthocyanins, sterol terpenes in leaves and petioles, anthocyanins, saponosides, and alkaloids in petioles and tubers, tannins in leaves, and starch in the tubers (Table 2). This result approved that *C africanum* contains various chemical compounds.

Identification of Biochemical Compounds

The chromatographic profiles of *C africanum* extracts are shown in Figures 1, 2, and 3. The extracts of leaves, petioles, and tubers of *C africanum* contain chlorogenic acid, caffeic acid, and rutin. In addition, leaves extract appears to contain kaempferol.

Table 2Results of phytochemical screening of *C africanum*.

Secondary metabolites	Leaves	Petioles	Tubers
Tannins	+	-	-
Anthocyanins	-	+++	++
Saponosides	-	+	+++
Leuco-anthocyanins	+	++	-
Alcaloïdes	-	+	+
Flavonoïdes	+	+	-
Terpenes and steroids	++	+	-
Starch	-	-	+
Coumarins	-	-	-

(+), slightly present; (++) , moderately present; (+++), highly present; (-), absent.

Antioxidant Activity

In the present work, eight complementary methods were used to evaluate the antioxidant activity of *C africanum* extracts and the main results are presented in Table 3.

The reduction of DPPH is observed by the transformation of the initial violet colour exhibiting an absorption maximum at 517 nm to yellow, while with ABTS, the reception of electrons causes the disappearance of the blue colour of the ABTS^{•+} solution (discoloration). Leaves showed the highest capacity to scavenge DPPH radicals with an IC₅₀ of 78.66 \pm 12.09 $\mu\text{g/ml}$, followed by the petioles, and finally by the tuber, which exerted the lowest trapping effect. Likewise, the trapping capacity of the ABTS radical exerted by the different extracts can be classified in the following descending order: leaves > petioles > tuber. Compared to BHA, BHT, and ascorbic acid used as standards, the extracts exerted a weaker trapping effect except for the leaves in the case of the ABTS radical, which exerted a similar activity compared to ascorbic acid (values are not statistically different, $P > 0.05$). The free radical-scavenging activity was further examined using the hydroxyl radical. Thus, its compensation is very important. *C africanum* extracts displayed low hydroxyl radical-scavenging activity with an IC₅₀ greater than 800 $\mu\text{g/ml}$ for all the extracts.

To better understand electron transfer, methods based on metal reduction have been used including reducing power, phenanthroline, and cupric-reducing antioxidant capacity. According to the results obtained, weak reducing properties of iron ions were observed with the extracts determined using the reducing power method with A_{0.5} greater than 200 $\mu\text{g/ml}$. In addition, the use of the phenanthroline assay also showed a low ability of the extracts to reduce ferrous ions. In contrast, the extracts were more effective at reducing copper ions. The leaves showed the strongest effect with an A_{0.5} of 42.01 \pm 1.91 $\mu\text{g/ml}$.

The effect of *C africanum* extracts on the bleaching of β -carotene proved interesting with the leaves, showing an IC₅₀ value of 35.94 \pm 0.62 $\mu\text{g/ml}$. Finally, the antioxidant activity was evaluated by the capacity of the extracts to sequester iron ions. All *C africanum* extracts showed a low capacity to bind to ferrous ions with IC₅₀ greater than 800 $\mu\text{g/ml}$.

Enzyme Inhibitory Effect

C africanum extracts were evaluated for their ability to inhibit AChE and α -glucosidase and the results are presented in Table 4 in terms of IC₅₀. The percentages of inhibition of the extracts against α -glucosidase at different concentrations are also reported in Figure 4.

As shown in Table 4, all extracts of *C africanum* Boiss. & Reuter have no effect on AChE.

Although the extracts of *C africanum* were inactive against AChE, they nevertheless showed a strong inhibitory activity against α -glucosidase, which is dose-dependent (Fig. 4). Acarbose used at high concentrations compared to extracts displayed lower activity and with a maximum inhibition of 91.05 \pm 0.72% at 5 000 $\mu\text{g/ml}$ (Fig. 4b). However, the determination of IC₅₀ values showed that petioles inhibited 50% of α -glucosidase activity at low concentration

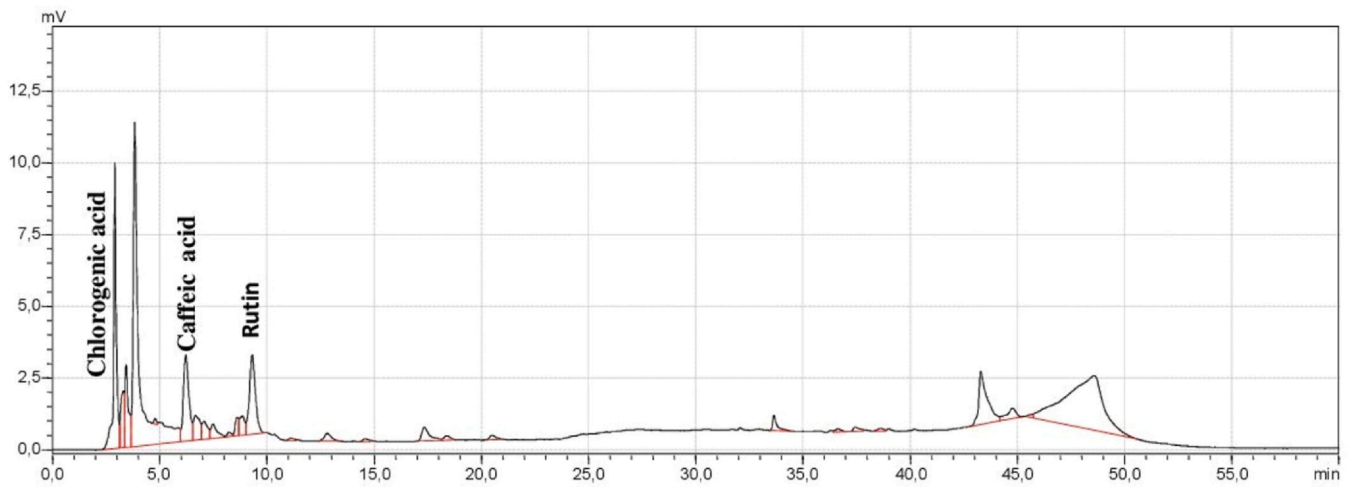


Fig. 1. Chromatogram of the extract of *C. africanum* petioles.

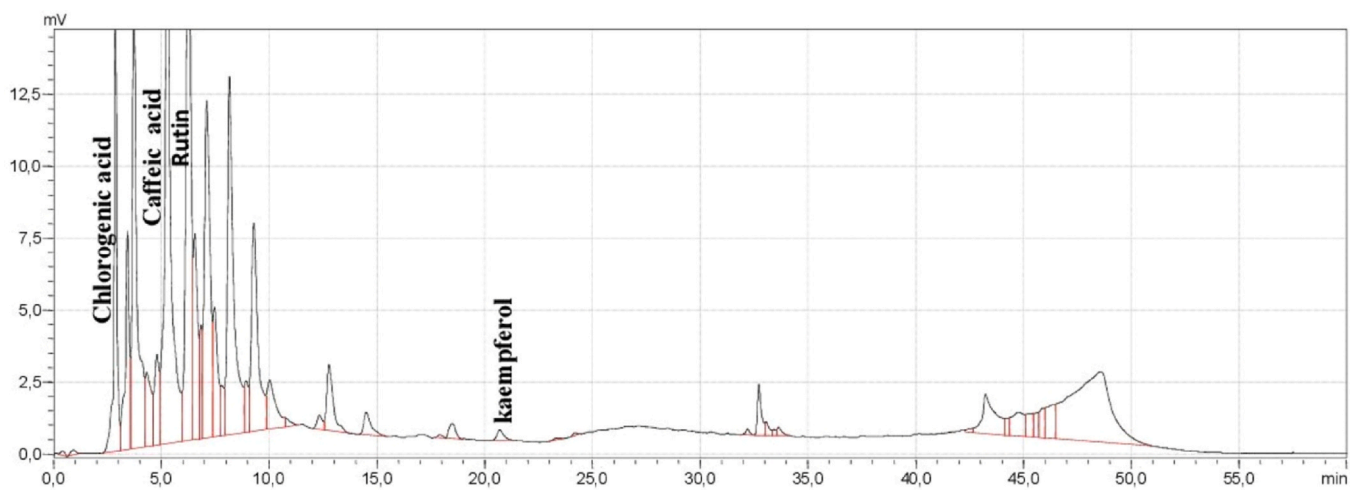


Fig. 2. Chromatogram of the extract of *C. africanum* leaves.

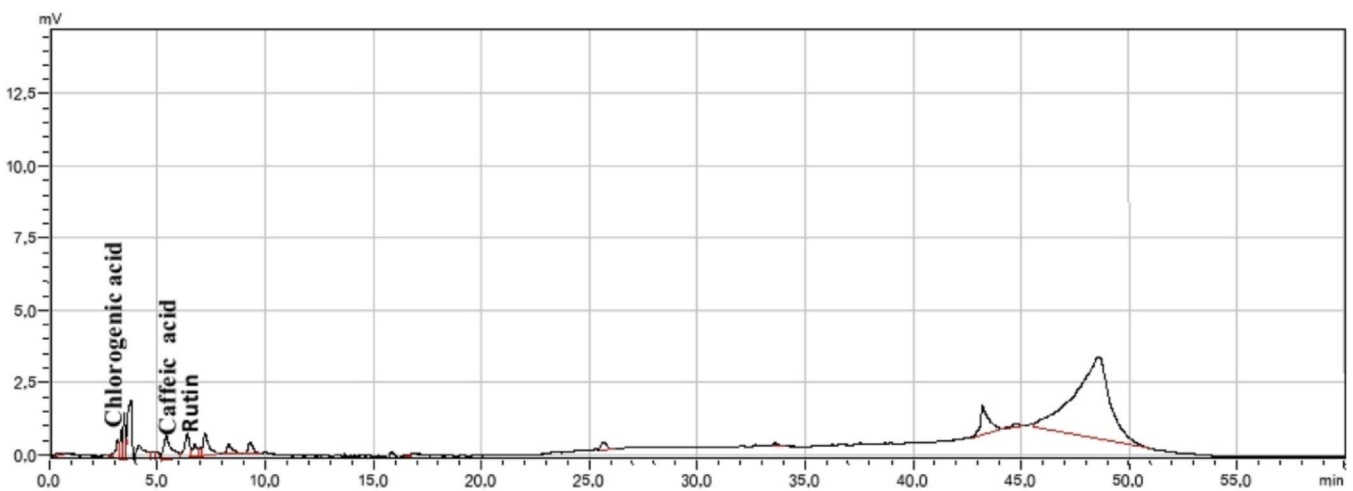


Fig. 3. Chromatogram of the extract of *C. africanum* tubers.

($47.13 \pm 3.98 \mu\text{g/ml}$), followed by the tuber, while the leaves showed the weakest inhibitory effect (Fig. 4a). Interestingly, all extracts showed a greater effect compared to standard acarbose ($\text{IC}_{50} = 275.43 \pm 1.59 \mu\text{g/ml}$). These results may give credence to the possible use of this plant to manage type 2 diabetes, particularly the petiole.

Discussion

The ethanolic extract of the species *C. africanum* was identified by HPLC for the first time. The extracts of leaves, petioles, and tubers of *C. africanum* contain chlorogenic acid, caffeic acid, and rutin. In addition, leaves extract appears to contain kaempferol.

Table 3
Antioxidant activity of *C africanum* extracts assessed by different methods.

	DPPH (IC ₅₀)	ABTS (IC ₅₀)	OH scavenging (IC ₅₀)	Reducing power (A _{0.5})	CUPRAC (A _{0.5})	Phenanthroline assay (A _{0.5})	β-carotene bleaching (IC ₅₀)	Iron chelating (IC ₅₀)
Leaves	78.66 ± 12.09 ^b	4.72 ± 1.77 ^b	> 800	> 200	42.01 ± 1.91 ^d	143.50 ± 1.06 ^c	35.94 ± 0.62 ^b	> 800
Petioles	80.53 ± 6.85 ^b	18.05 ± 1.38 ^c	> 800	> 200	64.43 ± 1.99 ^e	88.50 ± 3.71 ^d	NA	> 800
Tuber	149.19 ± 18.23 ^c	32.40 ± 1.18 ^d	> 800	> 200	165.39 ± 15.15 ^f	136.25 ± 1.44 ^e	> 800	> 800
BHA	6.14 ± 0.41 ^a	1.81 ± 0.10 ^a	NT	9.29 ± 0.22 ^b	4.81 ± 0.87 ^b	0.93 ± 0.07 ^a	1.24 ± 0.01 ^a	NT
BHT	12.99 ± 0.41 ^a	1.29 ± 0.30 ^a	NT	8.41 ± 1.46 ^b	1.82 ± 0.19 ^b	2.24 ± 0.17 ^b	1.26 ± 0.03 ^a	NT
A. acid	4.39 ± 0.01 ^a	3.04 ± 0.05 ^b	32.33 ± 1.17	5.45 ± 0.15 ^a	8.69 ± 0.14 ^c	5.25 ± 0.20 ^c	NT	NT
EDTA	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	12.11 ± 0.32

Values are means ± SD of three determinations. IC₅₀ and A_{0.5} values are expressed in µg/ml. Values with different subscript letters in the same column are significantly different at P < 0.05. NA, No activity; NT, not tested; BHA, butyl hydroxyl anisole; BHT, butyl hydroxyl toluene; A. acid, ascorbic acid; EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; ABTS, 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid); CUPRAC, cupric-reducing antioxidant capacity; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; OH, hydroxyl radicals.

Table 4

IC₅₀ values of various extracts of *C africanum* Boiss. & Reuter against acetylcholinesterase and α-glucosidase.

	Acetylcholinesterase IC ₅₀ (µg/ml)	α-glucosidase IC ₅₀ (µg/ml)
Leaves	NA	158.18 ± 17.50 ^c
Petioles	NA	47.13 ± 3.98 ^a
Tubers	NA	79.14 ± 8.50 ^b
Galantamine	6.27 ± 1.15	NT
Acarbose	NT	275.43 ± 1.59 ^d

Values are the mean ± SD of three measurements. Values with different subscript letters in the same column are significantly different at P < 0.05. NA, No activity; NT, not tested.

Kaempferol has several pharmacological properties, including anti-tumour, antidiabetic, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, cardioprotective, and neuroprotective activities, and is used in cancer chemotherapy (Imran et al., 2019).

A recent study has proven the use of rutin (also called, quercetin-3-O-rutinoside) as a therapy for venous insufficiency and the treatment of type 2 diabetes (Lixon and Quinet, 2020). Caffeic acid is an antioxidant and might therefore contribute to the prevention of cardiovascular disease. Chlorogenic acid is an important and biologically active dietary polyphenol, playing several important and therapeutic roles such as antiviral, antibacterial, antioxidant, hepatoprotective, cardioprotective, anti-obesity, anti-inflammatory and antimicrobial (Naveed et al., 2018).

Several compounds were previously identified in other *Cyclamen* species. This makes species of this genus candidates for new drugs in the prevention of human diseases. The chromatographic profiles of *C africanum* extracts analysed by HPLC show several peaks, which seem to contain several types of phenolic compounds. HPLC analysis of extracts showed that leaf extract is rich in chemical components compared with the petiole and tuber extracts. Due to the lack of standards, the main compound was not identified in the study; we hope that these compounds can be developed in the future.

The yield, the amount of phenolic compounds, as well as the nature of the compounds extracted can be strongly influenced by various parameters related to the extraction process, in particular the solvent, the temperature, the powder/solvent ratio, and the time of the extraction (Abbasi et al., 2008; Guerrero et al., 2008; Lapornik et al., 2005). In addition, the plant organ has been reported to have a pivotal role in determining the amount and nature of compounds (Luximon-Ramma et al., 2002). Referring to the literature, low contents of total phenolic and flavonoids contents in the methanolic extract from the aerial parts of *C africanum* were reported by Sofiane and Wafa (2020) with values of 43.49 ± 1.04 µg GAE/mg and 2.48 ± 0.08 µg QE/mg, respectively. In another study by Sarikurkcu (2011) on *C mirabile*, Hildebr. reported the effect of the extraction solvent and the plant organ used on the yield and polyphenol content of the species. According to the study, the leaf extract gave the highest yields compared to the tuber extract obtained using different solvents. In contrast, Zengin et al. (2020a) working on *Cyclamen cilicium* found that the highest levels of total phenolics and flavonoids were recorded with the root compared to other organs (flowers, leaves, and tubers).

The antioxidant activity of plant extracts is generally linked to the presence of phenolic compound (Shahidi and Ambigaipalan, 2015). The leaf extract showed the most potent antioxidant activity, which can be attributed to its high content of phenolic compounds. These results are consistent with other previous studies, which reported a close relationship between antioxidant activity and phenolic contents (Derakhshan et al., 2018; El Aanachi et al., 2020; Lekouaghet et al., 2020). Indeed, such an observation has already been reported in certain *Cyclamen* species such as *C mirabile* (Sarikurkcu, 2011) and *C alpinum* (Turan et al., 2018). The antioxidant activity of *C africanum* is scarcely

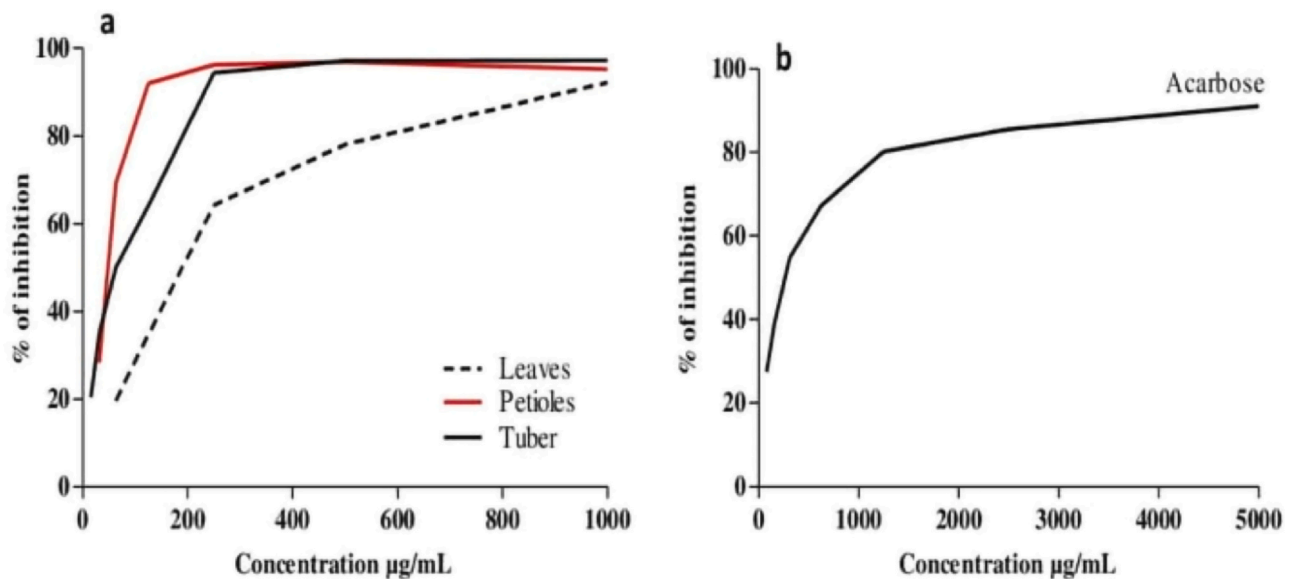


Fig. 4. Inhibitory effect of *C africanum* Boiss. & Reuter extracts (A) and acarbose (B) at different concentrations on α -glucosidase. Each point represents the mean of three parallel measurements.

reported in the literature. Our observation is in agreement with the results reported by some previous research that has demonstrated that the leaf part of *C alpinum* and *C mirabile* showed the highest free radical-scavenging activity (Sarikurkcu, 2011; Turan et al., 2018). The method of decolourisation of β -carotene has been performed by Turan and Mammadov (2018), and the results also confirmed that *C alpinum* leaves extract had the highest activity.

Mazouz and Djeddi (2014) reported the antioxidant activity of different extracts of aerial parts of *C africanum* evaluated using DPPH. The methanol and methanol-water extracts showed interesting antioxidant activity with percentages of inhibition of 70.440 ± 1.656 and $64.286 \pm 12.718\%$, respectively, at 1 mg/ml. Recently, Sofiane and Wafa (2020) demonstrated an interesting antiradical effect of the aerial parts of *C africanum* ($IC_{50} = 36.85 \pm 14.99 \mu\text{g/ml}$).

Preceding studies on the antioxidant activity of the tuber and leaf extract of *C mirabile* (Sarikurkcu, 2011) showed a high reducing power activity compared to that obtained in the present work.

Polyphenols and many other plant-derived molecules have been reported to have the ability to interact with proteins exerting functional actions such as enzymes (Quiñones et al., 2013). Several papers reported the anticholinesterase effect of plant extracts or isolated compounds, including alkaloids, polyphenols, and terpenoids (Gali and Bedjou, 2019). Thus, inhibition of ACh degradation by AChE has long been the main approach to symptomatic treatment of Alzheimer's disease, which aims to delay the breakdown of ACh and improve the cognitive capacities of patients (Ballinger et al., 2016; Zengin et al., 2020b).

Zengin et al. (2020a) have reported a significant anticholinesterase effect of the different parts of *C cilicium* with values between 3.80 ± 0.14 and $4.46 \text{ mg galantamine equivalent/g}$ of extract.

The inhibition of digestive enzymes responsible for the degradation of complex carbohydrates, such as α -glucosidase, plays an essential role through their hydrolytic action on the absorption of these compounds. Subsequently, inhibition of these enzymes hinders the passage of food carbohydrates into the bloodstream and prevents postprandial hyperglycaemia (Tundis et al., 2010).

Several studies have been devoted to the evaluation of the hypoglycaemia effect of plant extracts and have shown a significant effect and more important than that shown by acarbose and voglibose usually used as α -glucosidase and α -amylase inhibitors (Djermane et al., 2020; Madikizela et al., 2017). A previous study by Zengin et al.

(2020a) on different parts of *C cilicium* showed a remarkable inhibitory effect against α -glucosidase and the root with the highest total phenolic content, but low flavonoid content was the most effective ($15.75 \pm 0.02 \text{ mmol equivalent of acarbose/g}$ of extract). It will then be concluded that the nature of the compounds present in the extracts plays a pivotal role in its activity. Indeed, a preliminary analysis of the chemical composition of *C africanum* showed the presence of terpenes and tannins in the aerial parts (Mazouz and Djeddi, 2014). Moreover, a relationship between the presence of condensed tannins and the inhibition of α -glucosidase activity has been observed (Oliveira Raphaelli et al., 2019; Renda et al., 2018).

Conclusion

Cyclamen africanum Boiss. & Reuter is an endemic plant rarely studied. The present study aims to investigate some pharmacological effects of the plant. HPLC analysis reveals the presence of different phenolic components in the leaves, petioles, and tubers such as chlorogenic acid, rutin, caffeic acid, and kaempferol. The results show that leaves have interesting antioxidant effects. All extracts are found inactive against AChE. While remarkable inhibitory effect is obtained against α -glucosidase with petiole as the most potent. With such promising results, *C africanum* can constitute a good source of bioactive compounds with antioxidant and anti- α -glucosidase effects. However, further investigation is needed to determine the chemical structure of the compound responsible for these biological activities.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The authors sincerely thank the Research Centre in Biotechnology, Constantine (Algeria) in particular Bensouici Chawki for giving me the chance to carry out the experimental part of this work in the biochemistry laboratory.

References

- Abbasi, H., Rezaei, K., Emamdjomeh, Z., Mousavi, S.M.E., 2008. Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil. *Eur. J. Lipid Technol.* 110, 435–440.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A., 2007. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Jt. Bone Spine* 74, 324–329.
- Antonisamy, J.M., Aparna, J.S., Jeeva, S., Sukumaran, S., Anantham, B., 2012. Preliminary phytochemical studies on the methanolic flower extracts of some selected medicinal plants from India. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 1, 79–82.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970–7981.
- Arslan, Ş., Özgün, Ö., Celik, G., Semiz, A., Düşen, O., Mammadov, R., Şen, A., 2011. Effects of Cyclamen trochoptheranthum on hepatic drug-metabolizing enzymes. *Arch. Biol. Sci.* 63, 545–555.
- Ballinger, E.C., Ananth, M., Talmage, D.A., Role, L.W., 2016. Basal forebrain cholinergic circuits and signaling in cognition and cognitive decline. *Neuron* 91, 1199–1218.
- Bendjedid, S., Djelloul, R., Tadjine, A., Bensouici, C., Boukhari, A., 2020. In vitro assessment of total bioactive contents, antioxidant, anti-alzheimer and antidiabetic activities of leaves extracts and fractions of Aloe vera. *CMU J. Nat. Sci.* 19, 469.
- Bendjedid, S., Lekmine, S., Tadjine, A., Djelloul, R., Bensouici, C., 2021. Analysis of phytochemical constituents, antibacterial, antioxidant, photoprotective activities and cytotoxic effect of leaves extracts and fractions of Aloe vera. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 33, 101991.
- Benouche, D., Bellil, I., Akkal, S., Bensouici, C., Khelifi, D., 2020. LC–MS/MS analysis, antioxidant and antibacterial activities of Algerian fir (*Abies numidica* de LANNON ex CARRIÈRE) ethylacetate fraction extracted from needles. *J. King Saud. Univ. Sci.* 32, 3321–3327.
- Bourebaba, L., Saci, S., Touguit, D., Gali, L., Terkmene, S., Oukil, N., Bedjou, F., 2016. Evaluation of antidiabetic effect of total calyptegines extracted from *Hyoscyamus albus*. *Biomed. Pharmacother.* 82, 337–344.
- Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M.J., 2017. Type 2 diabetes. *Lancet* 389, 2239–2251.
- De Godoi, R.S., Almerão, M.P., da Silva, F.R., 2020. In silico evaluation of the antidiabetic activity of natural compounds from *Hovenia dulcis* Thunberg. *J. Herb. Med.* 28, 100349.
- Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M.S., Conti, G.O., Sadrabad, E.K., 2018. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food Chem. Toxicol.* 114, 108–111.
- Dimkić, I., Gobin, I., Begić, G., Antić, D.R., Ristivojević, P., Jurica, K., Berić, T., Lozo, J., Abram, M., Stanković, S., 2021. Antibacterial activity of herbal extracts towards uropathogenic *Enterococcus* isolates as a natural approach in control of urinary tract infections. *J. Herb. Med.* 28, 100445.
- Djermane, N., Gali, L., Arhab, R., Gherraf, N., Bensouici, C., Erenler, R., Gok, M., Abdessamed, A., 2020. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory activities of *Erucariauncata* and *Thymeleaehirsuta*. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 29, 101834.
- El Aanachi, S., Gali, L., Nacer, S.N., Bensouici, C., Dari, K., Aassila, H., 2020. Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 29, 101819.
- Gali, L., Bedjou, F., 2019. Antioxidant and anticholinesterase effects of the ethanol extract, ethanol extract fractions and total alkaloids from the cultivated *Ruta chalepensis*. *South Afr. J. Bot.* 120, 163–169.
- Guerrero, M.S., Torres, J.S., Nuñez, M.J., 2008. Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: optimization and modelling. *Bioresour. Technol.* 99, 1311–1318.
- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., AslamGondal, T., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., TsouhFokou, P.V., Umair Arshad, M., Khan, H., 2019. Kaempferol: a key emphasis to its anticancer potential. *Molecules* 24, 2277.
- Israa, A.I., Haider, M.H., Imad, H.H., 2017. *Cyclamen persicum*: methanolic extract using gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) technique. *Int. J. Pharm. Qual. Assur.* 8, 200–213.
- Kasmi, S., Hamdi, A., Atmani-Kilani, D., Debbaiche-Benaid, N., Jaramillo-Carmona, S., Rodríguez-Arcos, R., Jiménez-Araujo, A., Ayouni, K., Atmani, D., Guillén-Bejarano, R., 2021. Characterization of phenolic compounds isolated from the *Fraxinus angustifolia* plant and several associated bioactivities. *J. Herb. Med.* 29, 100485.
- Lapornik, B., Prošek, M., Wondra, A.G., 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *J. Food Eng.* 71, 214–222.
- Lekouaghet, A., Boutefnouchet, A., Bensouici, C., Gali, L., Ghenaiet, K., Tichati, L., 2020. In vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of the hydroalcoholic extract and its fractions from *Leuzea confinera* L. roots. *South Afr. J. Bot.* 132, 103–107.
- Lixon, M.V., Quinet, M., 2020. L'utilisation de la rutine: traitement de l'insuffisance veineuse et perspective thérapeutique dans le traitement du diabète de type II et ses complications. Thesis, dial.uclouvain.be.
- Lordan, S., Smyth, T.J., Soler-Vila, A., Stanton, C., Ross, R.P., 2013. The alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chem.* 141, 2170–2176.
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M.A., Aruoma, O.I., 2002. Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 5042–5047.
- Madikizela, B., Ndhala, A.R., Rengasamy, K.R.R., McGaw, L.J., Van Staden, J., 2017. Pharmacological evaluation of two South African commercial herbal remedies and their plant constituents. *South Afr. J. Bot.* 111, 291–298.
- Mazouz, W., Djeddi, S., 2013. A biological overview on the Genus *Cyclamen*. *Eur. J. Sci. Res. Acad. Edu.* 110, 7–22.
- Mazouz, W., Djeddi, S., 2014. Biological properties of Algerian *Cyclamen africanum* extracts. *Adv. Environ. Biol.* 8, 900–903.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A.M., Böhm, V., 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Sci. Technol.* 43, 992–999.
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., AliKamboh, A., Khan, G., J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., Fang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, F., Li, XiaoHui, Z., 2018. Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research. *Biomed. Pharmacother.* 97, 67–74.
- Naveen, Y.P., Urooj, A., Byrappa, K., 2021. A review on medicinal plants evaluated for anti-diabetic potential in clinical trials: present status and future perspective. *J. Herb. Med.* 28, 100436.
- Oliveira Raphaelli, C., dos Santos Pereira, E., Camargo, T.M., Vinholes, J., Rombaldi, C.V., Vizzotto, M., Nora, L., 2019. Apple phenolic extracts strongly inhibit α -glucosidase activity. *Plant Foods Hum. Nutr.* 74, 430–435.
- Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Editions CNRS, Paris, pp. 405.
- Quiñones, M., Guerrero, L., Suarez, M., Pons, Z., Aleixandre, A., Arola, L., Muguera, B., 2013. Low-molecular procyanidin rich grape seed extract exerts antihypertensive effect in males spontaneously hypertensive rats. *Food Res. Int.* 51, 587–595.
- Renda, G., Özel, A., Barut, B., Korkmaz, B., Şoral, M., Kandemir, Ü., Liptaj, T., 2018. Bioassay guided isolation of active compounds from *Alchemilla barbatiora* Juz. *Rec. Nat. Prod.* 12 (1), 76–85.
- Sarikurkcü, C., 2011. Antioxidant activities of solvent extracts from endemic *Cyclamen mirabile* Hildebr. tubers and leaves. *Afr. J. Biotechnol.* 15, 831–839.
- Scarpini, E., Cogliamarian, F., 2003. Alzheimer's disease: from molecular pathogenesis to innovative therapies. *Expert Review of Neurotherapeutics* 3 (5), 619–630.
- Seltzer, B., 2006. Cholinesterase inhibitors in the clinical management of Alzheimer's disease: importance of early and persistent treatment. *J. Int. Med. Res.* 34, 339.
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P., 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects—a review. *J. Funct. Foods* 18, 820–897.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., Dhaka, N., 2013. Potential applications of antioxidants—a review. *J. Pharm. Res.* 7, 828–835.
- Sofiane, G., Wafa, N., 2020. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities development of methanol extract of *Cyclamen africanum* B. et R., growth in Jijel – Algeria. *J. Drug Deliv. Ther.* 10, 130–134.
- Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recsec, K., Karlovits, G., Szlyk, E., 2008. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 76, 899–905.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarkürkcü, C., Öztürk, M., Ulubelen, A., 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chem.* 103, 816–822.
- Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F., 2010. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev. Med. Chem.* 10, 315–331.
- Turan, M., Mammadov, R., 2018. Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, larvicidal and anthelmintic activities and phenolic contents of *Cyclamen alpinum*. *Pharmacol. Pharm.* 09, 100.
- Yakoubi, R., Megateli, S., Hadj Sadok, T., Gali, L., 2021. Photoprotective, antioxidant, anticholinesterase activities and phenolic contents of different Algerian *Mentha pulegium* extracts. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 34, 102038.
- Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Sinan, K.I., Picot-Allain, M.C.N., Yildiztugay, E., Cziaky, Z., Jekő, J., Saleem, H., Ahemad, N., 2020a. Chemical characterization, antioxidant, enzyme inhibitory and cytotoxic properties of two geophytes: *Crocus pallasii* and *Cyclamen ciliatum*. *Food Res. Int.* 133, 109129.
- Zengin, G., Sinan, K.I., Mahomoodally, M.F., Angeloni, S., Mustafa, A.M., Vittori, S., Maggi, F., Caprioli, G., 2020b. Chemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory properties of different extracts obtained from spent coffee ground and coffee silverskin. *Foods* 9, 713.