

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie moléculaire et cellulaire

Mémoire élaboré pour l'obtention d'un diplôme de Master 2

Option : Biochimie appliquée

Projet de fin d'étude intitulé :

*Étude chimique et biologique des extraits bruts des plantes de la flore de la
région de Ghardaïa : F.g. Del et I.s. »*

Dirigé par :

Dr. BOUCHARÈB Abderrezak

Présenté et soutenu par :

CHERIF Soundes

ARROUF Khaoula

Devant le jury :

Président de jury :

Dr. TAKOUACHET Redhouane MCB

Université Khenchela

Examineur :

Dr. DJEMEL Abdelhak MRB

CRBT Constantine

Année Universitaire

2020/2021

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions, du plus profond de notre cœur, Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Nous remercions, très chaleureusement **Dr. BOUHAREB ABDERREZAK** (Maître de recherche «classe B » attaché au CRBT Constantine) notre encadrant, on tient vivement à lui exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude pour sa disponibilité, sa patience et sa compréhension. Merci pour vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines qui resteront à jamais un bon exemple pour nous.

Nous remercions la président du jury, **Dr. REDHOUANE TAKOUACHET** (Maitre de conférence classe B universités abbes laghrour. khenchela) d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions également **Dr. DJEMEL ABDELHAK**. (Maître de recherche « classe B » attaché au CRBT .Constantine) de nous avoir honorés en examinant notre travail.

Nous remercions sincèrement **Dr. REDHOUANE TAKOUACHET** et **Dr. DJEMEL ABDELHAK**, pour la confiance qu'ils ont placée en nous et leurs conseils constructifs
Merci de nous avoir accueillis et aidés.

Un grand remerciement pour **Pr. AZIOUNE AMMAR**, le Directeur du **CRBT** qui nous a ouvert les portes et ainsi nous a offert l'occasion de réaliser ce travail au niveau de leurs établissements.

Nous vifs remerciements vont aussi au **DR BENSOUICI CHAOUKI.**, Chef de laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine (**CRBT**). On tient à lui exprimer notre sincère reconnaissance et notre plus profond respect.

Nous remercions aussi notre meilleur docteur durant notre parcours universitaire **Dr KRIM**

Nous adressons nos remerciements à l'ensemble des ingénieurs et techniciens des laboratoires du **CRBT** pour leur aide.

Nos remerciements vont à tous ceux qui ont participé, de près ou de loin à L'élaboration de ce travail.

Un grand merci à tous

SOUNDES et KHAOULA

Dédicaces

Avant tout, je remercie le Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

J'ai l'honneur de le dédie à mes chers parents, qui m'ont dirigé et suivi pendant toute mes années d'études .Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux je prie mon Dieu de les bénir de veiller sur eux j'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mes sœurs

OUNS ICHRAK et MAYA, pour leurs soutien moral et encouragements elles m'ont appris la patience et la concentration sur mon travail. Je leurs souhaite un avenir plein d'amour, de bonheur et de succès. Je vous aime beaucoup.

A toute ma famille

A tous mes professeurs

Dr KRIM. M, Dr HABIBATNI .S, Dr THAKOUACET .R, Dr DJAMEL .A,

Dr KARA ALI. W, Dr BOUHALIT. S.

Pour leurs encouragements et leurs soutiens durant mon parcours universitaire

A Mon binôme KHAOULA

Je la remercie pour leur soutien moral, leur patience et leur dévouement à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts

A mes Amis

Je dédie ce travail à SOMIA et WAHIBA

Pour les moments qu'on a vécu ensemble.

A tous mes camarades de promotion

Biochimie appliquée

Enfin, à toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

soundes

Dédicaces

A mes très chers parents

A mes très chères sœurs

A mon cher frère

A toute ma famille

A mes chères amies

A tous ceux qui me sont chers

A tous ceux qui aiment la science

Je dédie ce modeste mémoire

A mon cher papa ; ma chère maman et ma chère grande mère pour leurs sacrifices, leurs soutiens, leurs prières et leurs présences à chaque instant tout au long de mes études. Que ce travail est le fruit de votre soutien et vos sacrifices ; merci maman, merci papa, merci ma grande mère, sans vous je n'en serais pas là aujourd'hui.

A mes chères sœurs ASMA ; AYA ; RITEDJ et HIBA, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A mon cher frère ABED ELHAMID pour leur appui et leur encouragement permanent, que dieu vous protège pour moi.

A toute ma famille pour leur support tout au long de mon chemin.

A mon binôme SOUNDES, je la remercie pour leur soutien moral, leur patience et leur dévouement a ce travail.

A ma deuxième famille « Mes amies » SOUMIA ; WAHIBA et DJAMILA qui m'ont apporté la force, la joie, le bonheur, elles m'ont toujours comblé avec leurs présences, et Amour.

A mes chers profs Dr KRIM. M, Dr KARA ALI. W, Dr KATIA, Dr TAKOUACHET. R et Dr DJEMEL. A pour leurs encouragements et leurs soutiens durant mon parcours universitaire.

Je vous aime énormément

KHAOULA

Table des matières

Table des matières	
Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Table des matières	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	01
Chapitre I : la plante et la phytothérapie	
I – 1. Les plantes médicinales	04
I – 1 – 1. Le pouvoir des plantes	04
I – 2. Définition de phytothérapie	04
I – 2 – 1. Développement de la phytothérapie	05
I – 2 – 2. Différents types de phytothérapie	05
I – 2 – 3. Les avantages et l'efficacité de la phytothérapie	06
I – 3. La Flore d'Algérie	06
I – 4. Aspect botanique	07
I-5. Famille des Zygophyllaceae	08
I-5-1 Généralités	08
I-5-2 Position systématique des Zygophyllaceae	09
I-5-3 Description botanique	09
I-5-4 Intérêt biologique de la famille Zygophyllaceae	09
I-5-5. Le genre <i>F.g.d</i>	11
I-5-5-1. Taxonomie systématique	11
I-6. Famille des Astéracées	12
I-6-1 Généralités	12
I-6-2 Position systématique des Astéracées	12
I-6-3 Description botanique	13
I-6-4 Intérêt biologique de la famille Asteraceae	14
I-6-5. Le genre <i>I.s</i>	14
I-6-5-1. Taxonomie systématique	15
I-7. Caractéristique de la région d'étude	16
I-7-1. Le Sahara	16

I-7-3. Des écosystèmes arides	16
I-7-4. Description générale de La région de Ghardaïa	17
Chapitre II : les produits poly phénoliques	
Introduction	22
II. Classification des composés poly phénoliques	22
Définition des polyphénols	22
II – 1. Les acides phénols	23
II – 2. Les anthocyanes	24
II – 3. Les coumarines	25
II – 4. Les tanins	29
II – 5. Les flavonoïdes	31
II – 5 – 1. Classification des flavonoïdes	32
II – 5 – 2 .Biosynthèse ou biogénèse des flavonoïdes	33
II – 5 – 3 .Intérêt thérapeutique des flavonoïdes	35
Autres propriétés des flavonoïdes	37
II-6. Les Saponines	37
II.7. les alcaloïdes	38
II-7-1. Définition	38
II-7-2. Classification des alcaloïdes	38
Partie pratique	
Chapitre III : matériels et méthodes	
III.1. Préparation de matériel végétal	42
III.2. Récolte de matériel végétal	42
III.1.1. Extraction solide-liquide	42
III.2. Screening phytochimique	46
III.3. Analyse quantitative	46
III.3.1 Dosage des polyphénols totaux	46
III.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux	48
III.4. Activité biologique	49
III.4.1 Activité antioxydant	50
1. Test de DPPH	51
2. Test d'ABTS	53
3. Test de Reducing power (Frap)	55
4. Test de phénoltroline	56
III.4.2. Activité enzymatique	57
1. Test d'alpha-amylase	58
2. Test d'acétylcholine estérase	60

3. Test uréase	62
Chapitre IV : résultats et discussion	
I. Rendement d'extraction	65
II. Criblage chimique (screening)	65
III. Dosage des poly-phénolique totaux et flavonoïdes	67
III.1 Dosage des poly-phénolique	67
III.2 Dosage des flavonoïdes	67
IV .Criblage d'activité biologique	70
IV.1 DPPH	70
IV.2 ABTS	73
IV.3 FRAP	77
IV.4 PHENOLTROLINE	80
L'activité inhibitrice des enzymes	85
Conclusion générale & perspectives	88
Références	91

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Partie pratique :

CHAPITRE – III : Préparation de matériel végétal.

Numéro	Titre	Page
01	les tests phytochimiques et leur mode opératoire et coloration des plantes <i>I.s</i> et <i>F.g.d.</i>	46

Chapitre – IV : Résultats et discussion.

Numéro	Titre	Page
01	Rendement d'extraction hydro méthanoïque et aqueux de la plante <i>I.s</i> et <i>F.g.d.</i>	65
02	Résultats de criblage phytochimique de l'extrait hydro méthanoïque et l'aqueux de <i>I.s</i> et <i>F.g.d.</i>	66
03	Résultats du dosage des polyphénols.	67
04	Résultats du dosage des flavonoïdes.	67
05	Pourcentages d'inhibition du radical DPPH.	71
06	Pourcentages d'inhibition du radical ABTS.	75
07	Les absorbances des différents extraits dans la méthode FRAP.	78
08	les absorbances des différents extraits dans la méthode de Phenanthroline.	82

Liste des figures

Listes des figures :

CHAPITRE – I : La plante et la phytothérapie.

Numéro	Titre	Page
Figure.1	Schéma de systématique botanique de plante.	8
Figure.2	Le genre <i>F.G.Del.</i>	11
Figure.3	Le genre <i>I.S</i> (F).	14
Figure.4	Carte de position géographique de la wilaya de Ghardaïa.	18
Figure.5	Image satellitaire de la région d'étude.	18

CHAPITRE – II : Les produits poly phénolique.

Numéro	Titre	Page
Figure.1	Exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque.	23
Figure.2	Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique.	24
Figure.3	Cation flavylum (squelette de base de tous les anthocyanes).	24
Figure.4	Les principaux composés des coumarines.	25
Figure.5	Structures chimiques de quelques coumarines simples.	27
Figure.6	Structures chimiques de quelques bicoumarines.	28
Figure.7	Structures chimiques de quelques tricoumarines.	29
Figure.8	Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).	29
Figure.9	Structure de base des flavonoïdes.	32
Figure.10	Schéma simplifié de la biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes.	34

Partie pratique :

CHAPITRE – III : Matériels et méthodes.

Numéro	Titre	Page
Figure.1	Montage de l'évaporateur rotatif de laboratoire.	44
Figure.2	Organigramme d'extraction et d'évaporation.	45
Figure.3	Transformation du radical DPPH [*] en DPPHH.	51
Figure.4	Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [*]	54
Figure.5	Mécanisme réactionnel du test FRAP.	55
Figure.6	Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline.	57
Figure.7	Formation du complexe amylose-iodure en absence de l' α -amylase.	59

Chapitre – IV : Résultats et discussion.

Numéro	Titre	Page
Figure.1	Résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes sur microplaque.	68
Figure.2	Evaluation des polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits aqueux d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	68
Figure.3	Evaluation des polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	69
Figure.4	Résultats du DPPH des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque.	72
Figure.5	Valeur IC ₅₀ du test DPPH des extraits aqueux d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	72
Figure.6	valeur IC ₅₀ du test DPPH des extraits Hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	73
Figure.7	Résultats du test ABTS des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque.	76
Figure.8	Valeur IC ₅₀ du test ABTS des extraits aqueux d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	76
Figure.9	Valeur IC ₅₀ du test ABTS des extraits hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	77
Figure.10	Résultats du test FRAP des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque.	79
Figure.11	Valeur IC ₅₀ du test FRAP des extraits aqueux d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	79
Figure.12	Valeur IC ₅₀ du test FRAP des extraits hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> .	80
Figure.13	Résultats du test PHENOLTRILINE des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque.	83

Figure.14	Valeur IC ₅₀ du test PHENOLTROLINE des extraits aqueux d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d.</i>	83
Figure.15	Valeur IC ₅₀ du test PHENOLTROLINE des extraits hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d.</i>	84
Figure.16	Résultats d'alpha-amylase des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque.	85
Figure.17	Résultats d'Acétyl-choline des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque	86
Figure.18	Résultats du test URÉASE des extraits aqueux et hydro méthanoïques d' <i>I.s</i> et <i>F.g.d</i> sur microplaque.	86

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

ABTS^{•+} : (acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

ACH : Acétylcholine.

ACHE : acétylcholine estérase.

ACI : (Acétylthio choline iodide).

A_{contrôle} : L'absorbance du contrôle négatif,

A_{extrait} : L'absorbance de l'extrait/standard.

(Al (NO₃)₂, 9H₂O) : nitrated'aluminium.

BHA : ButylHydroxyAnisole.

BHT : ButylHydroxyToluene.

BSA : Bovin Serum Albumin.

CHAT : choline acétyl transférase.

CH₃COOK : Potassium acetate.

(C₆H₅OH) : Le phénol.

CI50 : Concentration Inhibitrice à 50%.

Cu Cl₂, 2H₂O : Chlorure de cuivre di-hydraté.

Cu (Nc) 2²⁺ : Cuivre Néocuproïne.

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity.

DPPH : (acide 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle).

DTNB : (5,5'- dithiobis-[2 nitrobenzoate]).

FCR : (Folin-Ciocalteu réactif).

FeCl₃ : Chlorure de fer.

FRAP : (pouvoir antioxydant réducteur ferrique).

HCL : Acide chlorhydrique.

(H₃PMo₁₂O₄₀) : d'acide phospho-molybdique.

(H₃PW₁₂O₄₀) : d'acide phospho-tungstique.

IKI : Iodine Potassium Iodide.

K₃Fe(CN)₆ : Potassium Ferricyanide.

(K₃Fe(CN)₆) : le ferricyanure de potassium.

KI : Iodure de potassium.

K₂S₂O₈ : persulfate de potassium.

L'ABTS : (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

(Mo₈O₂₃) : molybdène.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

Na₂[Fe(CN)₅NO] : Nitroprussiate de sodium.

(Na₂HPO₄, 2H₂O) : Sodium phosphate dibasic dihydrate AR.

Na OCL : Hypochlorite de sodium.

Na OH : Hydroxyde de sodium.

NH₄ OH : Ammoniaque.

(8-OHDG) : 8-hydroxydesoxyguanosine.

ORAC : (capacité d'absorption des radicaux oxygénés).

TCA : Tri-chloro-acetic-acid.

TEAC : (Trolox equivalent antioxidant capacity).

Trolox : (acide 6-hydroxy-2, 5,7, 8-tétraméthylchroman-2-carboxylique).

U.C.D : unité de conservation et de développement.

UV : Ultra-Violet.

(W₈O₂₃) : d'oxydes de tungstène.

Résumé

Résumé :

Les produits naturels tiennent une place majeure dans la médecine et alternative complémentaire Algérienne, en répondant aux différents besoins sanitaires. En effet, La communauté scientifique oriente ses travaux de recherche vers une valorisation adéquate des ressources naturelles, en caractérisant leurs effets pharmacologiques notamment avec l'apparition de l'intervention du stress oxydatif dans des variétés des maladies humaines lourdes dans les années récentes. Dans le but d'étudier le pouvoir biologique des substances actives des plantes aromatiques et médicinales dans la région de Chebka wilaya de Ghardaïa ; nous nous sommes intéressés à deux espèces à savoir : *I.S* (astéracée) et *F.G.Del* (Zygophyllaceae), Dans la présente étude, nous avons quantifié les poly-phénols et les flavonoïdes totaux pour les deux extraits de plantes précitée par les méthodes de folin-iocaltaeu et $AlCl_3$ respectivement. En plus, nous avons caractérisé d'une part, l'activité anti-oxydante par des méthodes standards, le piégeage des radicaux DPPH et ABTS, la réduction du fer (FRAP et Phenanthroline). D'autres part, nous avons testé l'activité antidiabétique via l'inhibition de l' α -amylase et l'activité anti-Alzheimer via l'inhibition de l'acétylcholinestérase, afin de finalisé notre travail par l'étude de l'activité uréase. Nos résultats ont montré des niveaux considérables en polyphénols et flavonoïdes totaux notamment pour l'extrait hydro-méthanoïque de la plante *I.S* (astéracée). Concernant l'activité anti-oxydante, les résultats ont montré des activités importantes pour les extraits des deux plantes testées notamment pour les extraits hydro-méthanoïques qui sont comparables aux références BHA et BHT dans les méthodes de piégeage des radicaux DPPH et ABTS. En plus, les extraits étudiés ont présenté des activités variables dans les méthodes, FRAP et Phenanthroline. Parallèlement, L'activité inhibitrice des enzymes a montré que nos extraits ont aucun pouvoir d'inhibition enzymatique sauf dans le cas d'enzyme uréase qui donne une inhibition de 50% pour les deux extraits de la plante *F.G.Del* comparant avec celle de l'extrait *I.S* qui présente une inhibition maximale de 22%. Nos résultats justifient l'usage traditionnel de la plante étudiée en Algérie, et valorise l'effet biologique et pharmacologique des extraits. Ils ouvrent également dans une future proche des perspectives multiples qui nous permettra sans doute d'enrichir le poids scientifique de ce travail.

Mots clé : *I.S* (astéracée), *F.G.Del* (Zygophyllaceae), Stress oxydatif, anti-oxydante, activité enzymatique.

Abstract :

Natural products hold a major place in Algerian complementary medicine and alternative, responding to different health needs. Indeed, the scientific community is directing its research work towards an adequate evaluation of natural resources, by characterizing their pharmacological effects, in particular with the appearance of the intervention of oxidative stress in varieties of serious human diseases in recent years. In order to study the biological power of the active substances of aromatic and medicinal plants in the region of Chebka wilaya of Ghardaïa; we were interested in two species namely: IS (asteracea) and FGDel (Zygophyllaceae), In the present study, we quantified the total polyphenols and flavonoids for the two plant extracts mentioned above by the methods of folin-iocaltau and $AlCl_3$ respectively. In addition, we have characterized on the one hand, the antioxidant activity by standard methods, the scavenging of DPPH and ABTS radicals, the reduction of iron (FRAP and Phenanthroline). On the other hand, we tested the antidiabetic activity via the inhibition of α -amylase and the anti-Alzheimer activity via the inhibition of acetyl-cholinesterase, in order to finalize our work by studying the urease activity. Our results showed considerable levels of total polyphenols and flavonoids, especially for the hydro-methanoic extract of the I.S plant (asteracea). Regarding the antioxidant activity, the results showed significant activities for the extracts of the two plants tested, in particular for the hydro-methanoic extracts which are comparable to the BHA and BHT references in the methods for trapping DPPH and ABTS radicals. In addition, the studied extracts exhibited variable activities in the methods, FRAP and Phenanthroline. At the same time, the inhibitory activity of the enzymes has shown that our extracts have no power of enzymatic inhibition except in the case of urease enzyme which gives an inhibition of 50% for the two extracts of the plant FGDel comparing with that of the IS extract which exhibits a maximum inhibition of 22%. Our results justify the traditional use of the plant studied in Algeria, and enhance the biological and pharmacological effect of the extracts. They also open up multiple perspectives in the near future that will undoubtedly allow us to enrich the scientific weight of this work.

Key word : I.S (astéracée), F.G.Del (Zygophyllaceae), Oxidative stress, antioxidant, enzymatic activity.

الملخص :

تحتل المنتجات الطبيعية مكانة كبيرة في الطب التكميلي والبديل الجزائري استجابة للاحتياجات الصحية المختلفة. في الواقع، يوجه المجتمع العلمي أعماله البحثية نحو التقييم المناسب للموارد الطبيعية، من خلال توصيف آثارها الدوائية، لا سيما مع ظهور تدخل الإجهاد التأكسدي في أنواع مختلفة من الأمراض البشرية الخطيرة في السنوات الأخيرة. من أجل دراسة القوة البيولوجية للمواد الفعالة للنباتات العطرية والطبية في منطقة شبكا ولاية غرداية. كنا مهتمين بنوعين هما: S. I (asteracea) و FGDel (Zygophyllaceae)، في هذه الدراسة، قمنا بتحديد إجمالي مركبات البوليفينول والفلافونويد للمستخلصين النباتيين المذكورين أعلاه بواسطة طرق فولين- iocaltaeu و $AlCl_3$ على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، قمنا من ناحية بتمييز نشاط مضادات الأكسدة بالطرق القياسية، ونش جذور DPPH و ABTS، والحد من الحديد (FRAP) و Phenanthroline). من ناحية أخرى، قمنا باختبار النشاط المضاد لمرض السكر عن طريق تثبيط ألفا أميليز والنشاط المضاد للزهايمر عن طريق تثبيط أستيل كولينستراز، من قد إنهينا عملنا بدراسة نشاط اليوريزاز. أظهرت نتائجنا مستويات معتبرة من إجمالي البوليفينول والفلافونويد، خاصة بالنسبة للمستخلص الكحولي من نبات I.S. فيما يتعلق بنشاط مضادات الأكسدة، أظهرت النتائج أنشطة مهمة لمستخلصات النباتين المختبرين، لا سيما المستخلصات الكحولية التي يمكن مقارنتها بمراجع BHA و BHT في طرق تثبيط جذور DPPH و ABTS. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المستخلصات المدروسة أنشطة متغيرة في طرق FRAP و Phenanthroline. و في الوقت نفسه، أظهر النشاط التثبيطي للإنزيمات أن مستخلصاتنا ليس لها قوة تثبيط إنزيمي إلا في حالة إنزيم اليوريزاز الذي يعطي تثبيطاً بنسبة 50% لمستخلصين من نبات Del.G.F مقارنة بمستخلصات نبات S.I المستخلص الذي يظهر أقصى تثبيط بنسبة 22%. نتائجا تبرر الاستخدام التقليدي للنبات المدروس في الجزائر، وتعزز التأثير البيولوجي والدوائي للمستخلصات. كما أنها تفتح وجهات نظر متعددة في المستقبل القريب ستسمح لنا بلا شك بإثراء الوزن العلمي لهذا العمل.

الكلمات المفتاحية: I.S (astéracée), F.G.Del (Zygophyllaceae)، مضادات الاكسدة، النشاط الانزيمي.

Introduction générale

Introduction générale :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs composés actifs basé sur les produits polyphénoliques. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires [1].

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques : alcaloïdes, huiles essentielles, flavones, tanins,... et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux [2]. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire [3]. Malgré l'utilisation croissante des plantes médicinales à travers le monde, il reste encore beaucoup de chose à comprendre sur les mécanismes de biosynthèse et de leurs vertus thérapeutiques [4].

L'Algérie par son emplacement géographique particulier et ces qualités climatiques très variées, présente une végétation riche et diverse. On compte plus de 3000 espèces de plantes, dont 15% endémiques, appartenant à plusieurs familles botaniques [5].

Dans ce contexte, se présente ce travail de recherche dont le but principal est la valorisation de la richesse de l'Algérie en plantes médicinales et plus précisément la région de Chebka Wilaya de Ghardaïa qui reste à ce jour une région vierge qui nécessite des études approfondies en terme ethnobotanique ainsi que phytochimique, pour cela notre étude englobe deux aspects dont le premier est d'ordre phytochimique, le second aspect est consacré à une évaluation des activités antioxydants et enzymatiques des extraits de deux plantes de la famille *Astéracées* (*I.s*) et la famille *Zygophyllaceae* (*F.g.Dell*).

Notre étude est divisée en deux parties, la première partie est composée en deux chapitres ; le premier est consacré aux rappels sur la photothérapie et la plante, une étude bibliographique qui rassemble des données bibliographiques concernant la description botanique du matériel végétal étudié ; le deuxième présentera un rappel sur les métabolites secondaires.

Introduction générale

Une seconde partie comporte l'étude expérimentale, et subdivisée en deux chapitres :

Le premier a groupé les matériels et les méthodes utilisés dans l'extraction, les tests phytochimiques et un rappel sur les protocoles utilisés dans le dosage et les activités biologiques. Le deuxième on va présenter nos résultats et leurs discussions. En terminant notre travail par une conclusion et les perspectives éventuelles à court, à moyen et à long terme et ce afin d'optimiser notre étude phytochimique approfondie qui sera opérée sur les espèces précitées.

chapitre I: la plante et la phytothérapie

I – 1. Les plantes médicinales :

L'art de guérir par les plantes est connu et pratiqué en monde et en particulier en Afrique depuis bien longtemps. Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances actives qui pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des drogues utiles [06]. Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses; dans le monde environ 35000 espèces des plantes sont employées à des fins médicinales, Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents [07, 08,09].

I – 1 – 1. Le pouvoir des plantes :

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Depuis le XVIIIe siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent, on considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. Cette Encyclopédie ne fait pas exception, elle détaille précisément les principaux éléments actifs contenus dans les plantes médicinales et explique la nature de leurs actions.

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point des médicaments essentiels. À titre d'exemple la tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant, est dérivée du *curare* et la morphine l'analgésique le plus puissant, est tirée du *pavot à opium*. D'autres anesthésiants proviennent des plantes : la cocaïne, par exemple, est tirée du *coca* [10].

I – 2. Définition de phytothérapie :

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen des plantes, des parties des plantes ou des préparations à base des plantes [11], qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe. Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine [12]. Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux

actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments [13].

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques, ces plantes sont appelées "plantes médicinales"[14].

I – 2 – 1. Développement de la phytothérapie :

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Portant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé [10].

I – 2 – 2. Différent types de phytothérapie :

On distingue deux types de phytothérapies :

✓ La phytothérapie traditionnelle :

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques [15].

✓ La phytothérapie clinique :

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Dans ce type les indications sont liées à une thérapeutique de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies.

I – 2 – 3. Les avantages et l'efficacité de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières Années, les hommes n'ont pas eux que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies Bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite [16].

I – 3. La Flore d'Algérie :

L'Algérie est réputée pour sa diversité et ses espèces. Depuis la publication de la flore d'Algérie par Quezel et Santa en 1962, aucun autre inventaire floristique n'a été entrepris au niveau national. Il est important de mentionner que depuis la mise en place des grandes lignes de la stratégie nationale de l'utilisation durable des ressources biologiques, les 13 U.C.D (unité de conservation et de développement) qui avaient pour mission de faire l'inventaire et le suivi de celles-ci, se retrouvent confrontées à de multiples problèmes notamment les aspects sécuritaires. La situation géographique de l'Algérie, chevauchant entre deux empires floraux : Holarctis et Paleotropis, lui confère une flore très diversifiée décrivant 3139 espèces végétales dans la Flore d'Algérie [17].

Parmi ces espèces, 551 sont protégées par la loi Décret exécutif [18].

Vu l'étendu et la variabilité édapho climatique, les différents écosystèmes se différencient à travers le territoire selon un gradient climatique et de continentalité dans le sens horizontale et verticale (étages de végétations). On rencontre :

- **Les écosystèmes forestiers.**

- **Les écosystèmes steppiques :** Les steppes algériennes situées entre l'Atlas tellien au nord et l'Atlas Saharien au sud couvrent une superficie globale de 20 millions d'hectares et formant deux grands ensembles :

- Les steppes occidentales, constituées des hautes plaines sud oranaises et sud algéroises dont l'altitude décroît du Djebel M'zi à l'ouest (1200m) à la dépression du Hodna au centre.

- Les steppes orientales à l'est du Hodna formées par les hautes plaines sud constantinoises bordées par les massifs des Aurès et Nemenchas [18].

- **Les écosystèmes sahariens :** La flore du Sahara réunit des éléments phytogéographiques d'origine différente. Elle comprend donc un élément saharo-arabique largement prédominant (avec plus de 40% de la flore) dans le nord et le centre, et un élément Soudano-deccanien de plus en plus important vers le sud. A ces deux éléments s'ajoutent des pénétrations méditerranéennes dans le Sahara septentrional et des pénétrations tropicales dans le Sahara méridional [18].

I – 4. Aspect botanique :

I-4.1. Matériel végétal- :

Le choix du matériel végétal n'est en aucun cas fait d'une manière aléatoire même si l'objectif est préalablement fixé. En plus du facteur disponibilité, des recherches bibliographiques approfondies liées à ce dit matériel doivent être faites avant d'entamer quoique ce soit afin de garantir au moins une certaine originalité du travail et ce quel que soit les résultats qui seront obtenus. Un autre point très important qu'il faut toujours vérifier tout au début et qui consiste à s'assurer que le végétal choisi contient bien les produits qu'on se propose d'étudier. Ce dernier point consiste à faire des screening permettant d'évaluer et d'apprécier à sa juste valeur où à la limite d'une manière plus ou moins approximative le contenu de la plante aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif. La période et le lieu des récoltes doivent aussi être bien choisis car rien que pour la période, il faut effectuer les récoltes au moment de la floraison et elle se situe pour ce qui nous concerne généralement entre les mois d'Avril à Juillet selon le lieu de la station de récolte.

I.4.2.Rappel botanique

La systématique botanique d'une plante est pour le phytochimiste et pour tout chercheur dans le domaine des substances naturelles la carte d'identité de la plante à étudier donc primordial. Sans cette dernière, il est inconcevable voire même impossible d'entamer un quelconque travail de recherche où la matière de départ est un végétal. Ainsi, pour l'espèce

que nous nous proposons d'étudier, le classement suivant est proposé en prenant compte des remarques établies jusqu'à ce jour par les spécialistes en la matière.

I.4.3. Systématique botanique :

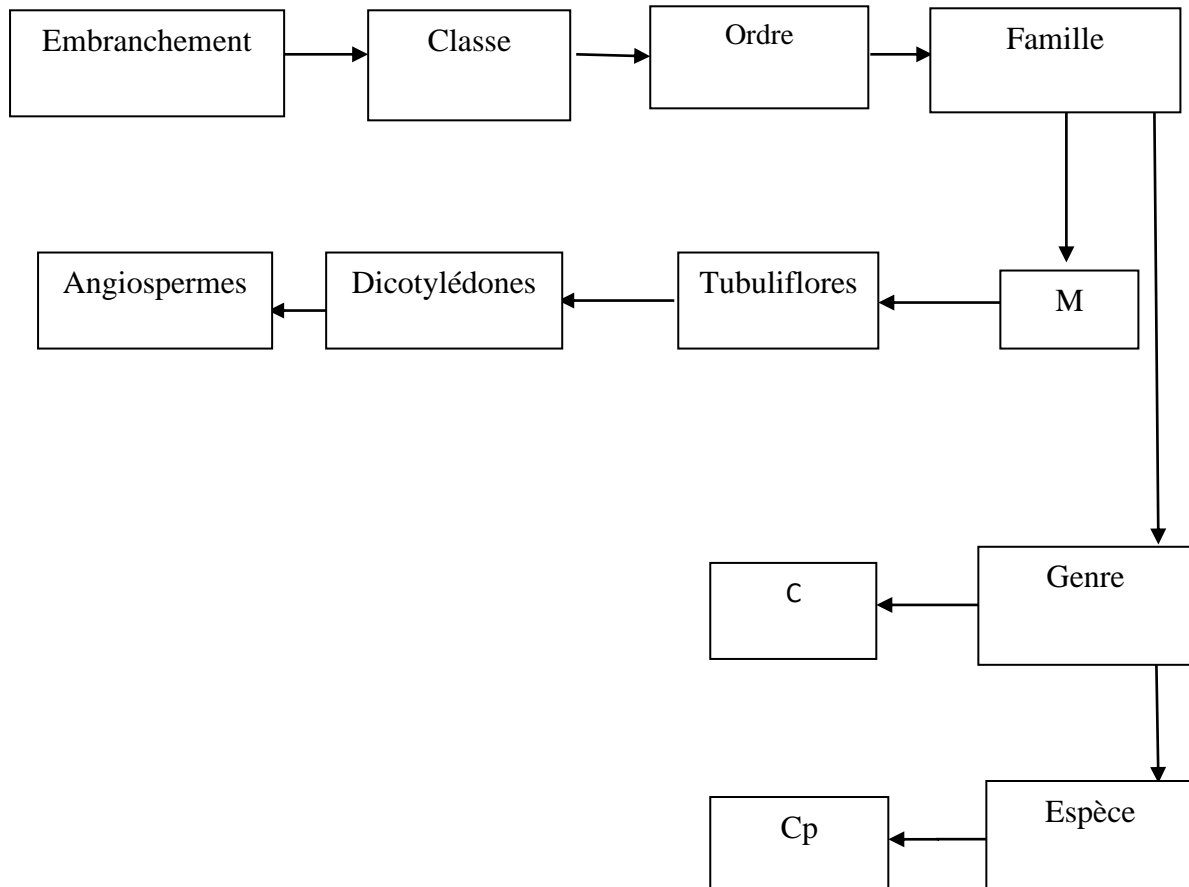


Figure 01 : Schéma de systématique botanique de plante.

I-5. Famille des Zygophyllaceae :

I-5-1 Généralités :

Les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes, arbustes, ou arbres, elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes. Les fleurs de 4 à 5 mères, isolées ou inflorescences, la corolle, est également de 4 à 5 mères, et parfois nulle. Généralement, ces plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, à un ou plusieurs ovules par loge. Ses fruits, sont en général, capsulés, loculicides, ou septicides, se dissociant en coques, parfois bacciformes, ou drupacés [17].

I-5-2 Position systématique des Zygophyllaceae :

Les zygophyllacées, dans la classification de Sheahan et Chase, constituent une famille avec environ 285 espèces, qui se subdivisent en cinq sous-familles et 27 genres. Elles sont largement distribuées dans les régions arides, semi-arides, les terrains salés, et les pâturages désertiques [19]. Les Zygophylloideae, constituent la sous famille la plus large avec 180 espèces, regroupées en quatre genres : Auega (monotypique), Tetraena (monotypique), Fagonia (30 espèces), et Zygophyllum (150 espèces), de coté de quatre autres sous-familles : Larreoideae, Morkillioideae, Seetzenioideae et Tribuloideae [20].

I-5-3 Description botanique :

Les Zygophyllaceae sont une famille hétérogène des plantes arbustives, arborescentes ou herbacées vivaces, parfois annuelles, elles sont largement distribuées dans les régions arides et semi-arides et dans les régions tropicales et subtropicales [21]. Les feuilles sont généralement simples, composées (2, 3 ou multi-foliole) ou pennatiséquées, elles sont opposées, parfois alternes ou opposées au-dessous et alternes au-dessus, avec ou sans pétioles. Leur forme est linéaire, oblongue, lancéolée, elliptique, cylindrique, ovale ou obovale. Leur apex est aigu, obtus, retusé ou mucroné. Les fleurs sont toujours bisexuées, actinomorphes ou zygomorphes. Elles sont terminales ou axillaires, solitaires ou regroupées en racèmes ou en cymes. Les 4 ou 5 sépales, valvaires ou imbriqués, sont lancéolés, oblongue, ovale ou obovale, avec un apex aigu ou obtus, et une surface glabre ou velu. Les pétales sont généralement 4 ou 5, valvaires ou imbriqués. Ils sont blancs, crèmes, jaunes, roses, mauves ou violets. Leur forme est oblongue, spatulée ou spatulée avec longues griffes, et leur apex est apiculé ou obtus. On trouve 4-5 étamines jusqu'à 3 fois le plus grand nombre de pétales, avec ou sans appendices. L'ovaire est ordinairement supère, loculaire, carpelles soudées, parfois reposant sur un disque nectarifère. Le fruit est une capsule, un schizocrape ou une drupe, tanné ou fragile, avec ou sans ailes. Il est obovale, obconique, oblong, ellipsoïde, sphérique, sous sphérique, pyramidal ou sous forme de disque. Les semences sont ellipsoïdes, oblongues, obovoïde, ovoïde ou plat, lisses, tuberculeuses ou crustacées [21].

I-5-4 Intérêt biologique de la famille Zygophyllaceae :

Beaucoup d'espèces de cette famille ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisés en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance thérapeutique :

Balanites aegyptiaca : c'est une plante riche en saponines [22], elle a plusieurs activités : Anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-nociceptives [23], antifongiques [24], antiseptiques, anti-malaria, anti-syphilitiques et antivirales [25], traditionnellement, ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement de la jaunisse et le diabète [26].

Larrea divaricata : c'est une plante populaire en médecine, elle est utilisée dans le traitement des tumeurs : des maladies inflammatoires, des rhumatismes et de la fièvre [27].

Larrea tridentata : c'est une plante désertique [28], elle est largement utilisée dans la thérapeutique, ses extraits peuvent soigner l'acné et les psoriasis et en même temps ont des effets cicatrisants, antifongiques et antiviral [29], elle a aussi des activités analgésiques, anti-inflammatoires et anti-oxydantes [30].

Peganum harmala : ses extraits sont utilisés dans le traitement, de diabète et l'hypertension artérielle [31].

Zygophyllum eichwaldii : cette espèce a des propriétés nombreuses, antiseptiques, anti-eczéma, antidiabétiques, antibactériennes et antifongiques [32].

Zygophyllum coccineum : c'est une plante commune en médecine traditionnelle dans les pays méditerranéens, elle est utilisée contre le rhumatisme, la goutte et l'hypertension [33], et le diabète [34].

Zygophyllum gaetulum : très connue avec ses propriétés antidiabétiques [35], elle est également antispasmodique, anti-eczéma et un bon remède pour l'estomac [36]. *Zygophyllum album* : ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement des diarrhées [37] et des diabètes [38]. Ils sont carminatifs, antiseptiques, et stimulants [39].

Zygophyllum geslini : cette espèce est utilisée contre le diabète [40], elle a également des activités cytotoxiques [41].

I-5-5. Le genre *F.g.d.*:

Figure 02 : Le genre *F.G.Del* [50].

Description : Plante pérenne, rampante, rameuse. Les tiges atteignent 10 à 15 cm de long. Feuilles petites, trifoliolées, portant des stipules très courtes et peu visibles. Les feuilles et les rameaux velus et glanduleux agglutinent plus ou moins le sable. Fleurs petites, de couleur rose violacé, s'ouvrant en étoile et donnant par la suite de petites capsules.

Nom scientifique : *F.g.d.*

L'aire de répartition et habitat : Commun dans tout le Sahara,

Période de végétation : Floraison en avril-mai.

Utilisation :

Intérêt pastoral : C'est une plante broutée par les dromadaires, surtout lors de la fructification [42].

I-5-5-1. Taxonomie systématique :

Règne : plantae.

Sous règne : Tracheobionta.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Rosidae.

Ordre : Sapindales.

Famille : Zygophyllaceae.

Sous famille : Zygophylloideae.

Genre : *F.*

I-6. Famille des Astéracées :

I-6-1 Généralités :

Le mot « **Aster** » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. La famille des Astéracées est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres [43]. Le sol algérien compte environ 109 genres et plus de 408 espèces [44]. Les Astéracées connaissent une distribution géographique mondiale, à l'exception de l'Antarctique. Elles s'acclimatent bien aux régions tropicales et subtropicales semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elles sont, en revanche, peu présentes dans la forêt tropicale. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes [45].

I-6-2 Position systématique des Astéracées :

L'occurrence systématique de cette immense famille est subdivisée en cinq sous-familles principales :

- Les Branadesioidées et Mutisoidées sont des arbustes ou des plantes herbacées poussant principalement en Amérique du Sud. Il s'agit de formes archaïques d'astéracées, dont les fleurs sont à corolle zygomorphe bilabée 1/4 (Barnadésioidées) ou bilabée 2/3 (Mutisoidées), cette dernière comprenant le Gerbera, plante sud-africaine cultivée pour ses beaux capitules en forme de marguerite [46].
- Les Carduoides possèdent des fleurs typiquement roses, bleues ou pourpres, toutes en tube, comme celles du capitule du Bleuet. Les Chardons, les Cirses et beaucoup d'Astéracées épineuses méditerranéennes se trouvent dans cette sous-famille.

- Les Cichorioidées correspondent à des Astéracées à latex, dont le nom est évoqué dans les espèces comme Lactuca, Laitue, Laiteron. Les capitules ne portent que des fleurs ligulées terminées par 5 dents, formant une languette typiquement jaune, parfois bleue.
- Les Astéroïdées, avec 16000 espèces, forment l'essentiel des Astéracées. Ce groupe diversifié caractérisé par ses capitules «radiés», comportant au centre, des fleurs tubulées généralement jaunes et à la périphérie des fleurs ligulées terminées par 3 dents, blanches comme chez la marguerite. Dans ce groupe on inclut aussi des espèces ayant perdu secondairement leurs fleurs ligulées comme les Armoises. Les Astéroïdes sont-elles mêmes divisées en nombreuses tribus dont les plus importantes sont : les Anthémidées, les Astérées, les sénécionées et les Hélianthées [46].

I-6-3 Description botanique :

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules c'est –à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige ou entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre [47].

La fleur des Asteraceae est très particulière : les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des "brosses à pollen". Ceci est adapté à un mode de pollinisation «à piston».

La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut considérer qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété. L'inflorescence est ordinairement un compact de fleurs sessiles tubulées et/ou ligulées sous-tendu par un involucre de bractées disposées sur un à plusieurs rangs.

Les bractées peuvent être herbacées, scarieuses ou épineuses. Sur le réceptacle, les bractéoles, si elles sont présentes, peuvent prendre la forme d'écailles, de soies ou de paillettes. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre.

I-6-4 Intérêt biologique de la famille Asteraceae :

La famille des Asteraceae contient plus de dix mille espèces, la grande majorité des espèces étant comestibles, elle fournit des plantes alimentaires : La laitue est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol.

De nombreuses autres espèces ont une utilisation ornementale, telle que la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster. Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : l'Arnica (*Arnica montana L.*), la camomille (*Matricaria chamomilla L. et Anthemis nobilis L.*), le pied de chat (*Antenaria Djioca Gartn*), le tussilage (*Tussilago farfara L.*). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide et aussi *Chrysanthemum cinerariaefolium (L.)* : est une plante herbacée originaire des balkans, cette espèce donne des fleurs qui contiennent des pyréthrine non toxique pour les animaux à sang chaud, mais très toxique pour ceux à sang froid. Le guayule (*Parthenium argentatum*), seconde source de caoutchouc naturel, exploité au début du siècle et en période de crise (1940-1945), pourrait reprendre une place économique importante.

I-6-5. Le genre *I.s*:

Figure 03 : Le genre *I.S* (F) [50].

Description :

Herbacée annuelle de petite taille de 5 à 15 cm de haut. Elles forment des touffes de couleur vert grisâtre due aux poils qui la recouvrent. Tiges centrales dressées émettant dès leur base des rameaux couchés puis redressés, entourés de nombreuses petites feuilles étroites et de capitules jaunes minuscules.

Nom scientifique : *I.s.*

Habitat : Elles apparaissent justes après les pluies, çà et là sur les sols pierreux des dépressions et des lits d'oued.

Répartition : Commune dans tout le Sahara.

Période de végétation : Floraison en avril - mai.

Utilisation :

Pharmacopée : Ecrasée, elle est utilisée pour le traitement des lésions cutanées.

Intérêt pastoral : Elle est broutée par les dromadaires [48].

I-6-5-1. Taxonomie systématique :

Règne : Plantae.

Sous-règne : viridaeplantae.

Division : Angiosperme.

Classe : Equisetopsida.

Sous-classe : Magnoliidae.

Super-ordre : Asteranae.

Ordre : Asterales.

Famille : Asteraceae.

Sous-famille : Asteroideae.

Genre : *I.s.*

I-7. Caractéristique de la région d'étude :**I-7-1. Le Sahara :**

Le Sahara, qui est le plus grand des déserts, est caractérisée par des conditions édapho - climatiques très contraignantes à la survie spontanée des êtres vivants. Néanmoins, cet écosystème reste un milieu vivant pourvu d'un couvert végétal particulier, adapté aux conditions désertiques les plus rudes, caractérisées par de fortes chaleurs et des pluviométries faibles et qui constitue les différents parcours camelins sahariens [49].

Le Sahara s'étend à travers le tiers septentrional du continent africain de l'atlantique à la mer rouge, sur une surface totale de 8 millions de Km² [51]. C'est là où les conditions climatiques atteignent leur plus grande sévérité [52]. Pratiquement, ces limites se situent en deçà des isohyètes 100 à 150mm [53].

Le Sahara est subdivisé en ; Sahara septentrional, méridional, central et occidental [54].

Le Sahara septentrional, avec 1 million de km², est soumise à un extrême du climat méditerranéen, où les pluies surviennent toujours en hiver. Il se présente comme une zone de transition entre les steppes méditerranéennes nord africaines et le Sahara central. La pluviosité à laquelle il est soumis est comprise entre 50 et 100 mm [51].

La flore du Sahara septentrional est relativement homogène, et les pénétrations méditerranéennes font de cette zone l'une des régions les plus riches du Sahara. L'endémisme y est élevé du fait des vastes espaces impropres à la vie, pour le Sahara septentrional, on dénombre 162 espèces endémiques [55].

I-7-3. Des écosystèmes arides :

Les milieux arides sont des milieux fragiles, où les populations animales et végétales sont susceptibles de variations brutales, en extension et en nombre. Le rythme de développement des populations animales et végétales en milieu désertique est aléatoire, étroitement dépendant des précipitations.

Les zones arides, semi-arides et subhumides non irriguées sont, en général, peu riches en espèces, mais abritent de nombreuses espèces indigènes, animales, végétales et microbiennes, ayant élaboré des stratégies particulières pour s'adapter aux conditions environnementales extrêmes [56].

Elles couvrent 29,8% de la superficie terrestre totale de la planète et la moitié de cette surface est exploitée sous forme de pâturages ou de zones agricoles [57].

I-7-4. Description générale de La région de Ghardaïa :

I-7-4-1 Situation géographique :

La Wilaya de Ghardaïa est limitée au Nord par la wilaya de Laghouat (200 Km), au Nord Est par la wilaya de Djelfa (300 Km), à l'Est par la wilaya d'Ouargla (200 Km). Au Sud par la Wilaya de Tamanrasset (1.470 Km) .Au Sud- Ouest par la Wilaya d'Adrar (800 Km). À l'Ouest par la Wilaya D'el-Bayadh (350 Km). La wilaya de Ghardaïa s'étend sur une superficie de 86560 km², occupée par une population estimée à 387880 habitants répartie sur 13 communes. Elle est caractérisée par des plaines dans le continental terminal, des régions ensablées, la Chebka et l'ensemble de la région centrale et s'étend du Nord au Sud sur environ 450 km et d'Est en Ouest sur environ 200km (**figures 03**). Les Escarpements rocheux et les oasis déterminent le paysage dans lequel sont localisées les villes de la pentapole du M'Zab et autour duquel gravitent d'autres oasis (Berriane, Guerrara, Zelfana, Metlili et beaucoup plus éloignée au Sud El-Menia). C'est dans le creux de l'Oued M'Zab, sur des pitons rocheux, que s'est érigée la pentapole. Chacune de ces cinq (05) cités est entourée par des collines ravinées par l'érosion pluviale.

La vallée du M'Zab atteint à hauteur de Ghardaïa, une altitude de 500 mètres, dans la partie centrale du Sahara septentrional aux portes du désert dont les altitudes varient de 330 à 450 m au Sud et au Sud Est et de 550 à 650 m au Nord et au Nord-Ouest [58]. La région du M'Zab est comprise entre 32° et 33° 20' latitude Nord et 0° 40' et 20° 30' longitude Est [58].

L'ensemble géomorphologique dans lequel s'inscrit le M'Zab est un plateau rocheux, la hamada, dont l'altitude varie entre 300 et 800 mètres. Dans cette zone, le couvert végétal est pauvre et la structure et la nature du sol ne sont pas favorables à l'existence d'une flore naturelle riche, la verdure est plutôt créée par l'homme. Cependant la région n'est pas dépourvue de végétation naturelle ; elle est rencontrée dans les lits d'oueds. Le paysage est caractérisé par une vaste étendue pierreuse où affleure une roche nue de couleur brune et noirâtre .L'ensemble se nomme la CHEBKA «Filet» à cause de l'enchevêtrement de ses vallées. L'Oued M'Zab traverse ce filet de 38.000 km² du Nord-Ouest vers le Sud-est.



Figure 04 : Carte de position géographique de la wilaya de Ghardaïa.

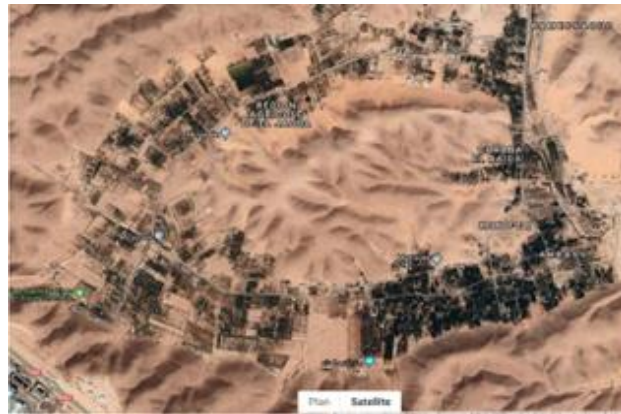


Figure 05 : Image satellitaire de la région d'étude.

Aspect climatique :

Le climat dans la zone d'étude est de type saharien qui se caractérise par de faibles pluies qui varient entre 70 mm au Nord et 30 mm au Sud suivis parfois par des crues de types torrentiels, qui sont dues à de fortes averses de pluie ou des orages violents sûrs de petits bassins versants représentant des reliefs accidentés, ces crues contribuent dans le lessivage de la nappe superficielle située dans les alluvions [59], les températures élevées peuvent dépasser les 45°C, en période d'été, l'hiver est généralement doux avec des températures moyennes variant de 8 à 12 °C. L'humidité relative de l'air est très faible et les vents sont relativement fréquents. Ils jouent un rôle important dans la formation des Ergs et des Regs [60], leur vitesse est importante d'avril à juillet, ce qui provoque pendant cette période le sirocco et/ou des vents de sable, responsables de la formation et des déplacements des dunes. L'évaporation varie entre 2,5 m dans les régions nord et plus de 3,5 m au sud de la zone d'étude [61].

I-7-4-2. Ressource hydrographique :

Les cours d'eau très nombreux sont en crue en moyenne une fois tous les deux ans, l'érosion a pu parfois être assez poussée pour que l'oued débouche sur la bordure orientale du Grand Erg Occidental. L'ensemble de ces oueds constitue le bassin versant de la dorsale du M'Zab ils drainent en grande partie les eaux de la dorsale de l'Ouest vers l'Est, leur écoulement sont sporadiques et se manifestent à la suite des averses orageuses que connaît la région. Nous serons très succinct quant à l'étude des oueds situés au Sud et à l'Est, qui ne font d'ailleurs pas partie, à proprement parler, du M' Zab. Ils sont groupés sous les noms d'Oueds du plateau des Daïas orientales et d'Oueds de la Chebka méridionale. Leurs vallées sont de moins en moins actives au fur et à mesure que l'on se dirige vers le Sud par suite de leur ennoyage plus accentué par les sables et de la diminution de la pluviosité. Les écoulements accidentels ne dépassent pas l'oasis de Metlili, point où sont notées les crues. Cependant, ils peuvent, exceptionnellement, atteindre le bouchon de dunes de l'Areg Rhanem. Il est possible, toutefois, que des écoulements exceptionnels se produisent dans la vallée inférieure, jusqu'à la Daïa Ghemta, à 198 km de l'origine. En suivant la pente générale du terrain les plus connus sont [62]: (Oued Zegrir, Oued N'ssa, Oued M'zab et Oued Metlili). En plus de ces oueds, il faut ajouter l'oued Rtem, parallèle à l'oued Ittel, à la limite nord de la dorsale mozabite. Les crues violentes de cet oued constituent une menace permanente pour la palmeraie de M'rara. Sur l'oued M'Zab, la totalité ou presque de l'eau est récupérée. De 1921 à 1950, la moitié des crues atteignant le premier barrage (Abbes Djdid) sont parvenues à Malika et seulement un quart ont franchi le barrage d'El Ateuf, plus en aval. En moyenne, on peut compter sur deux jours de crue par an et les débits peuvent atteindre $300 \text{ m}^3 / \text{s}$ pour de fortes crues. Une étude des crues de l'oued M' Zab [63] a estimé les débits de crue décennale et centennale à 205 et $722 \text{ m}^3 / \text{s}$.

I-7-4-3. Ressources en sol :

Les zones sahariennes sont constituées d'immenses étendues impropres à l'agriculture [64]. Le plus souvent, dans ces régions, on appelle sol agricole, des zones constituées de couches sédimentaires superficielles dont la fertilité et le pouvoir de rétention en éléments fertilisants et en eau sont faibles. Les horizons de surface sont le plus souvent recouverts d'apports sableux éoliens, ou sont très argileux, ou encore encroutés ou salés. L'Agriculture ne peut se faire sans apports fréquents d'éléments fertilisants et d'eau et on distingue [64]:

(Les Hamadas, Les Garas, Les Dayas, Les Glacis, Les Cônes d'éboulis, Glacis supérieure, Glacis du golf de Guerrara, Croutes, Gréso-calcaires, Croutes gypseuses).

I-7-4-4. Les gisements naturels :

Dans la région de Ghardaïa il a été constaté 06 gisements et 35 indices de substances utiles, quelques grandes entreprises d'intérêt local et national de matériaux gypseux, chaux magnésiennes, carreaux de revêtement et de l'agrégat, quelques fours à chaux et une série de petites carrières artisanales de graviers, sables, pierres de constructions et d'agrégat. Les roches carbonatées largement répandus sur le territoire en question se présentent comme source de matière première suffisante pour la production de la chaux, de pierres de construction. Un potentiel dolomitique, sableux et réserves d'argiles importantes [65]. D'autres activités portant notamment sur le négoce, l'artisanat des tapis, ainsi que des petites et moyennes industries (verres, textiles, agro-alimentaires, cosmétiques ...etc.). S'ajoute à cela le potentiel pétrolier et gazéifier, l'énergie solaire, éoliennes, géothermale et le patrimoine touristique.

chapitre II: les produits

poly phénoliques

Introduction :

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes phytochimiques, source de molécules biologiquement actives [14].

II. Classification des composés poly phénoliques :**Définition des polyphénols :**

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal.

Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines [66].

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants [67]. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tannins [66].

Comme la majorité des composés secondaires, les polyphénols sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant :

- ✓ Défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes.
- ✓ Dissuasion alimentaire. On parle du phénomène d'allélopathie : certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes.
- ✓ Attraction des pollinisateurs : les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes.

Exemple : certaines orchidées synthétisent des phéromones sexuelles qui sont des substances volatiles émises par les insectes femelles pour attirer les mâles.

- ✓ Protections contre les rayonnements UV.
- ✓ Molécules qui donnent des arômes et parfums aux plantes. Ce qui sert principalement à repousser les herbivores. Exemple : les polyphénols des pélagoniums [68].

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure en cinq groupes principaux et parmi ces groupes on distingue :

II – 1. Les acides phénols :

Les acides phénols, ou acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides [69]. Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables (Figure1).

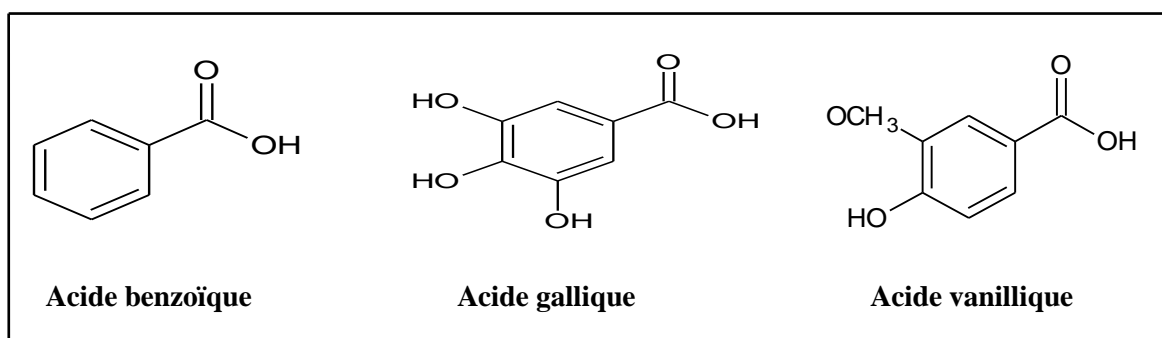


Figure 01 : Exemple de quelques acides phénols de la série benzoïque [93].

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapinique [69,93]; dont certains sont représentés dans la figure 2.

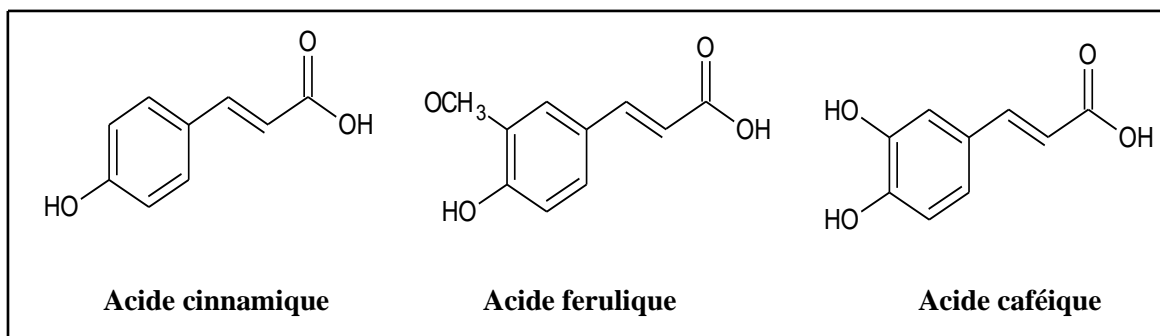


Figure 02 : Exemple de quelques acides phénols de la série cinnamique [93].

II – 2. Les anthocyanes :

Les anthocyanes ou pigments anthocyaniques sont des groupes de pigments polyphénoliques hydrosolubles responsables de la coloration rose à violette de la plupart des fleurs et fruits.

De structure dérivée du cation 2-phénylbenzopyrylium, synonyme flavylium, existent sous forme d'hétérosides (anthocyanosides) et de génines (anthocyanidols) et se rattachent au groupe des flavonoïdes au sens large.

Propriétés classiquement revendiquées de piégeage de radicaux libres et de protection capillaro-veineuse « propriétés vitaminiques P ».

Les principales plantes à anthocyanosides sont : myrtille, canneberge, cassis, sureau noir, vigne rouge. Leur couleur fait qu'ils sont utilisés comme des colorants alimentaires : Colorants E163 qui est extraits de plantes comestibles comme la vigne rouge.

La figure suivante (03) présente un cation flavylium (squelette de base de tous les anthocyanes) [70].

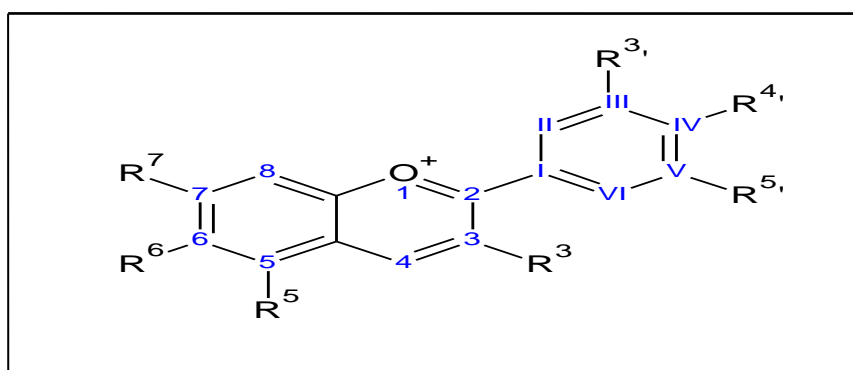


Figure 03 : Cation flavylium (squelette de base de tous les anthocyanes).

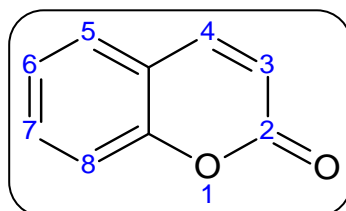
II – 3. Les coumarines :

Certaines familles d'angiospermes élaborent des structures très variées : Fabacées, Astéracées et surtout les Apiacées et les Rutacées chez lesquelles sont rencontrées les molécules les plus complexes.

La littérature décrit un nombre important de coumarines et les plus simples d'entre elles sont largement réparties dans le règne végétal [71].

Définition :

Les coumarines sont des composés phénoliques ayant un squelette de base en C₆-C₃, généralement hydroxylés en position 7, en 6, 7 et en 6, 7, 8.



Les coumarines sont des composés aromatiques dérivant de l'acide O-hydroxy-Z-cinnamique, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide ortho-coumarique [72].

La figure 4 représente les principaux composés des coumarines.

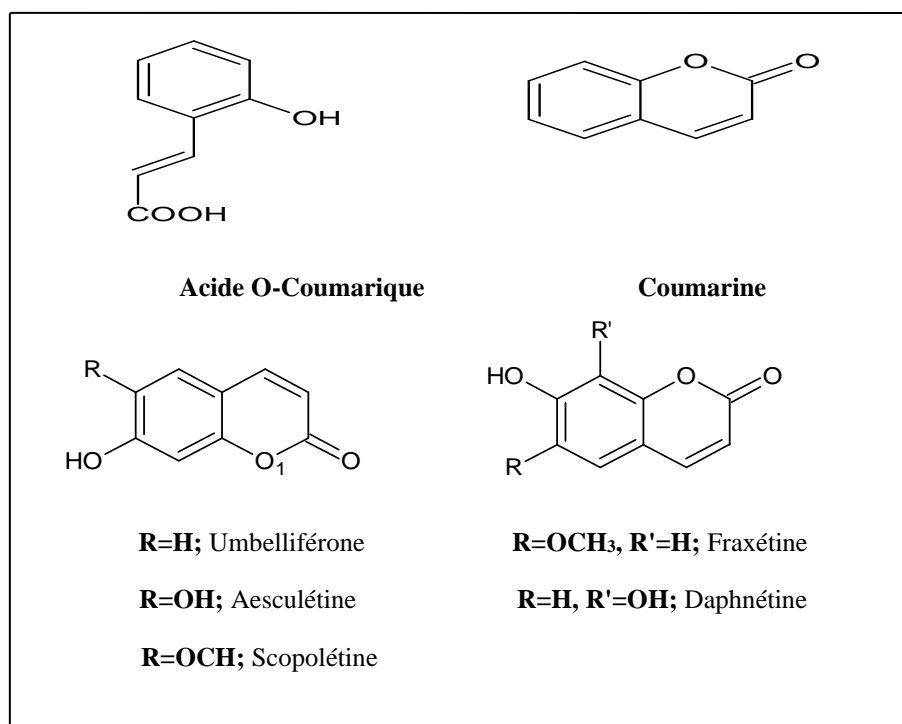


Figure 04 : Les principaux composés des coumarines.

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycle benzopyrane, telles que l'activité antifongique, anti-tumorale, anti-agrégation plaquettaire, inhibitrice de plusieurs enzymes, antivirale, anti-inflammatoire, anticoagulantes, diurétiques et analgésique. La coumarine elle-même a fait l'objet de plusieurs études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés : elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique [73].

Les coumarines possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques, étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine proprement dite) ; c'est pourquoi on les rattache souvent aux polyphénols. On les divise en :

- ✓ Coumarines simples.
- ✓ Coumarines complexes où un noyau furanne ou pyrane est associé au noyau benzoapyrone.

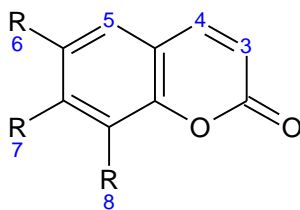
La coumarine est le point de départ d'une famille de composés, qui se forment par une substitution sur un cycle aromatique [74]. De ce fait et d'après la nature des substitutions [75] on peut classer les coumarines en cinq catégories :

Coumarines simples, Coumarines phényles, Furano-coumarines, Pyrano-coumarines, di-coumarines (coumarines dimériques).

II – 3 – 1. Les coumarines simples :

Ce sont les coumarines les plus répandues dans le règne végétal. Plusieurs d'entre elles possèdent des substituants OH (O-Glc) et/ou OCH₃ en 6 en 7 et /ou en 8 [76].

Quelques exemples sont reportés dans **la figure (5)**.



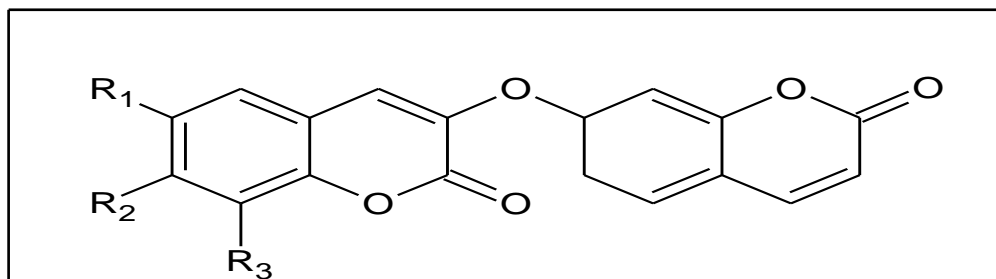
<u>Composé</u>	<u>R6</u>	<u>R7</u>	<u>R8</u>	<u>N0</u>
Daphnéline	H	OH	OH	<u>II-17</u>
Eriocide	OH	OH	O-Glu	<u>II-18</u>
Esculéline	OH	H	OH	<u>II-19</u>
Esculine	OH	H	OH	<u>II-20</u>
Fraxéline	OCH3	H	OH	<u>II-21</u>
Scopoléline	OCH3	H	OH	<u>II-22</u>
Umbélliférone	H	H	OH	<u>II-23</u>

Figure 05 : Structures chimiques de quelques coumarines simples.

II – 3 – 2. Les bicoumarines :

Dicoumarines (coumarines dimériques) :

Ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples.



Quelques molécules de ce type sont reportées dans la figure (06) [76].

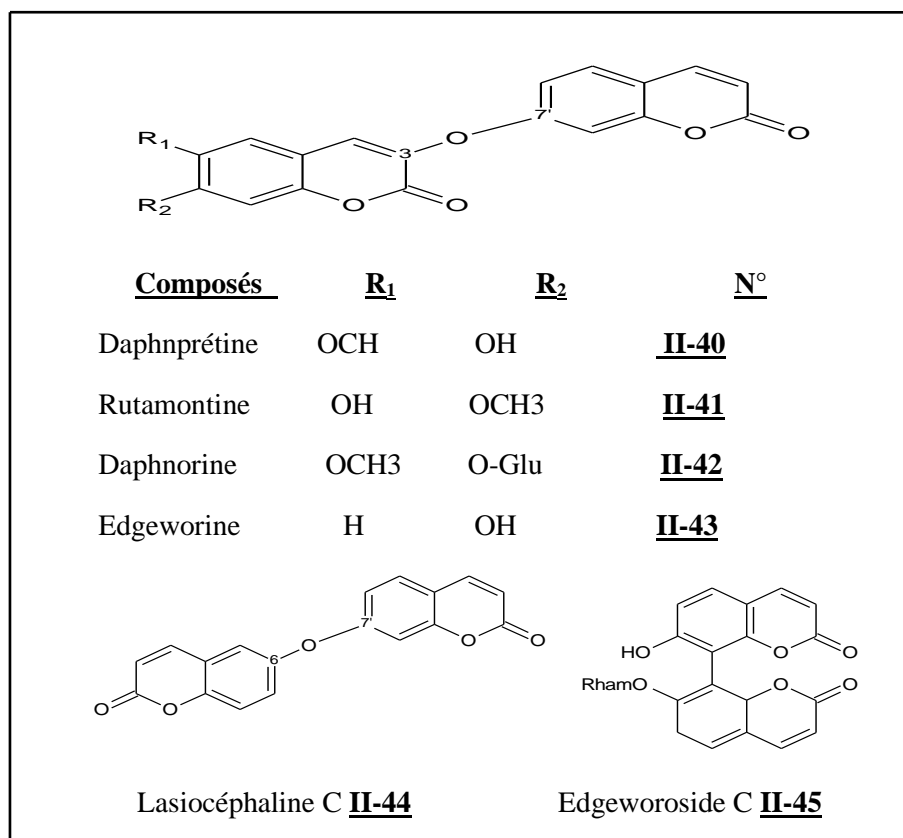


Figure 06 : Structures chimiques de quelques bicoumarines. **II – 3 – 3-Tricoumarine (coumarines trimériques) :**

Ce sont des coumarines issues de l'union de trois entités coumariniques.

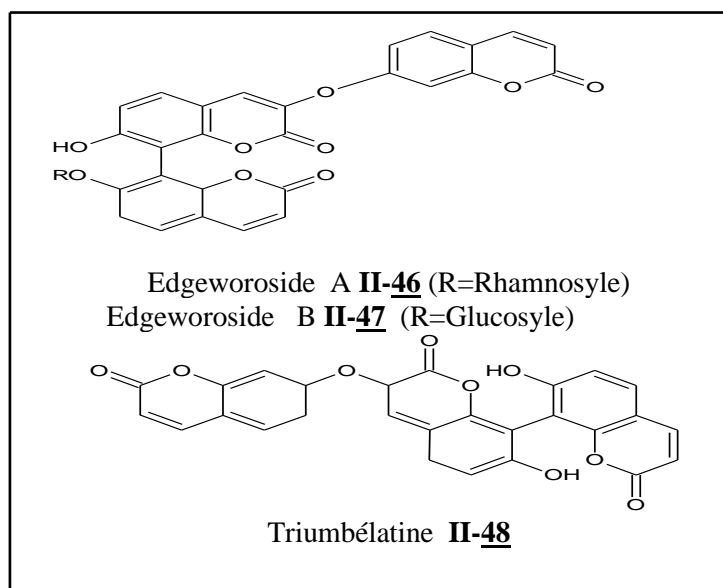


Figure 07 : Structures chimiques de quelques tricoumarines.

II – 4. Les tanins :

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [77]. Les tanins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [78]. On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

II – 4 – 1. Les tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallo-tannins soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagi-tannins (**Figure 08**) [79].

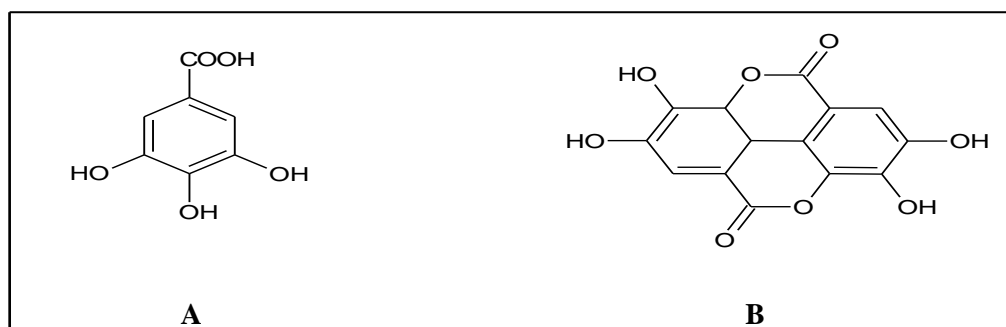


Figure 08 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B).

II – 4 – 2. Les tanins condensé sou tannins catechiques ou pro-anthocyani-dols :

Qui se différent fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les pro-anthocyani-dols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères [73].

II – 4 – 3. Effet antinutritionnel des tanins condensés :

L'effet antinutritionnel des tannins condensés se traduit de deux manières principales : leur capacité à inhiber les enzymes digestives et leur liaison aux molécules nutritives empêchant ainsi leur assimilation par le corps [80].

a) Inhibition des enzymes digestives :

Les tannins condensés sont capables de se lier aux enzymes digestives causant de ce fait leur inhibition. Plusieurs de ces polyphénols ont une action sur l' α -amylase [81], l' α -glucosidase, les protéases [82], la trypsine et les hémagglutinines [83].

L'inhibition de ces enzymes cause un trouble de l'activité du tube digestif et diminue la valeur nutritive des aliments ingérés qui ne pourront pas être assimilés.

b) Non assimilation des aliments :

Les tannins condensés ont une grande capacité à se lier aux différents types de molécules présents dans l'alimentation par des liaisons covalentes : polysaccharides (pectines, xyloglucon, amidon, celluloses), minéraux (fer, argent), vitamines ... etc [84]. Mais, les principales molécules qui se lient à ces composés polyphénoliques sont les protéines) [85].

Cette caractéristique a longuement été étudiée en utilisant différents composés protéiques et glucidiques. La BSA (Bovin Serum Albumin), le gluten, l' α -amylase et la β galactosidase sont les principales protéines utilisées, et l'amidon ainsi que la pectine les principaux polysaccharides [86].

Les liaisons entre les tannins et les molécules qui s'y attachent dépendent de plusieurs facteurs liés au milieu, à la structure des molécules combinantes (exemple : l'importance de la proline dans la structure des protéines), comme à la nature hydrophile ou hydrophobe et à la concentration des tannins impliqués [87].

Il a été démontré que la liaison des protéines aux tannins dans le rumen cause une diminution de la dégradation et de l'assimilation de ces protéines, ce qui cause une perte de la valeur nutritive des aliments et provoque une malnutrition. A long terme, la grande teneur en tannins de l'alimentation cause chez les ruminants une perturbation de la microflore du rumen et donc de son activité, une limitation de l'absorption du nitrogène, une diminution de l'ingestion et même une toxicité.

Chez certains animaux, la présence de microorganismes gastro-intestinaux ayant une capacité à dégrader les tannins condensés, par la production de la tannase, limite ces effets néfastes. C'est le cas de *Streptococcus gallolytians*, *Lonepinellakoalarum*, *Selemomonaruminantium* [88].

Les effets antinutritionnels ont été observés aussi chez les rats, les poussins et le bétail. En effet, des travaux antérieurs ont montré qu'une alimentation à teneur élevée en tannins condensés avait un effet négatif sur la digestibilité des protéines et des hydrates de carbone, et réduisait la croissance, l'efficacité de l'alimentation, l'énergie métabolisable et la disponibilité biologique des acides aminés [89].

II – 5. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [90].

Par définition, Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes [91], cette classe des molécules est retrouvée dans les fruits, les graines, les légumes, le thé ou encore le vin rouge et participe à la photosynthèse [93]. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes [94]. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes [92].

Leur structure chimique comprend 15 atomes de carbone de C6-C3-C6 constitué de deux noyaux aromatiques (A et B) reliés par un pont à 3 carbones (**Figure 09**) [93]. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. Leurs substituants (type, nombre et position) et leurs instaurations permettent de les différencier.

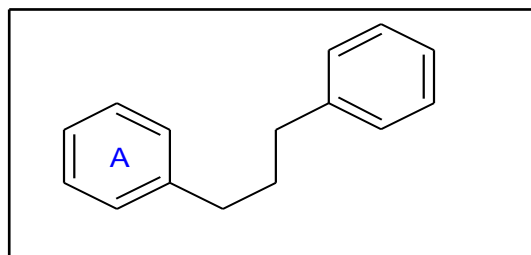


Figure 09 : Structure de base des flavonoïdes.

II – 5 – 1. Classification des flavonoïdes :

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

II – 5 – 1.1. Flavones et flavonols :

Le cycle A de ces deux types de molécules est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B est substitué en C4' ou di-substitué en C3' et C4' par des groupements OH ou méthoxyles (OCH₃).

Les flavonols se distinguent des flavones par un OH en C3 [95].

II – 5 – 1.2. Flavanones et hydroflavonols :

Se caractérisent par l'absence de la double liaison entre le C2 et le C3 et par la présence des centres d'asymétrie. Les variations structurales sont ici de même nature que celles décrites pour les flavones et les flavonols.

Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C3 [96].

II – 5 – 1.3. Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols :

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Cette position peut être libre (flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols).

Les anthocyanosides sont caractérisées par l'engagement de l'OH en C3 dans une liaison hétérosidique. On trouve parmi ces composés, le palargonidol-3,4-O-glucoside et le cyamidol-3-O-rutinose ou keracyanine [73].

Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tannins condensés [73].

II – 5 – 1.4. Chalcones et aures :

Les chalcones ont leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le 17 cycle A sont plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Les aures sont caractérisées par une structure de 2-benzylidène coumarone [96].

Néanmoins, selon d'autres auteurs [66], la classification des flavonoïdes inclue aussi le groupe des anthocyanes. Ceci en raison de la grande similitude structurale de ces derniers avec les flavonoïdes ; et plus précisément avec les anthocyanidols.

II – 5 – 2 .Biosynthèse ou biogénèse des flavonoïdes :

Comme ça a été précisé auparavant, les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone. Ce dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3, on parle alors de chalcones. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes [97].

La chalcone est métabolisée sous l'action de la chalcone isomérase en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavonesynthase ou la (2S)-flavanone3-hydroxylase pour donner les flavones : apigénine, dihydroflavonol et (2R-3R)-dihydrokaempférol respectivement.

Les deux enzymes citées fonctionnent différemment : la première introduit la double liaison entre les carbones 2 et 3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du C3. Le dihydroflavonol en présence de la flavonolsynthase ou la dihydroflavonol-4- reductase, se métabolise en flavonol, kaempférol ou en flavan-3,4-diol et leucoanthocyanidol respectivement [96].

Toutes les voies métaboliques intervenant dans la biosynthèse des flavonoïdes peuvent être simplifiées comme c'est schématisé dans **la figure 9**.

Les composés de chaque groupe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles...) sur les deux cycles aromatiques et la chaîne en C3 intermédiaire ou l'hétérocycle.

A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent souvent sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est dit : aglycone.

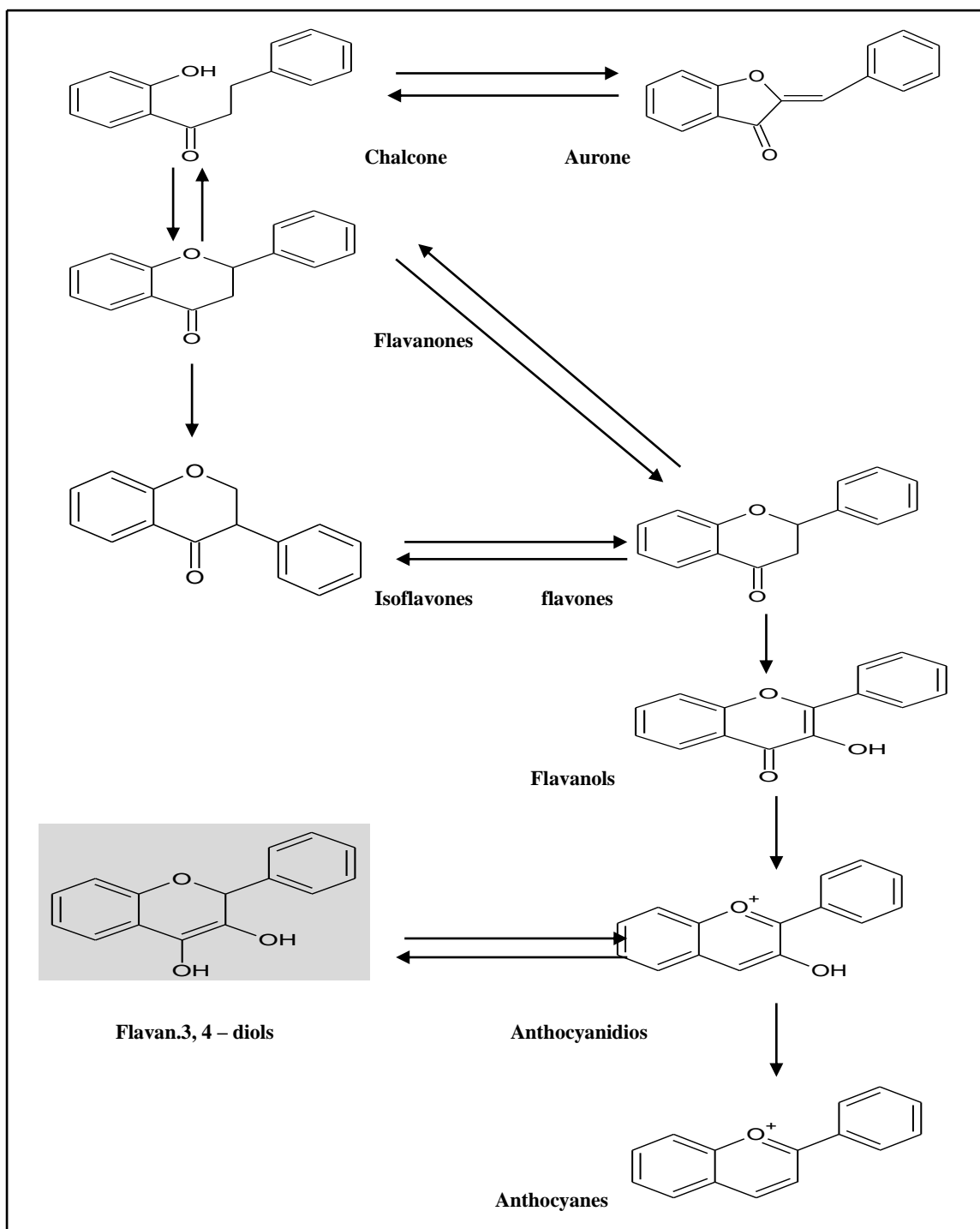


Figure 10 : Schéma simplifié de la biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes [95].

II – 5 – 3 .Intérêt thérapeutique des flavonoïdes :

Les intérêts thérapeutiques des flavonoïdes ont maintes fois été démontrés. Pour citer quelques exemples, nous pouvons dire que :

Des expériences menées sur des souris ont montré que la quercétine avait une activité anti-diarrhéique très importante. Le mécanisme de ces composés consistait à augmenter l'absorption des électrolytes et de l'eau par la muqueuse intestinale [98,99]. Aussi d'autres flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces [100]. De même les flavonoïdes ont déjà été utilisés pour le traitement des cataractes d'origine diabétique du fait qu'ils inhibent l'aldose réductase [101].

Mais pour confirmer et mettre le point sur les différentes activités biologiques des flavonoïdes qui nous ont d'ailleurs poussées à aborder ce travail, nous nous devons de présenter ce qui suit :

Activité des flavonoïdes contre le cancer

- **Ex : La quercétine** prévient la cancérogenèse, surtout le cancer de la peau et du colon. elle joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales.
- **La catéchine** : un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN [102].

Activité antimicrobienne des flavonoïdes

- Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN.
- la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes [103].

Activité antibactérienne des flavonoïdes

- les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : Staphylococcus aureus [104], Escherichia coli ... etc [103].
- **Ex** : l'apigénine n'a montré une faible activité que contre Staphylococcus aureus [100].

Rôle des flavonoïdes dans la protection des neurones

- Sont des agents protecteurs contre la dégénérescence des neurones.
- la lutéoline, un flavonoïde possédant diverses activités et notamment des effets anti-inflammatoires, sur la diminution du captage de la dopamine et la perte de neurones dans les cultures mésoencéphaliques gliales [111].

Rôle des flavonoïdes dans la protection oculaire

- Le stress oxydant induit par les rayons ultraviolets (UV) joue un rôle important dans la progression de la cataracte.
- la fisétine, ont été examinés pour leur effet protecteur contre le stress oxydant induit par les UV dans des cellules épithéliales de la lentille (SRA01/04) [112].

Activité antifongiques des flavonoïdes

- L'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones sur *Penicillium digitatum*. La naringinine, l'héspéridine, la nobilétine, la simensetine et la tangerétine servent à protéger ces dernières contre les attaques de *Penicillium digitatum* [105].
- Ces molécules avaient une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses.

Activité antivirale des flavonoïdes

- Ont une activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, le virus de l'herpes (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (A/WS/33) [106].
- Ces polyphénols agissaient comme inhibiteurs de la transcriptase et/ou la transcriptase reverse de l'agent viral et de l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte ; bloquant ainsi tout le processus infectieux, les flavonoïdes inhibaient plus exactement la synthèse de l'ARNm viral [106].
- les flavonoïdes n'intervenaient pas dans l'absorption des agents viraux, mais plutôt à un stade plus avancé impliqué dans la réplication virale.

Activité des flavonoïdes contre la cardiotoxicité

- un rôle préventif contre la cardiotoxicité, leur inhibition de la peroxydation lipidique et leur capacité à prévenir différentes atteintes hématologiques [107].
- Les flavonoïdes ont une capacité à capturer et désactiver les radicaux libres.

Activité cardioprotectrice des flavonoïdes

- Effet protecteur sur la santé cardiovasculaire en modifiant plusieurs processus pathologiques qui interviennent dans l'apparition des maladies cardiovasculaires.
- Ex : Régulation des réponses inflammatoires et immunitaires au niveau de la paroi des vaisseaux sanguins qui peut être anormale en cas de maladie cardiovasculaire [108].

Intérêt des flavonoïdes contre l'obésité

- Certains flavonoïdes sont supposés apporter un intérêt dans le métabolisme lipidique en diminuant la lipidémie.
- L'effet de quelques flavanones (la naringénine, la naringine, l'héspéridine et l'héspéridine) sur la conversion des préadipocytes en adipocytes, sur une lignée cellulaire AML-I a été étudié [109].

Intérêt des flavonoïdes contre les inflammations

- Les mastocytes sont des cellules qui participent aux réactions allergiques et à l'inflammation en sécrétant des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et des cytokines pro-inflammatoires.
- l'astragaline, la fisétine, le kaempferol, la myricétine, la quercétine et la rutine, sur les réactions inflammatoires allergiques induites par les mastocytes a permis de constater que toutes ces molécules, hormis l'astragaline, inhibaient la sécrétion de l'histamine. Les cinq flavonoïdes actifs ont également inhibé la hausse du taux de calcium intracellulaire [110].

Autres propriétés des flavonoïdes :

- Protection des plantes contre les radiations UV.
- Sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales.
- Agissent comme des pigments ou des co-pigments.
- Modulation de la distribution d'auxine.
- Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire.
- Régulation de l'élongation des tiges.
- Interviennent dans la maturité des fruits.
- Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores [113].

II-6. Les Saponines :**II-6-1. Définition :**

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal [114].

Le nom des saponines est dérivé du nom Latin « *Sapo* » qui signifie savon à cause de leurs propriétés qui produisent une mousse stable quand on agite en solution aqueuse. Ce sont des molécules très larges caractérisées par une haute masse moléculaire. Elles sont constituées par l'assemblage d'une partie aglycone hydrophobe et une partie hydrophile reliée par une liaison glycosidique. Ces hétérosides résultent du métabolisme secondaire chez plusieurs espèces des végétaux et s'accumulent dans toutes les parties des plantes comme les racines, tiges, feuilles, fruits et même dans les fleurs [115]. Des chercheurs ont constaté que les jeunes plants ont une forte teneur en saponines que les plantes matures ou vieilles. Cependant, des facteurs déterminants comme les états physiologiques et les conditions environnementales influencent la teneur en saponines des plantes [116].

II-6-2. Constitution chimique et structurel :

L'hydrolyse d'une saponine, par l'action d'un acide ou d'enzyme, produit un sucre ou plusieurs (dont souvent le glucose) et un aglycone nommé sapogénine selon que cette dernière étant, soit un triterpène, soit un stéroïde. On distingue les saponines triterpènes et les saponines stéroïdiques, certains auteurs distinguent une troisième catégorie de saponines ;

Celles des amines stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques.

II-6-3. Propriétés pharmacologiques des saponines :

Les saponines ont une propriété caractéristique : celle d'hémolyser les globules rouges, (érythrocytes), c'est-à-dire de libérer leur hémoglobine, ce qui explique l'effet toxique de certaines d'entre elles, qui les rend inconsommables.

- Les saponines irritent les muqueuses, causent un relâchement intestinal, augmentent les sécrétions muqueuses bronchiales (sont expectorantes).

- Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires [117].

II.7. les alcaloïdes :**II-7-1. Définition :**

Les alcaloïdes représentent le groupe de substances naturelles d'intérêt thérapeutique le plus important, en terme de nombre, de diversité structurale et de leurs activités pharmacologiques. Ils sont au cœur des phénomènes d'adaptation et de défense face aux pressions biotiques (herbivore microorganisme) [118].

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXème. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), Hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose [73].

A forte dose ce sont des composés toxiques et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels. D'un point de vue biosynthétique, il existe une multitude de sous-familles d'alcaloïdes, qui ont été classées en fonction de leurs origines biosynthétiques et de la nature des hétérocycles azotés [93].

II-7-2. Classification des alcaloïdes :**II-7-2.1. Classement des alcaloïdes d'après leurs origines biosynthétiques:**

D'après leurs origines biosynthétiques, on distingue :

- ✓ **Les alcaloïdes « vrais » :** qui possèdent un azote intra-cycle, ce sont des substances d'origine naturelle et de distribution restreinte, de structure souvent complexe et de

Caractère basique. Ils existent dans la plante sous forme de sels, ont pour origine biosynthétique un acide aminé et sont dotées d'une activité pharmacologique significative.

- ✓ **Les proto-alcaloïdes** : proviennent d'acides aminés dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (L-phénylalanine, acides aminés aliphatiques).
- ✓ **Les pseudo-alcaloïdes** : qui sont des métabolites présentant les caractéristiques des alcaloïdes vrais, excepté leur origine biosynthétique. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes et du métabolisme de l'acétate (dérivés xanthiques, terpéniques, stéroïdiens, pipéridiniques) [119].

II-7-2.2. Classement des alcaloïdes d'après leur structure chimique:

Les alcaloïdes sont aussi catégorisés en fonction de leur structure chimique : Ainsi, on peut distinguer 12 principales classes d'alcaloïdes comme suit [93]:

Les alcaloïdes tropaniques ; Les alcaloïdes pyrrolizidiniques ; Les alcaloïdes quinolizidiniques ; Les alcaloïdes indolizidiniques ; Les alcaloïdes pipéridiniques ; Les alcaloïdes pyridiniques ; Les alcaloïdes isoquinoléiques ; Les alcaloïdes indoliques ; Les alcaloïdes quinoléiques ; Les alcaloïdes imidazoliques ; Les alcaloïdes terpéniques ; Les bases puriques.

Partie pratique

chapitre III: Matériels et méthodes

III.1. Préparation de matériel végétal :

Le matériel végétal choisi dans la présente étude est représenté par deux plantes : la plante *I.s* de la famille Asteraceae et la Plante *F.g.d* de la famille zygophyllaceae, ces deux plantes sont abondent à la région de Chebka wilaya de Ghardaia.

III.2. Récolte de matériel végétal :

Les deux espèces ont été récoltées manuellement en stade de floraisons au mois d'avril 2021 dans la région de Chebka wilaya de Ghardaïa. Les espèces ont été identifiées à base de littératures et des herbiers de la région. Le matériel végétal a été séché à l'abri dans une température ambiante (20-25°C) puis on broyé à l'aide d'un broyeur de laboratoire en continu MF10 afin de conserver la poudre à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.

III.1.1. Extraction solide-liquide :

Dans les processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction ; l'extraction se présente ainsi comme une interaction solide – liquide.

Cependant, le solvant, capable de « mettre en solution » un ou plusieurs composants solides, cristallisés ou liquides, dénommé soluté [120], génère une solution ou un extrait (solvant+soluté). Le transfert de ces molécules actives recherchées, vers le milieu extérieur a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre et la diffusion est quasi nulle. Par contre si la phase liquide est continuellement renouvelée, la diffusion se poursuit jusqu'à épuisement de la phase solide [121].

A la fin de l'opération, le solide épuisé, appelé résidu, inerte ou insoluble, contient très peu ou pas de soluté. En règle générale, c'est la solution qui constitue la phase noble, mais il se peut que ça soit le résidu solide insoluble qui présente la vraie valeur économique [122].

L'extraction est une opération ancienne utilisée pour retirer des plantes et de certains organes d'animaux, des produits alimentaires, pharmaceutiques ou odoriférants, sous formes de breuvages, drogues ou parfums. Les solvants utilisés dans ces procédés de séparation des produits végétaux sont généralement l'eau, les alcools, les solvants organiques et/ou chlorés, etc.

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes différentes consistant toutes à faire interagir le solvant sur le matériau solide afin de dissoudre ses composants solubles, parmi ces méthodes nous avons utilisé la macération et la décoction afin d'obtenir deux type d'extraits (extrait hydro-méthanoïque et extrait aqueux) :

1. Macération :**a) Principe :**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple, consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs sans ou avec agitation [123].

C'est une extraction qui se fait à température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles [124].

b) Mode opératoire :**• Préparation de l'extrait méthanoïque brut :**

Notre travail consiste à émerger 100 g de poudre de la plante *I.s* et 80 g de la plante *F.g.d* divisée en deux partie 40 g pour la partie fleur et 40 g pour le reste de la partie aérienne dans 700 ml de méthanol ajusté avec 300 ml d'eau (70%/30% dans 1000 ml) pendant 24 heure à température ambiante (on a fait trois macération successif) l'opération se refaire trois fois jusqu'à la disparition de la couleur de solvant. Ensuite la filtration est réalisée sur tulle.

Le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un Rotavapeur type Buchi R.200, à une température de 40 °C. L'extrait obtenu a été conservé à la température ambiante 25 °C jusqu'à l'utilisation.

2. Décoction :**a) Principe :**

La décoction est l'opération dans laquelle le solide est plongé dans le solvant liquide mis en ébullition. Il s'agit d'une opération brutale qui doit être réservée à l'extraction de principes actifs non thermolabiles. Elle est cependant très rapide et parfois indispensable [123]. On place le matériel végétal dans de l'eau froide que l'on porte à ébullition. Les espèces chimiques contenues solubles dans l'eau chaude sont alors extraites.

b) Mode opératoire :

La décoction est une méthode préconisée en médecine traditionnelle. Cette méthode d'extraction a été effectuée selon plusieurs protocoles, notre cas consiste à faire le protocole suivant :

- Peser 10 g de poudre de la plante *I.set* 15 g de poudre de la de la plante *F.g.d* divisée en deux partie 5 g pour la partie fleur et 10 g pour le reste de la partie aérienne.
- Ajouté un volume de 100-200 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement.
- Chauffer le mélange dans un bain-marie pendant 180 minutes dans une température de 80 °C.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante.
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1.
- Répéter la procédure trois fois.
- Les trois filtrats obtenus sont placés dans un seul récipient.

La figure 02 ci-dessous présente un organigramme d'extraction utilisée dans notre travail.

3. Condensation Rota-vapeur :

a) Principe :

Le principe du rotavapor est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le filtrat obtenu par la macération et la décoction ont été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur en fixant la température de l'évaporation, Cette dernière dépend de la température d'ébullition de chaque solvant. Cette opération a pour but d'éliminer les solvants extractifs utilisés.

Dans cet appareil représente dans **la figure 01**. On a réalisé une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide.



Figure 01 : Montage de l'évaporateur rotatif de laboratoire.

b) Mode opératoire :

Le protocole pour chaque plante est le suivant :

- Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation.
- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation.
- Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant.
- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau ; - Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude.
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant.
- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif.

Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau.

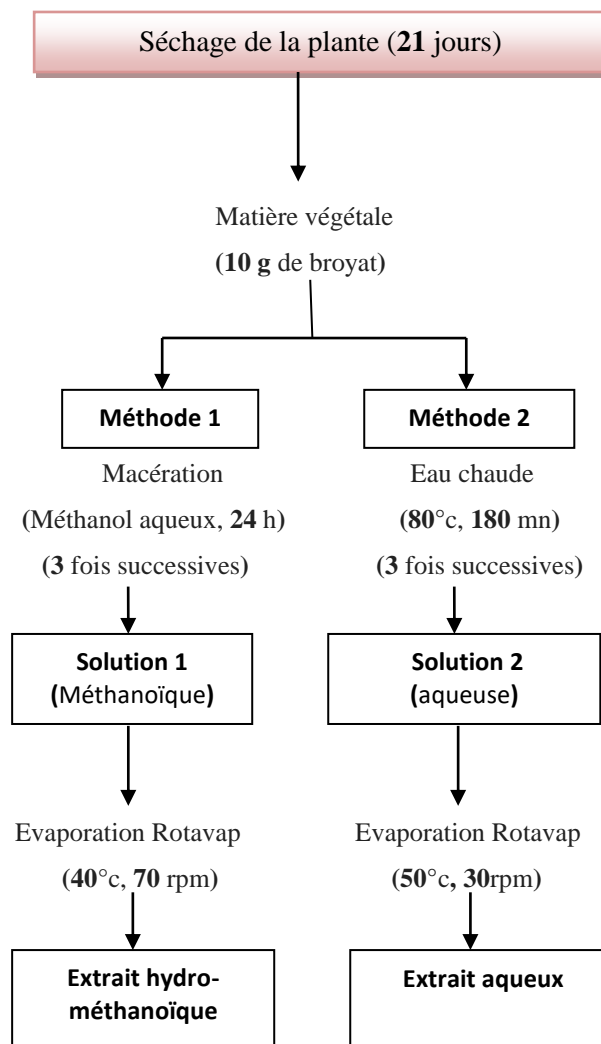


Figure 02 : Organigramme d'extraction et d'évaporation.

III.2. Screening phytochimique :

a) Principe :

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour avoir une idée sur le cocktail chimique des extraits [125].

b) Mode opératoire :

Le tableau 1 représente les tests phytochimiques et leur mode opératoire et coloration :

Métabolites secondaires.	Réactif utilisé	Mode opératoire	Coloration
Les polyphénols.	Chlorure de fer	2 ml d'extrait + quelque goutte de FeCl ₃ 5%	coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncé
Les flavonoïdes.	Shinoda (ou cyanidine)	Qq ml d'extrait + 5 ml d'HCL + 5 mg de Mg + 1 ou 2 min	Coloration rouge ou orange ou violette
Les coumarines.	Test de confirmation NH ₄ OH	1 ml d'extrait + NH ₄ OH 20%	Fluorescence sous UV
Les tanins.	Stiasny	1 ml d'extrait + 1 ml H ₂ O + Qq gouttes de FeCl ₃	Verdâtre ou bleue noirâtre

Tableau 1 : les tests phytochimiques et leur mode opératoire et coloration des plantes *Is* et *F.g.d.*

III.3. Analyse quantitative :

III.3.1 Dosage des polyphénols totaux :

Principe de la réaction :

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant 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, constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phospho-molybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

Instrument utilisés :

Un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire).

Réactifs utilisés :

- 1- Eau distillé, Méthanol.
- 2- FCR (Folin-Ciocalteu réactif).
- 3- Na₂CO₃ de 7,5% (Carbonate de sodium).
- 4- Acide Gallique.
- 5- Extrait de plante.

Mode opératoire :**1- Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% :**

Une masse de 7,5 gramme de Na₂CO₃ et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

2- Préparation de l'extrait de plante :

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

1- 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 :

20 µl d'extrait de plante + 100µl de FCR dilué (1:10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) + mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h + lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

Gamme d'étalonnage :

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissolvé dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S₁ (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des éppendorfs comme la suite :

25µg/ml → 25µl de S₁+ 175µl de MeOH.

50 µg /ml → 50µl de S₁+ 150µl de MeOH.

- 75µg/ml —————> 75µl de S1+ 125µl de MeOH.
100µg/ml —————> 100µl de S1+ 100µ de MeOH.
125µg /ml —————>125µl de S1+ 75µl de MeOH.
150µg /ml —————> 150µl de S1+ 50µl de MeOH.
175 µg /ml —————> 175µl de S1+ 25µl de MeOH.
200µg /ml —————> 200µl de S1 [126].

III.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux :

Principe de la réaction :

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

Instrument utilisés :

Un lecteur microplaque (Perkin Elmer, Enspire) est utilisé pour la mesure de l'absorbance.

Réactifs utilisés :

- 1- Méthanol.
- 2- Eau distillé.
- 3- 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$).
- 4- 1 M Potassium acétate (CH_3COOK).
- 5- Quercetin (Flavonoïde).
- 6- Extrait de plante.

Préparation des solutions:

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissolvé 9.80 g de (CH_3COOK) dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S₁.

Pour 10% nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

Préparation de l'extrait de plante :

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

Procédure :**A- Pour l'extrait :**

50 μ l (S₂) (extrait de plante) + 130 μ l (MeOH) + 10 μ l (S₁)(CH₃COOK) + 10 μ l (Al(NO₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μ l extrait + 150 μ l méthanol).

B- Pour l'étalon :**Préparation de la gamme d'étalon de la Quercetin :**

On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2mg/ml S_m.

Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Quercetin(25) \longrightarrow 25 μ l S_m+ 175 μ l MeOH.

Quercetin(50) \longrightarrow 50 μ l S_m+ 150 μ l MeOH.

Quercetin(75) \longrightarrow 75 μ l S_m + 125 μ MeOH.

Quercetin(100) \longrightarrow 100 μ l S_m+ 100 μ l MeOH.

Quercetin(125) \longrightarrow 125 μ l S_m + 75 μ l MeOH.

Quercetin(150) \longrightarrow 150 μ l S_m + 50 μ l MeOH.

Quercétine(175) \longrightarrow 175 μ l S_m + 25 μ l MeOH.

Quercetin(200) \longrightarrow 200 μ l S_m + 0 MeOH.

50 μ l de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 130 μ l (MeOH) + 10 μ l (S₁) (CH₃COOK) + 10 μ l (Al(NO₃)₂, 9H₂O) + attendre 40 mn + lecture à 415 nm [127].

III.4. Activité biologique :

Les plantes constituent une source précieuse des composés biologiquement actifs. Les criblages biologique et chimique sont des approches complémentaires pour la détection rapide des constituants végétaux. Les composés phénoliques comportent un large groupe de

métabolites secondaires qui peuvent être trouvés dans les plantes, comme les phénols simples, acides phénoliques, flavonoïdes, coumarines, tanins, etc.

Les polyphénols qui sont considérés comme l'un des plus importants phytoconstituants ayant des propriétés antioxydants et plusieurs applications industrielles ont gagné un intérêt particulier dans les dernières décennies.

III.4.1 Activité antioxydant :

Introduction :

L'oxygène (O₂) est le premier élément essentiel pour la vie, responsable du fonctionnement normal de tout le système aérobie. En même temps l'O₂ est responsable d'un nombre de processus d'oxydation suivi de mauvaises conséquences comme le stress oxydatif (oxydant).

Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels et à des dégâts cellulaires irréversibles.

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

Un antioxydant est une molécule qui possède une capacité à capter ou à piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant.

Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne.

Ils sont produits dans notre organisme sous l'action de radiations ionisantes, de rayons UV, ou au cours des réactions enzymatiques. Ce mécanisme peut mener à un désordre dans

les structures moléculaires, en oxydant les lipides membranaires, les protéines cellulaires, les acides nucléiques, provoquant ainsi la mort cellulaire avant d'être neutralisés.

L'activité antioxydants d'un composé correspond à sa capacité à neutralise l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxy - phénoliques dans leurs structures et les propriétés anti-oxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) et super-oxydes (O_2^{\bullet}).

L'évaluation de l'activité anti-oxydante a été largement adoptée avec différentes méthodes analytiques, telles que l'acide DPPH (acide 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle), ABTS^{•+} (acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique), ORAC (capacité d'absorption des radicaux oxygénés), tests de la capacité anti-oxydante cuivrique réductrice (CUPRAC).

1) Test de DPPH :

Le dosage au 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle est l'un des plus largement utilisés. Au cours de cet essai, le radical chromogène violet est réduit par les composés antioxydants / réducteurs (antioxydants donneurs d'hydrogène) en hydrazine jaune pâle correspondante et la réaction est contrôlée à 517 nm (voir **Figure 03**). La méthode DPPH offre des avantages par rapport aux tests classiques, elle est basée sur la rapidité, la sensibilité, la facilité et la faible consommation de réactifs [128].

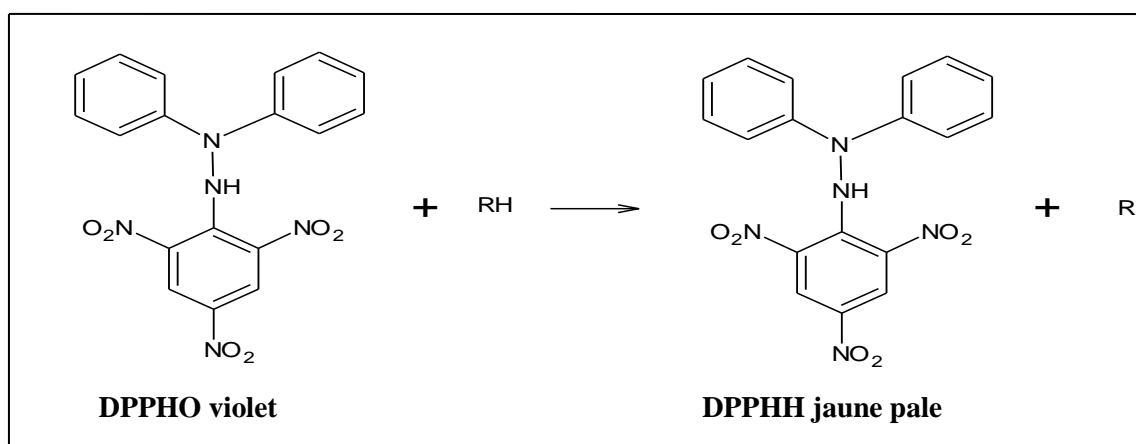
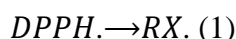


Figure 03 : Transformation du radical DPPH[•] en DPPHH.

La méthode DPPH peut être utilisée pour des échantillons solides ou liquides et elle n'est pas spécifique à un composant antioxydant particulier, mais s'applique à la capacité antioxydante globale de l'échantillon [129].

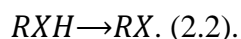
Ce type de test est recommandé pour les composés contenant des groupes SH, NH et OH. Deux mécanismes connus sont utilisés dans la littérature pour décrire les réactions antioxydants:

Le mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et le transfert d'électron unique suivi du mécanisme de transfert de proton (SET-PT). Le premier mécanisme peut être exprimé comme suit :



Où X est un atome de O, S, N ou C et Y est DPPH. La vitesse de réaction de l'antioxydant (RXH) avec le ROS dépend de la barrière d'énergie d'un transfert d'atome d'hydrogène.

Le deuxième mécanisme comprend trois étapes :



Principe de la réaction :

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois1958), le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

Instrument utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μ l pour chaque puits

Réactifs utilisés :

- 1- Ethanol.
- 2- DPPH.
- 3- α -tocopherol.
- 4- BHA.
- 5- BHT.
- 6- Quercetine ou Catéchine.
- 7- Extrait de plante.

Mode opératoire :**Préparation de la DPPH :**

Dissoudre 6 mg de DPPH 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.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.

Procédure :

160 µl (DPPH) + 40 µl (extrait) + lecture 517 [131].

2) Test d'ABTS (2,2'-azinobis-[3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]):

Dans la méthode TEAC (Troloxéquivalentantioxydantcapacity), l'activité anti-oxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical $\text{ABTS}^{+\cdot}$, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase met-myoglobine [132] ou horseradishperoxydase) [133] en présence de H_2O_2 ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse [134] ou persulfate de potassium [135]). Le radical $\text{ABTS}^{+\cdot}$, en contact avec un donneur de H^{\cdot} conduit à l' ABTS^+ et à la décoloration à 734 nm de la solution [136].

D'autres auteurs utilisent l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ou ABTS, à la place de son sel d'ammonium et analysent l'inhibition du radical ABTS, produit par un initiateur de radicaux thermolabiles, l'ABAP (2,2'-azobis-(2-amidinopropane)HCl) [137]. La cinétique de réaction de l'antioxydant étudié doit être examinée préalablement pour déterminer la fin de réaction. La capacité anti-oxydante en équivalent Trolox (TEAC)

correspond à la concentration (mm/l ou mg/l) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester, jus de fruit par exemple [132] (Figure 04).

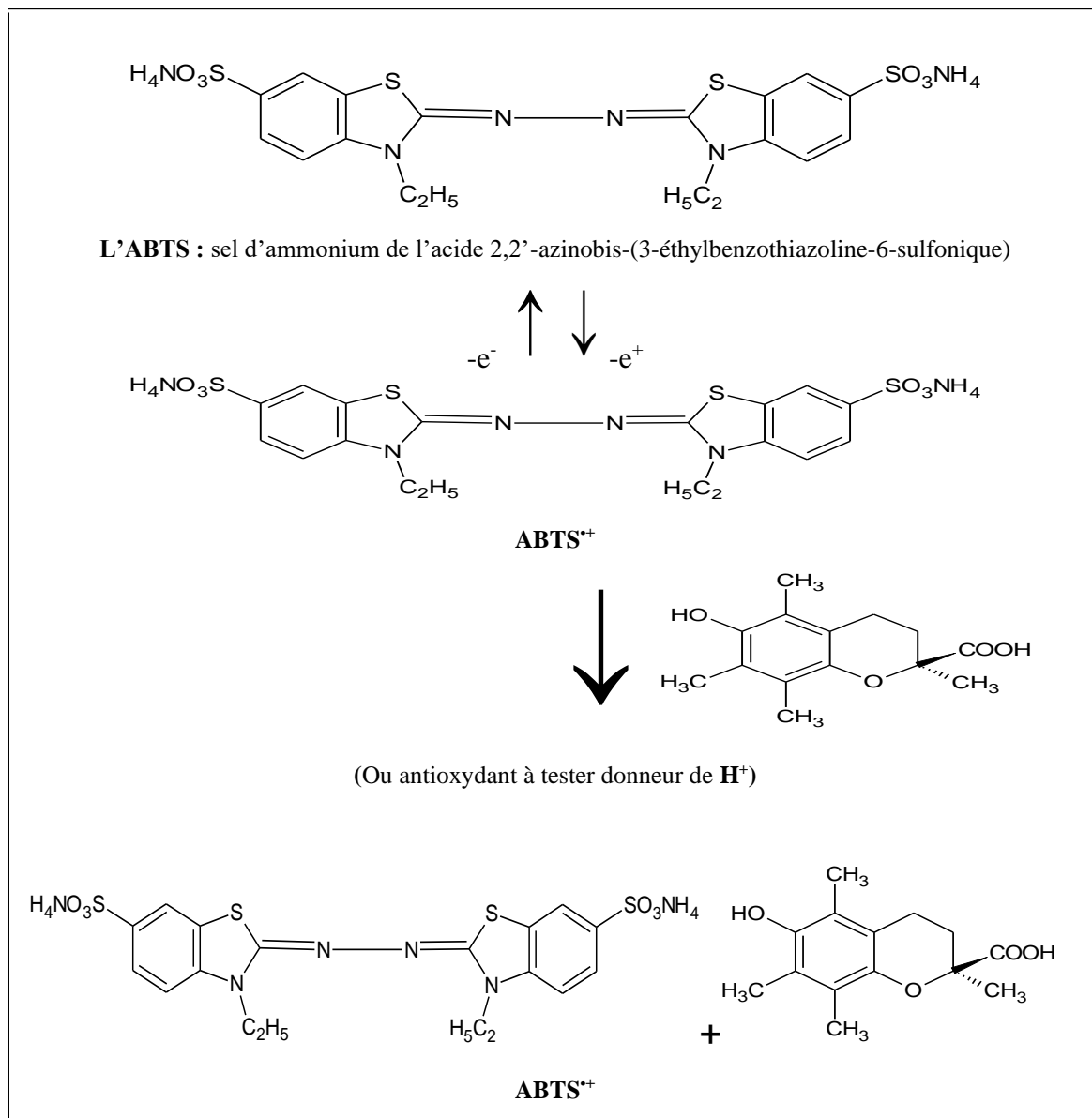


Figure 04 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H⁺

Principe de la réaction :

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et al. (1999).

Instrument utilisé :

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque.

Réactifs utilisés :

- 1- $K_2S_2O_8$.
- 2- ABTS.
- 3- Eau distillé.
- 4- Ethanol.
- 5- α -Tocophérol, BHA.

Procédure :

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

160 μ l ($ABTS^+$) + 40 μ l (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm [138].

La préparation d' $ABTS^+$ se fait comme suite :

($ABTS^+$) \rightarrow 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H_2O + 3,3 mg (2.45 mM) ($K_2S_2O_8$) +5 ml H_2O + attendre 16 heure à l'abri de la lumière.

Le pourcentage d'inhibition est calculé à la même équation de celle de DPPH.

3) Test de Reducing power (Frap) :

Le test FRAP (*FerricReducingAntioxidant Power*) est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur l'aptitude des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) en fer ferreux (Fe^{+2}) et la formation de ferrocyanure de potassium ($K_4[Fe(CN)_6]$) (**Figure 05**) [139].

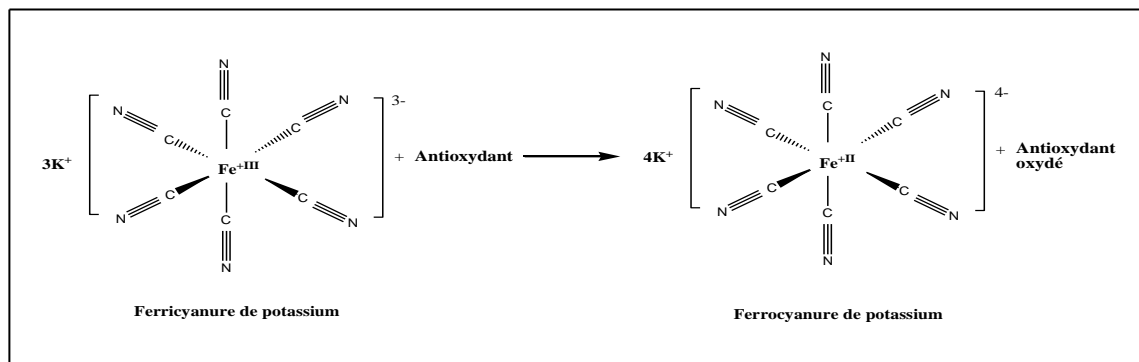


Figure 05 : Mécanisme réactionnel du test FRAP.

Ceci se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers une couleur bleue/verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant [140]. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance est directement reliée à l'augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Principe de la réaction :

L'activité reducing power est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986) avec une légère modification.

Instrument utilisés :

Lecteur microplaque.

Réactifs utilisés :

- 1- Trichloroaceticacid TCA.
- 2- Potassium Ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$.
- 3- $FeCl_3$
- 4- Tampon de Phosphate (pH =6.6)
- 5- Eau distillée.

Procédure :

10ul extrait + 40ul Tampon phosphate (pH=6.6) + 50ul potassium ferricyanide (1%) + incubation à 50°C pendant 20min + 50ul TCA (10%) + 40ul H_2O + 10ul chlorure ferrique (0.1%) + lecture à 700 nm. [143].

4) Test de phenoltroline :

Le complexe Fe(II)-phénantroline est largement appliqué dans la méthode spectrophotométrique classique pour la détermination du fer [141]. Cette technique est basée sur la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline rouge-orangé suite à une réaction d'oxydoréduction (Figure 06). Ce complexe est soluble à pH basique et peut être mesuré à une absorbance de 510 nm [142].

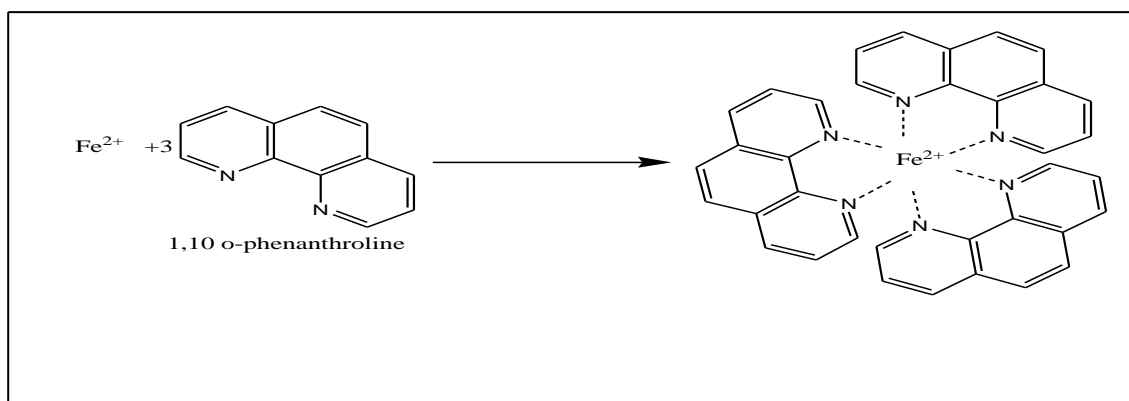


Figure 06 : Formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline.

Principe :

L'activité de phenanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka (2008).

Instrument utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μl pour chaque puits

Réactifs utilisés :

- 1- Phenanthroline.
- 2- Chlorure ferrique FeCl_3 .
- 3- MeOH, Eau distillée.
- 4- BHT.

Procédure :

10 μl extrait + 50 μl FeCl_3 (0.2%) + 30 μl Phenanthroline (0.5%) + 110 μl MeOH+ incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard [144].

III.4.2. Activité enzymatique :

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui jouent un rôle important dans les réactions biochimiques nécessaires pour la croissance, la maturation et la reproduction des êtres vivants. Leur quantification par mesure de l'activité catalytique dans les échantillons biologiques est importante dans divers domaines [145].

1) Test d'alpha-amylase :**Evaluation de l'activité antidiabétique :**

Les inhibiteurs antidiabétiques synthétiques actuellement utilisés causent des effets secondaires gastro-intestinaux tels que la diarrhée, la flatulence, le boursoufflage abdominal etc. Par conséquent, des inhibiteurs naturels d'alpha amylase peuvent être employés en thérapie pour le traitement de l'hyperglycémie postprandiale avec un minimum d'effets secondaires [146].

Inhibition de l'alpha amylase :

L' α -amylase est une enzyme digestive, produite par les glandes salivaires et les glandes pancréatiques, synthétisée également dans les fruits de plantes durant leur maturation. C'est l'un des endo-amylases les plus significatives qui hydrolyse les liaisons $\alpha(1-4)$ glycosidiques à l'intérieur des chaînes de l'amidon pour donner des molécules de maltose (disaccharides de α -glucose). Cette enzyme est principale pour l'absorption et la digestion de l'amidon et l'hydrate de carbone intégré dans la nourriture, ceci peut être une cible pour le traitement du diabète type 2.

L'Acarbose est un médicament bien connu, utilisé comme inhibiteur de l'enzyme α -amylase. Il retarde la digestion d'hydrate de carbone, et diminue le niveau postprandial de glucose plasmatique. Cependant, il possède des effets indésirables tels que la diarrhée, les hernies, l'ulcération...

Des inhibiteurs de l' α -amylase d'origine naturelle tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes sont suggérés comme une approche alternative pour la prévention et le traitement de la maladie du diabète type 2 avec sans ou peu de risque d'effets secondaires [147].

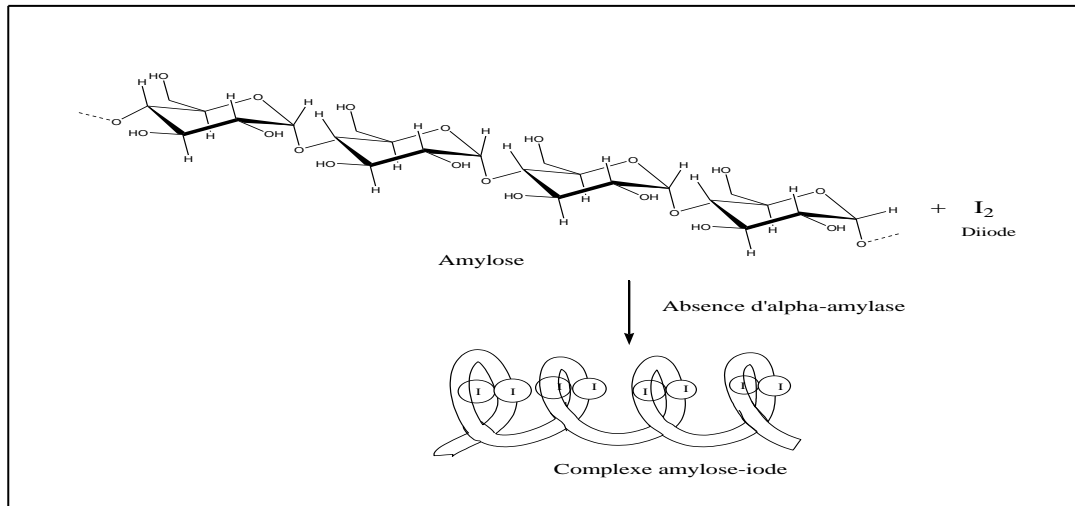


Figure 07 : Formation du complexe amylose-iodine en absence de l' α -amylase [148].

Principe :

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été déterminée par la méthode de **Zengin et al., (2014)** avec quelques modifications.

Instrument utilisé :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 250 μ l pour chaque puits.

Réactifs :

- 1-Enzyme α -amylase 1U.
- 2- Amidon 0.1% (mettre la solution dans la microonde à plusieurs cycles de 15 sec)
- 3- HCl 1M : Ajouter doucement à 45.83 ml d'eau, un volume de 4.17 ml d'HCL pure.
- 4- Solution IKI : -Dissoudre 3 gr de KI dans 100 ml d'eau ;
-Ajouter 127 mg d'iode (5mM), agiter jusqu'à dissolution complète.
- 6- Tampon phosphate (PH 6.9) avec 6mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon).

Procédure :

25 μ l extrait + 50 μ l (solution α amylase 1U) : incubation pendant 10 min à 37 °C + 50 μ l d'amidon 0.1% : incubation pendant 10 min à 37 °C + 25 μ l HCl (1M) + 100 μ l IKI + lecture à 630 nm.

Calcul de pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{Inhibition} = 1 - \left[\frac{(A_c - A_e) - (A_s - A_b)}{(A_c - A_e)} \right]$$

A_c=Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme].

A_e=Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+Vol de solvant d'extrait].

A_s=Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl].

A_b=Absorbance [Extrait+IKI+125µl de tampon] [149,150].

2) Test d'acétylcholine estérase :

{**ACH**} est un neurotransmetteur libéré dans l'espace inter-synaptique. Son taux est régulé par deux enzymes :

Elle est synthétisée à partir de la choline par la CHAT (choline acétyl transférase) et hydrolysée par l'ACHE (acétylcholine estérase une enzyme clé du système nerveux) localisée dans la membrane post-synaptique.

Dans la partie endommagée du cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer :

- On observe une perte importante de neurones cholinergique avec de faibles niveaux d'acétylcholine dans l'espace inter-synaptique. En effet, lors de la progression de la maladie d'Alzheimer l'activité de l'ACHE est cela devait entrainer une augmentation du taux ACH.

Principe :

La révélation de l'activité enzymatique est réalisée avec la méthode d'Ellman (1961), qui utilise un substrat artificiel, l'acétylthiocholine, dont l'hydrolyse conduit à la formation de Thiocholine. Cette dernière forme un dérivé coloré avec le DTNB (5,5'- dithiobis-[2 nitrobenzoate]).

Instrument utilisé :

L'inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits a été étudiée à l'aide du dosage sur microplaque ou un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml.

Préparation des solutions et des enzymes :**✓ Solution tampon:**

On mélange 8,890 g de (Na₂HPO₄, 2H₂O) avec 500 ml de H₂O (V1), pour la deuxième étape on ajoute 1,56 g de (NaH₂PO₄, 2H₂O) avec 100 ml de H₂O (V2), et la dernière étape c'est le mélange de la solution V1 et V2.

On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du pH.

• DTNB (5, 5, -Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution:

16 mg DTNB avec 1 ml (PH=7), puis 7,5mg NaHCO₃ avec 1 ml (PH=7) et 2 ml (PH=7), on ajoute 4 ml (PH=8): volume total 8 ml.

• ACÍ (Acétylthiocholineiodide) substrat Solution:

16 mg ACÍ avec 4 ml H₂O et on additionne 4 ml Tampon (PH =8).

✓ Préparation des enzymes:**- AChE Solution:**

0,2 mg de AChE avec 4 ml (PH=8) pour donner la solution A, on met 20 µl de la solution A dans 20 eppendorff et on prend un seul eppendorff qui contient 20 µl de la solution A et on ajoute 3 ml de PH = 8, puis le contrôle de l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5.

Procédure :

En bref, 150 µL de 100 mm sodium phosphate buffer (pH 8.0) sont ajoutés à 10 µL d'extrait, solution dissous dans le méthanol à différentes concentrations. On additionne 20 µL de la solution d'AChE (5.32 _ 10⁻³ U). L'ensemble est incubé à 250C pendant 15 mn ensuite on ajoute 10 µL de DTNB (0.5 mM) et 10 µL de l'acétylthiocholineiodide (0.71 mM). La lecture de l'absorbance se fait à 412 nm (pour 0 mn, 5 mn, 10 mn et 15 mn).

Le pourcentage d'inhibition de l'enzyme d'AChE est déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule $(E - S)/E * 100$.

E : l'activité de l'enzyme sans extrait / **S** : l'activité de l'enzyme avec l'extrait [151].

Le Galanthamine est utilisé comme référence.

3) Test uréase :

L'uréase est le plus utilisé des tests respiratoires, il permet en effet de détecter la présence de la bactérie *Helicobacter pylori* dans l'estomac.

Or les infections chroniques par cette bactérie sont à l'origine de la plupart des ulcères gastrique ou duodénaux.

H.pylori est la bactérie du tube digestif qui contient la quantité la plus importante d'une enzyme particulière :

L'uréase qui transforme l'urée en CO_2 et en eau :

- Une quantité définie d'urée marquée par composant traceur (le Carbone 13) est ingérée.

- Si la bactérie est présente, elle va dégrader l'urée et le carbone 13 sera détecté dans l'air expiré.

- Dans le cas contraire, le marqueur est éliminé dans les urines [152].

Instrument utilisés :

Un lecteur microplaque est utilisé pour la mesure de l'absorbance.

Préparation des solutions :**1- Phosphate tampon PH=8,2 :**

0,078g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 50 ml H_2O + 0,1780 g ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 100 ml H_2O .

2- Phénol reagent :

2 g Phenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) dans 25 ml H_2O + 25 mg $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 25 ml H_2O .

3- Basic reagent :

0,7125 g NaOH dans 25 ml H_2O + 1,175 ml NaOCL (Liq) dans 25 ml H_2O .

4- Urée substrat :

0,2553 g Uréa dans 25 ml tampon (PH=8,2).

5- Uréase enzyme :

1 mg enzyme dans 1ml tampon.

Procédure:

10 μ l extrait + 25 μ l Uréase enzyme + 50 μ l Urée substrat + 15 mn lecture + 45 μ l phenol reagent + 70 μ l basic reagent + attendre 50 mn + lecture a 630 nm.

Préparation de l'enzyme:

1mg d enzyme + 1ml solution tampon dans 20 ependorfs dans chaque ependorfs 50 μ l [153].

chapitre IV:

Résultats et discussion

I. Rendement d'extraction :

Les deux plantes précitées sont soumis à différents types d'extractions : macération (Méthanol/Eau, 70 :30) et décoction (eau 100% à 80°C pour 2 h) afin d'obtenir deux extraits bruts (hydro-méthanoïque et aqueux), le rendement de chaque extractions est donnée dans le tableau suivant :

	Extraits	Masse (g)	Rendement (%)
Hydro-méthanoïque	<i>I.s</i>	17.25g	17.25%
	<i>F.g.d</i> (Pa)	9.69g	24.225
	<i>F.g.d</i> (F)	7.46g	18.65
Aqueux	<i>I.s</i>	3.5g	35%
	<i>F.g.d</i> (Pa)	1.9g	19%
	<i>F.g.d</i> (F)	3.5g	58.33%

Tableau 01: Rendement d'extraction hydro méthanoïque et aqueux de la plante *I.s* et *F.g.d*

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé comparant avec celle de l'hydro-méthanoïque cela peut justifier par les petits quantités utilisées lors de la décoction (10g par rapport au 100 g dans la macération).

II. Criblage chimique (screening) :

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau de la plante *I.s* et la partie aérienne de *F.g.d* et les fleurs de la plante *F.g.d*, la détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont présentés dans tableau ci-dessous.

		Résultats					
Métabolites Secondaires	Réactif utilisé	<i>I.s</i> (aq)	<i>F.g.d</i> (Pa) (aq)	<i>F.g.d</i> (F) (Aq)	<i>I.s</i> (Hyd Me)	<i>F.g.d</i> (Pa) (Hyd Me)	<i>F.g.d</i> (F) (Hyd Me)
Les polyphénols	Chlorure de fer	+	++	+	+++	+++	+++
Les flavonoïdes	Shinoda (ou cyanidine)	+	+	+	++	++	++
Les coumarines	Test de confirmation NH ₄ OH	+	-	-	++	-	-
Les tanins	Stiasny	+	++	+	++	++	++

Tableau 02: Résultats de criblage phytochimique de l'extrait hydro méthanoïque et l'aqueux de *I.s* et *F.g.d*.

Les résultats sont interprétés comme suit:

(+) présence.

(++) Présence moyenne.

(+++) Présence fort.

(-) absence.

L'étude de criblage phytochimique de l'extrait hydro-méthanoïque et aqueux de *I.s* montre que cette plante contient: les tanins, les coumarines, les poly phénols, et les flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes et les tanins, les poly phénols et les coumarines est plus grande dans l'extrait hydro méthanoïque que dans l'aqueux.

Pour la 2^{ème} plante *F.g.d*, le screening montre que cette plante contient : les flavonoïdes, tanins, les poly phénols dans les deux parties (PA et F).

La teneur en tanins et poly phénols est plus grande dans la partie aérienne que dans les fleurs dans l'extrait aqueux.

Les flavonoïdes est présente dans les deux parties de la plante et dans les deux extraits mais avec des concentrations différentes.

Par contre pour les coumarines sont absents dans les deux parties de plante (*F.g.d* [PA] et *F.g.d* [F]).

La richesse de ces extraits en composés chimiques actifs pourrait expliquer leurs utilisations traditionnelles.

III. Dosage des poly-phénolique totaux et flavonoïdes :

III.1. Dosage des poly-phénolique :

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en μg équivalent d'acide gallique par μg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique.

Extraits	Hydro-méthanoïque ($\mu\text{g EAG/mg}$)	Aqueux ($\mu\text{g EAG/mg}$)
<i>I.s</i>	153.5098	63.0196
<i>F.g.d</i> (Pa)	40.96078	34.09804
<i>F.g.d</i> (F)	75.96078	75.0784

Tableau 03 : résultats du dosage des polyphénoles.

III.2. Dosage des flavonoïdes :

La détermination quantitative des flavonoïdes est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium, elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm. La quercétine a été utilisée comme étalon, les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage.

Extraits	Hydro-méthanoïque ($\mu\text{g EQ/mg}$)	Aqueux ($\mu\text{g EQ/mg}$)
<i>I.s</i>	136,7361111	2,430555556
<i>F.g.d</i> (Pa)	35,13888889	10,69444444
<i>F.g.d</i> (F)	41,875	19,72222222

Tableau 04 : résultats du dosage des flavonoïdes.



Figure 01 : Résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes sur microplaque.

Les résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes sont présentés dans les histogrammes illustrés dans les figures suivantes (2 et 3) :

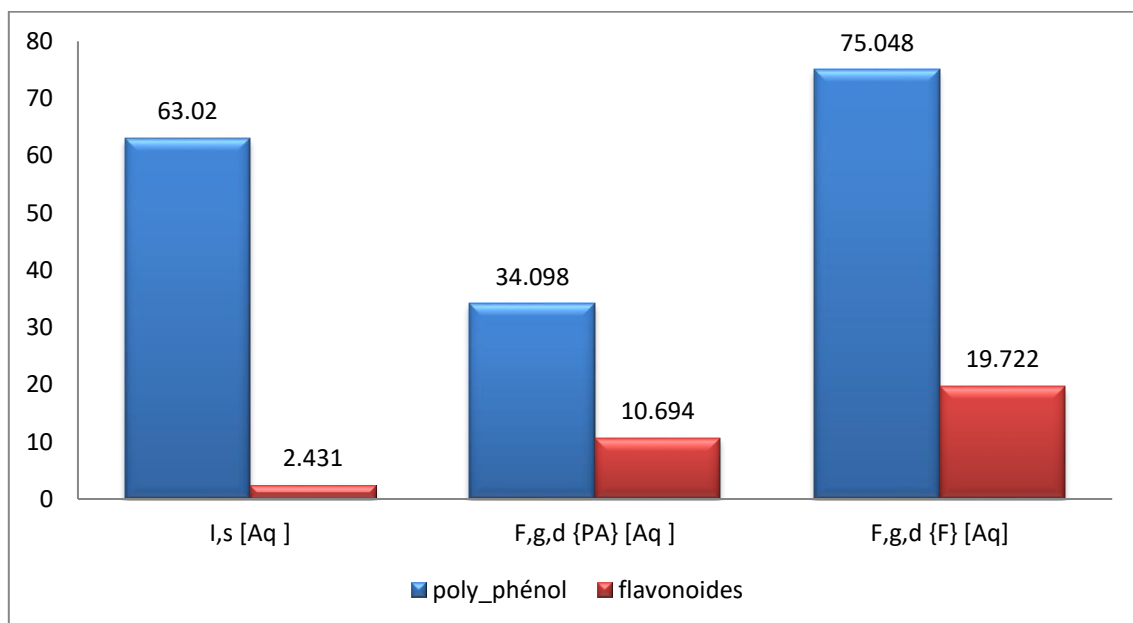


Figure 02 : Evaluation des polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits aqueux d'*I.s* et *F.g.d.*

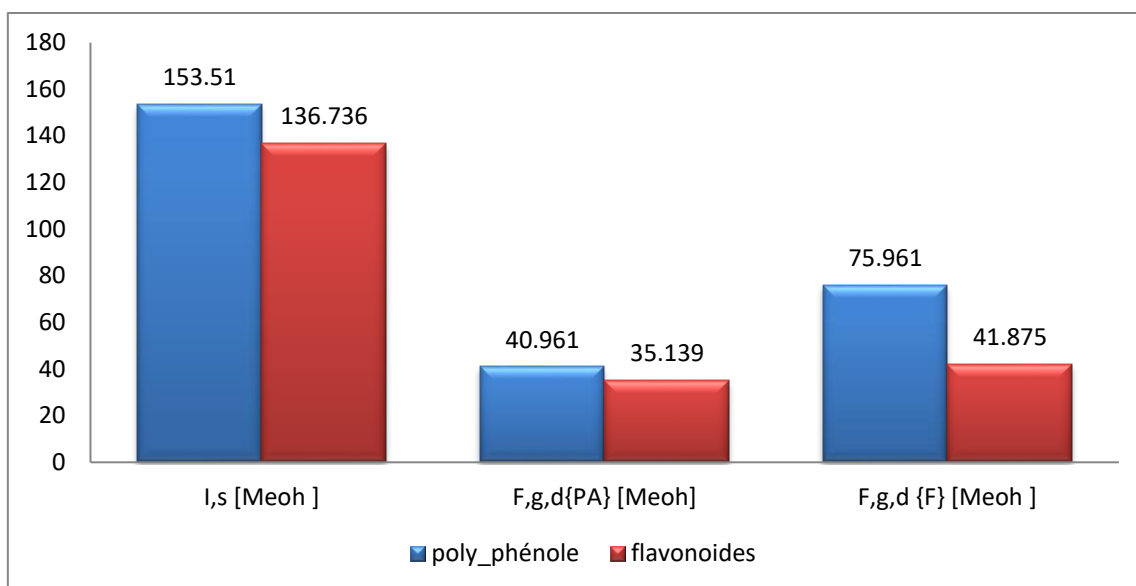


Figure 03 : Evaluation des polyphénoles et flavonoïdes totaux des extraits hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d*.

Les deux plantes étudiées sont données des rendements d'extraction importants, que ce soit pour l'extrait hydro-méthanoïque ou l'extrait aqueux, ce qui reflète la richesse moléculaire de cette plante (**Tab.01**).

La teneur des composés phénoliques de chaque extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y=0.0034x+0.1044$, $R^2=0.9972$), et exprimée en microgrammes équivalent en acide gallique par milligramme d'extrait et par millilitre (**Tab.03**). Des niveaux considérables en composés phénoliques ont été détectés notamment pour l'extrait hydro-alcoolique qui a présenté le contenu le plus élevé comparant aux celle de l'extrait aqueux.

Les teneurs en flavonoïdes pour les extraits étudiés, ont été déterminées à l'aide de la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y= 0.0048x$, $R^2=0.997$). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent en quercétine par milligramme d'extrait et par millilitre. Ils ont montré la même variabilité, les extrait hydro-méthanoïque sont plus riche par rapport aux extrait aqueux cela est dû à la température élevée (80°C) utilisée lors de la décoction qui peut dégrades certains composés. Il faut bien notée que la plante issue de la famille Astéracées est plus riche en produit poly phénolique ainsi que flavonoïdes par rapport à celle de la famille Zygophyllaceae se qui convient à littérature.

Plusieurs études ont montré que les composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes, jouent un rôle important dans les différentes propriétés biologiques Et pharmacologiques des extraits naturels, ce qui nous allons le confirmer dans les parties suivantes.

IV. Criblage d'activité biologique :**IV.1. DPPH :**

L'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH⁺ a été évaluée par la mesure des concentrations inhibitrices à 50 % (IC₅₀) en utilisant une spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés aux étalons de référence (BHA, BHT) :

Tableau 05 : Pourcentages d' inhibition du radical DPPH

Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
MeOH								
<i>I.s</i>	0,18±0,66	7,34±1,26	22,16±0,17	40,01±0,72	70,14±0,50	84,69±1,34	90,30±1,49	33.88±0.06
<i>F.g.d(Pa)</i>	13,96±1,82	14,23±0,57	21,28±1,81	29,49±0,91	45,24±1,66	70,53±0,13	72,18±0,13	244.93±6.08
<i>F.g.d (F)</i>	7,12±0,50	8,28±2,27	14,84±0,50	23,10±2,34	49,76±1,03	73,67±0,97	85,57±0,53	240.39±3.75
Aqueux								
<i>I.s</i>	11,64±0,39	14,82±0,32	16,62±3,26	22,36±0,54	36,00±0,77	45,23±0,77	53,13±0,32	658.64±11.45
<i>F.g.d (Pa)</i>	11,59±0,39	14,15±5,49	20,00±1,31	25,28±2,31	35,23±2,95	43,03±2,16	55,79±3,00	630.80±39.31
<i>F.g.d(F)</i>	8,56±2,89	18,56±16,8	19,54±5,78	26,00±2,27	32,72±0,47	45,64±1,08	56,77±0,71	596.20±9.62
Standards								
BHA*	76,55±0,48	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	006.14±0
BHT*	49,09±0,76	72,63±2,06	88,73±0,89	94,00±0,31	94,97±0,08	95,38±0,41	95,02±0,23	012.99±0
α-tocophérol*	37,21±1,82	81,53 ±1,5	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	013±5,17

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai

• (*) les standards : molécules de références

• BHA :hydrox-yanisolebutylé

• BHT :hydroxy-toluene butylé

Tableau 05 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH.

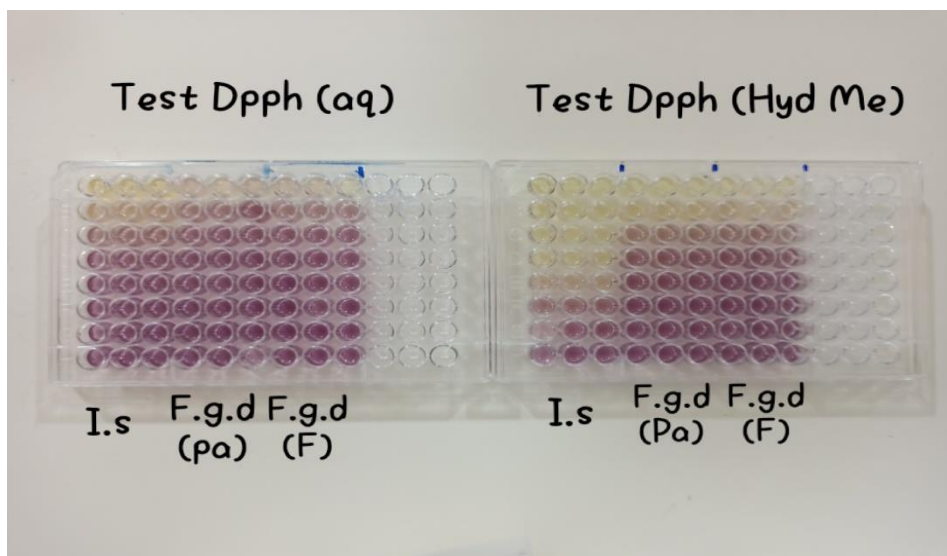


Figure 04: Résultats du DPPH des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

Les résultats obtenus sont présentés dans les histogrammes éucidés dans les figures (5 et 6) :

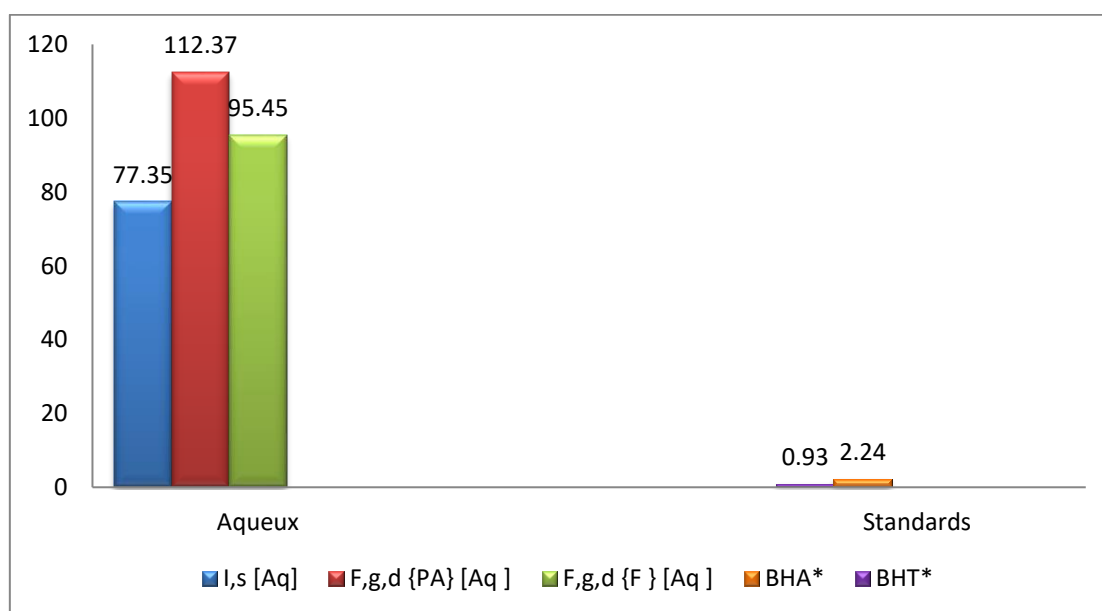


Figure 05 : Valeur IC₅₀ du test DPPH des extraits aqueux d'*I.s* et *F.g.d*.

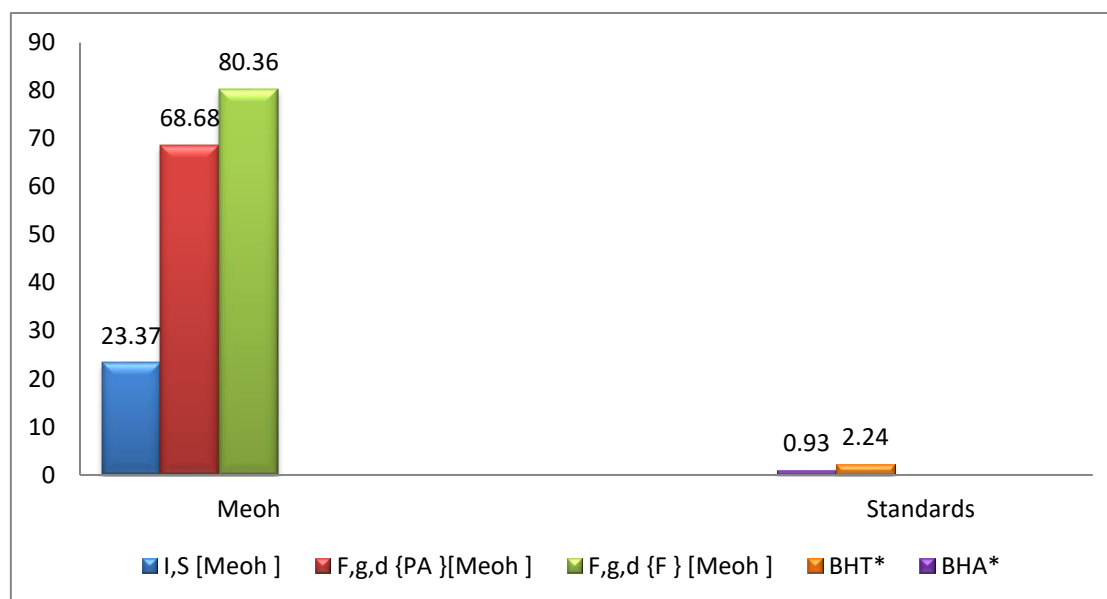


Figure 06 : Valeur IC₅₀ du test DPPH des extraits Hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d*.

Les profils d'activité anti-radicalaire obtenus révèlent que les extraits hydro-méthanoïques et aqueux possèdent une activité dose dépendante.

La comparaison des extraits permet de constaté que les extraits hydro-méthanoïques sont plus actifs que les extraits aqueux, notamment pour le cas de la plante *I.S* (de la famille astéracée) qui présente un ($IC_{50} = 33.88 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$) cette activité est trois fois plus faible que celle du BHT ($IC_{50} = 12,99 \pm 0,0 \mu\text{g/ml}$) et cinq fois plus faible que celle du BHA ($IC_{50} = 6.14 \pm 0.0 \mu\text{g/ml}$) suivi par la partie fleur de la plante *F.G.Del* de la famille Zygophyllaceae qui présente un ($IC_{50} = 240.39 \pm 3.75 \mu\text{g/ml}$) puis la partie aérienne de la même plante qui présente un ($IC_{50} = 244.93 \pm 6.08 \mu\text{g/ml}$), concernant les extraits aqueux qui présente les faible activités anti-radicalaire avec un IC₅₀ qui t' envers 600 $\mu\text{g/ml}$. selon **Sánchez-Vioque et al., [154]** par le fait que l'activité inhibitrice du radical DPPH n'est pas dépendante du contenu total en polyphénols mais aux polyphénols qui ont des structures chimiques spécifiques. Autrement dit, par la haute sélectivité du DPPH car il ne réagit qu'avec les flavonoïdes contenant des groupes hydroxyles dans le cycle B [155], ainsi que les acides aromatiques comportant plus d'un groupe hydroxyle [156], ce qui nous a constaté pour notre cas.

IV.2 ABTS :

Dans ce test, l'antioxydant réagit avec ABTS^{•+} de couleur bleu/vert par transfert d'électrons pour redonner l'ABTSH^{•+} incolore. Cette transformation a été suivie par la mesure

de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparaison avec les standards BHA et BHT. Les résultats sont présentés dans les figures (7, 8 et 9) et dans le **tableau 6** :

Tableau 06 : Pourcentages d' inhibition du radical ABTS

Parties étudiées	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ (µg/ml)
Aqueux								
<i>I.s</i>	7,67±0,58	17,11±1,02	27,06±1,77	40,39±5,60	82,00±1,26	84,17±0,83	87,67±0,60	117.12±6.36
<i>F.g.d(Pa)</i>	12,67±2,20	21,94±1,08	31,44±1,18	43,11±1,95	69,83±0,17	84,33±9,26	89,56±1,51	123.85±3.8
<i>F.g.d (F)</i>	1,62±2,07	6,88±2,70	20,97±0,44	40,49±5,03	68,62±0,58	89,65±1,59	91,50±0,64	137.82±5.43
MeOH								
<i>I.s</i>	7,66±2,69	14,04±0,48	24,66±0,60	41,28±1,17	71,25±0,26	87,47±0,42	88,48±0,10	32.63±0.45
<i>F.g.d(Pa)</i>	13,42±0,93	26,06±2,83	41,44±1,01	58,39±2,80	79,19±1,17	87,53±2,02	89,99±1,03	77.29±2.36
<i>F.g.d(F)</i>	18,39±1,80	31,72±0,35	45,22±1,23	52,72±1,75	76,78±1,69	85,89±0,51	90,72±0,67	78.32±1.31
BHA*	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95.32±0,25	95.59±0,47	95.83±0,15	95.86±0,10	1.81±0.10
BHT*	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88.76±3,07	90.85±1,74	90.95±0,51	96.68±0,39	1.29±0.30

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai

• (*) Les standards : molécules de références

• BHA :hydrox-yanisolebutylé

• BHT : hydroxy-toluene butylé

Tableau 06 : Pourcentages d'inhibition du radical ABTS.

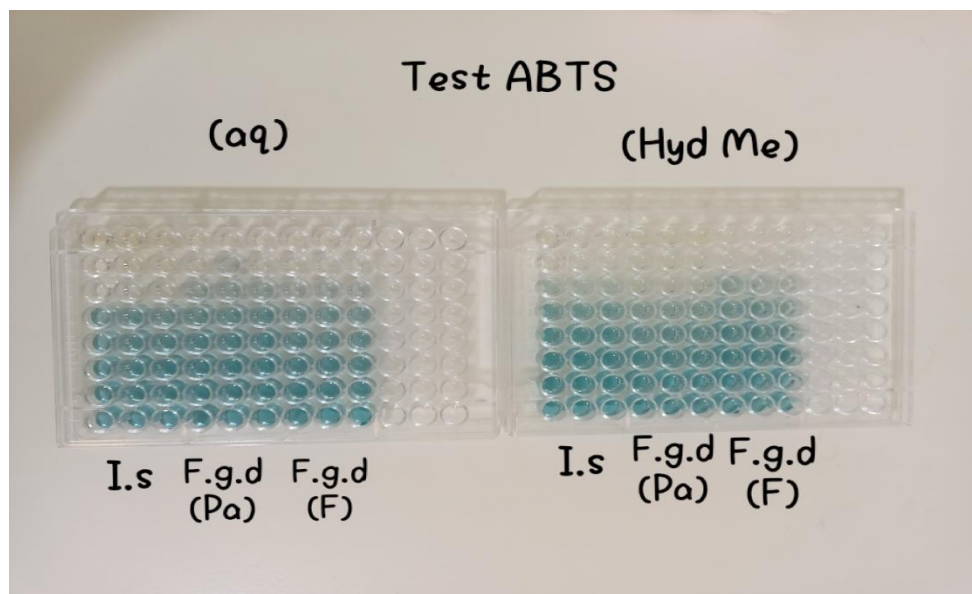


Figure 07 : Résultats du test ABTS des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

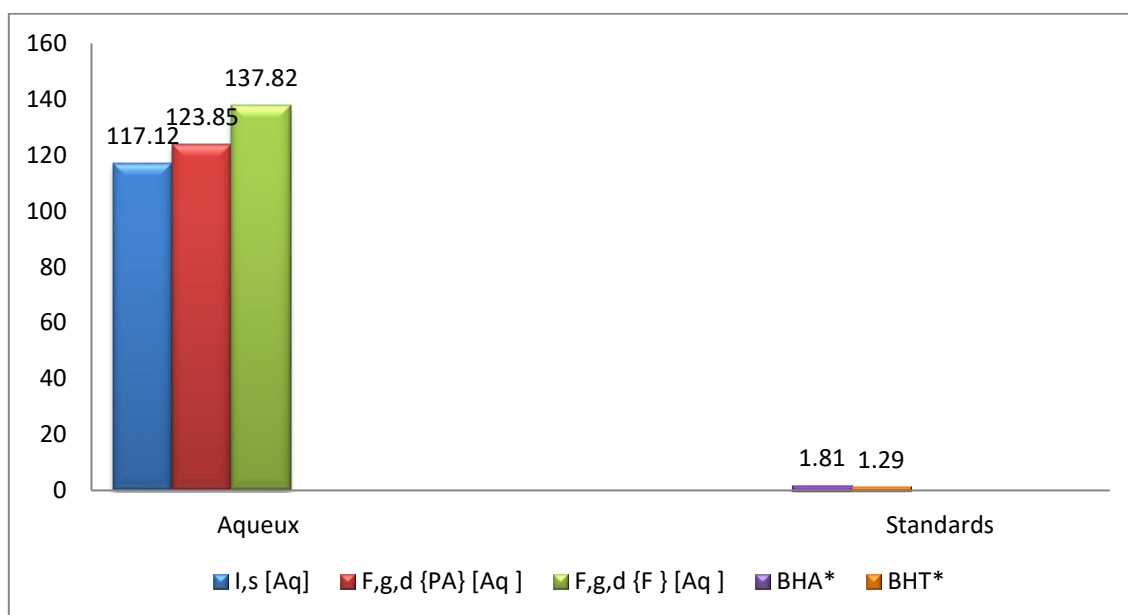


Figure 08 : Valeur IC₅₀ du test ABTS des extraits aqueux d'*I.s* et *F.g.d*.

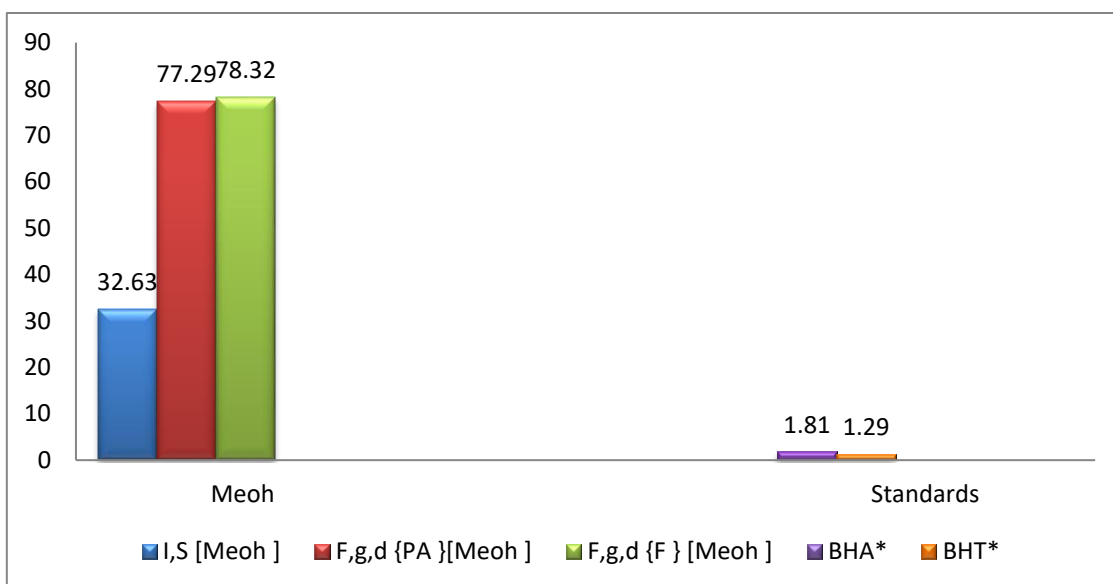


Figure 09 : Valeur IC₅₀ du test ABTS des extraits hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d*.

Dans ce test, on remarque que la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par les extraits hydro-méthanoïques est plus forte que celle des extraits aqueux, notamment pour le cas de l'extrait de la plante *I.S.* qui présente un ($IC_{50} = 32,63 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$) est dix-huit fois plus faible que les standards BHA ($IC_{50} = 1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) et BHT ($IC_{50} = 1,29 \pm 0,3 \mu\text{g/ml}$) et deux fois plus forte que les extraits des deux parties de la plante *F.G.Del* ($IC_{50} = 77,29 \pm 2,36 \mu\text{g/ml}$ et $IC_{50} = 78,32 \pm 0,60 \mu\text{g/ml}$ respectivement). Cette capacité est suivie par les extraits aqueux qui manifestent avec la plus faible activité ($IC_{50} > 120 \mu\text{g/ml}$) (**Tableau 6, Figure 8 et 9**).

Dans cette activité, les extraits ont manifesté un pouvoir de piégeage des radicaux libres mieux que dans l'activité anti-radicalaire au DPPH ceci peut être justifié par la capacité du radical cation ABTS d'être plus polyvalent que le DPPH parce qu'il est soluble dans l'eau et les solvants organiques, ce qui permet une évaluation d'activité anti-radicalaire pour les composés hydrophiles et lipophiles [157].

IV.3 FRAP :

Le ferricyanide de potassium est réduit en présence d'un antioxydant pour former le ferrocyanide de potassium qui va réagir ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe fer ferreux de couleur bleu-vert, qui a un maximum d'absorbance à 700 nm. Les résultats sont exprimés dans **les figures (10, 11 et 12) et le tableau 7**.

Tableau 07 : les absorbances des différents extraits dans la méthode FR

Parties étudiées	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0.5} (µg/ml)
MeOH								
<i>I.s</i>	0,08±0,02	0,12±0,01	0,21±0,02	0,29±0,00	0,43±0,07	0,64±0,02	0,88±0,00	66.37±3.21
<i>F.g.d (Pa)</i>	0,06±0,01	0,07±0,00	0,08±0,01	0,12±0,00	0,18±0,00	0,31±0,00	0,63±0,00	159.04±1.97
<i>F.g.d(F)</i>	0,06±0,01	0,06±0,00	0,07±0,00	0,11±0,00	0,17±0,00	0,38±0,00	0,62±0,00	154.01±2.48
Aqueux								
<i>I.s</i>	0,05±0,00	0,05±0,00	0,07±0,00	0,08±0,01	0,16±0,00	0,17±0,00	0,55±0,00	150.5±1.4
<i>F.g.d(Pa)</i>	00,00±0,00	00,00±0,00	00,0±0,00	00,00±0,00	00,0±0,00	00,0±0,00	00,0±0,00	0.0±0.0
<i>F.g.d(F)</i>	00,00	00,00±0,00	00,00±0,00	00,0±0,00	00,0±0,00	00,0±0,00	00,00±0,00	0.0±0.0
<i>A.ascorbique*</i>	0,35±0,05	0,46±0,03	0,84±0,12	0,93±0,30	1,18±0,34	1,37±0,20	1,44±0,21	06.77±1.1
<i>α-tocophérol*</i>	0,11±0,00	0,16±0,00	0,21±0,03	0,35±0,03	0,73±0,03	1,37±0,08	1,81±0,09	34.93±2.3

- Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai
- (*) les standards : molécules de références

Tableau 07 : Les absorbances des différents extraits dans la méthode FRAP.

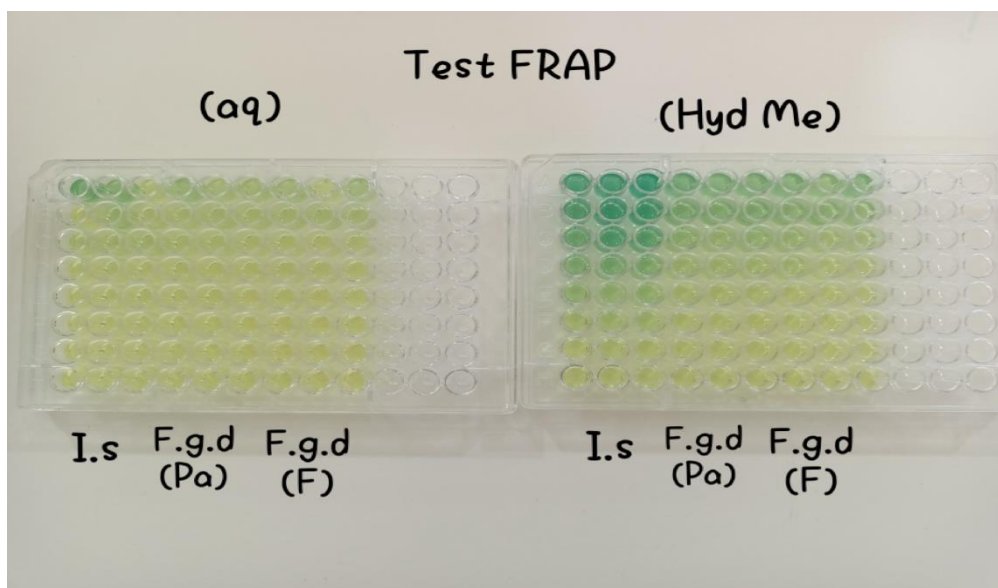


Figure 10 : Résultats du test FRAP des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

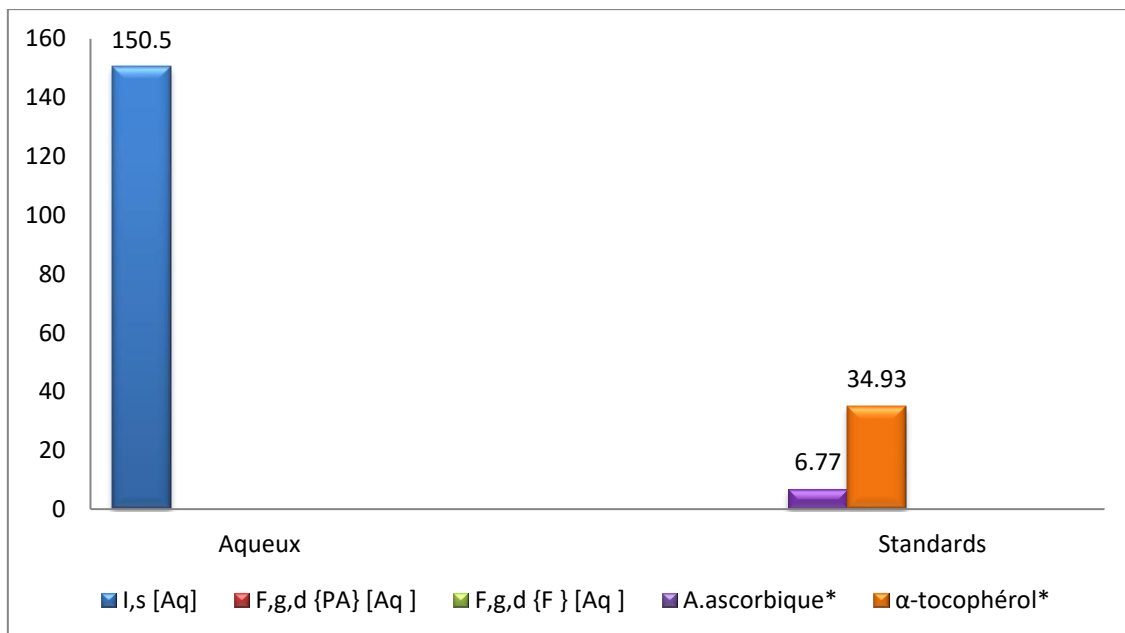


Figure 11 : Valeur IC₅₀ du test FRAP des extraits aqueux d'*I.s* et *F.g.d*.

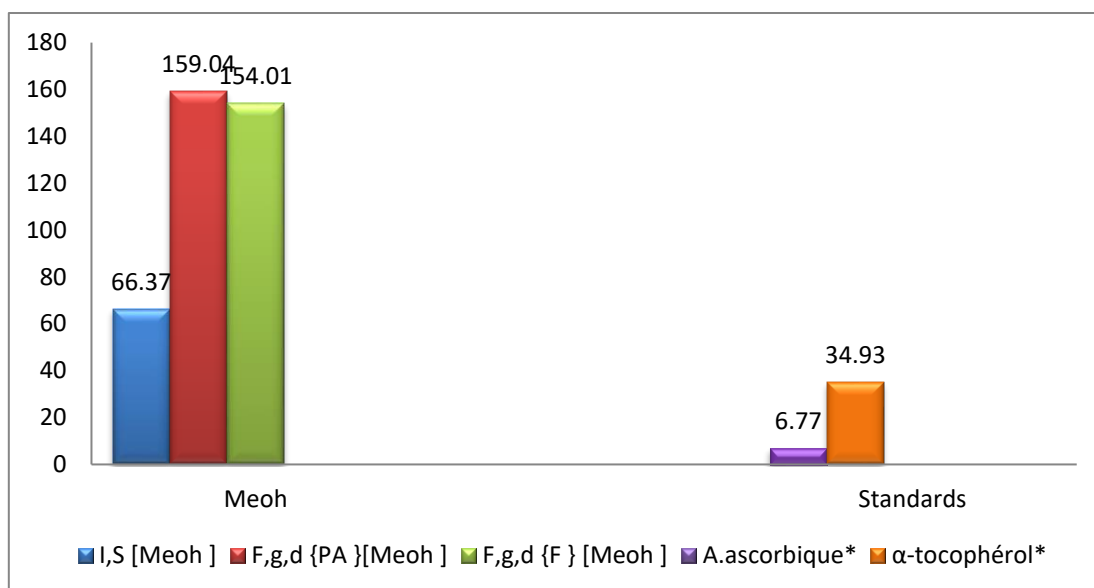


Figure 12: Valeur IC₅₀ du test FRAP des extraits hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d*.

Les résultats du test du pouvoir réducteur confirment les résultats des extraits hydro-méthanoïques par rapport aux autres extraits, on note que l'extrait de la plante *I.S* avec la valeur de ($A_{0.5} = 66.37 \pm 3.21 \mu\text{g/ml}$) a montré la meilleure activité par rapport à l'autre plante. Cette activité est dix fois plus faible que les standards l'acide ascorbique ($A_{0.5} = 6.77 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$) et deux fois plus faible que α -tocophérol ($A_{0.5} = 34.93 \pm 2.23 \mu\text{g/ml}$). Par contre les deux extraits de la plante *F.G.Del* présente de faible activité avec des valeurs d' $A_{0.5}$ supérieur à $150 \mu\text{g/ml}$. Tandis que, pour les extraits aqueux aucun pouvoir réducteur n'a été observé sauf pour le cas de l'extrait de la plante *I.S* avec un ($A_{0.5} = 150.51 \pm 1.4 \mu\text{g/ml}$).

Ces résultats montrent l'activité anti-oxydante de la plante *I.S* par son extrait hydro-méthanoïque qui a donné le pouvoir réducteur le plus fort par rapport à l'autre l'extrait de la plante *F.G.Del*. Pour cette activité, la présence des réducteurs dans les extraits de la plante permet de réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{+2}). Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant l'absorbance de la couleur bleue formée à 700 nm [158]. Ces mesures nous indiquent les concentrations des polyphénols qui participent à la réaction de réduction du fer. Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dépendant de leur concentration, plus que l'extrait est riche en polyphénols, plus qu'il a un pouvoir réducteur élevé [159].

IV.4 PHENOLTROLINE :

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe^{+2} - phénoltroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de $A_{0.50}$ des

extraits de la plante et celles des standards BHA et BHT ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants (**figures 13, 14 et 15 et le tableau 8**) :

Tableau 08 : les absorbances des différents extraits dans la méthode de Phenanthroline.

Parties étudiées	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0.5} (µg/ml)
<i>I.s</i>	0,28±0.07	0,34±0.01	0,39±0.02	0,52±0.01	0,75±0.05	1,23±0.12	2,26±0.04	23.37±1.18
<i>F.g.d(PA)</i>	00,30±0.01	00,31±0.00	00,32±0.01	00,37±0.01	00,43±0.02	00,61±0.00	01,03±0.03	68.68±2.43
<i>F.g.d(F)</i>	00,29±0.00	00,31±0.00	00,33±0.01	00,36±0.01	00,43±0.02	00,54±0.05	00,81±0.01	80.36±3.45
<i>I.s</i>	0,29±0.01	0,26±0.01	0,29±0.01	0,33±0.02	0,41±0.02	0,57±0.01	0,91±0.01	77.35±3.72
<i>F.g.d(Pa)</i>	0,31±0.01	0,28±0.01	0,30±0.00	0,35±0.04	0,38±0.02	0,44±0.02	0,75±0.04	112.37±4.30
<i>F.g.d(F)</i>	00,28±0.01	00,30±0.00	00,30±0.01	00,34±0.01	00,41±0.01	00,53±0.01	00,64±0.01	95.45±1.55
BHA *	00,73±0.02	00,93±0.01	01,25±0.04	02,10±0.05	04,89±0.06	Nt	Nt	0.93±0.07
BHT *	00,53±0.03	01,23±0.02	01,84±0.01	03,48±0.03	04,84±0.01	Nt	Nt	2,24±0,17

• Les résultats sont exprimés sous forme de la moyenne ± SD des trois répétitions pour chaque essai.

• (*) les standards : molécules de références.

• BHA :hydrox-yanisolebutylé.

• BHT :hydroxy-toluene butylé.

Tableau 08 : les absorbances des différents extraits dans la méthode de Phenanthroline.

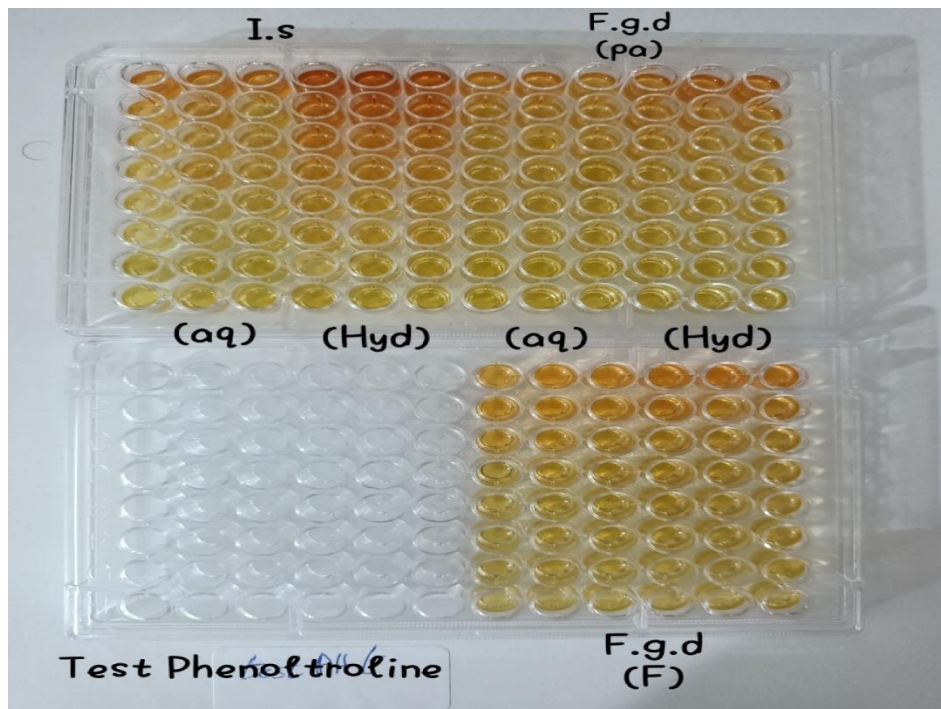


Figure 13 : Résultats du test PHENOLTRILINE des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

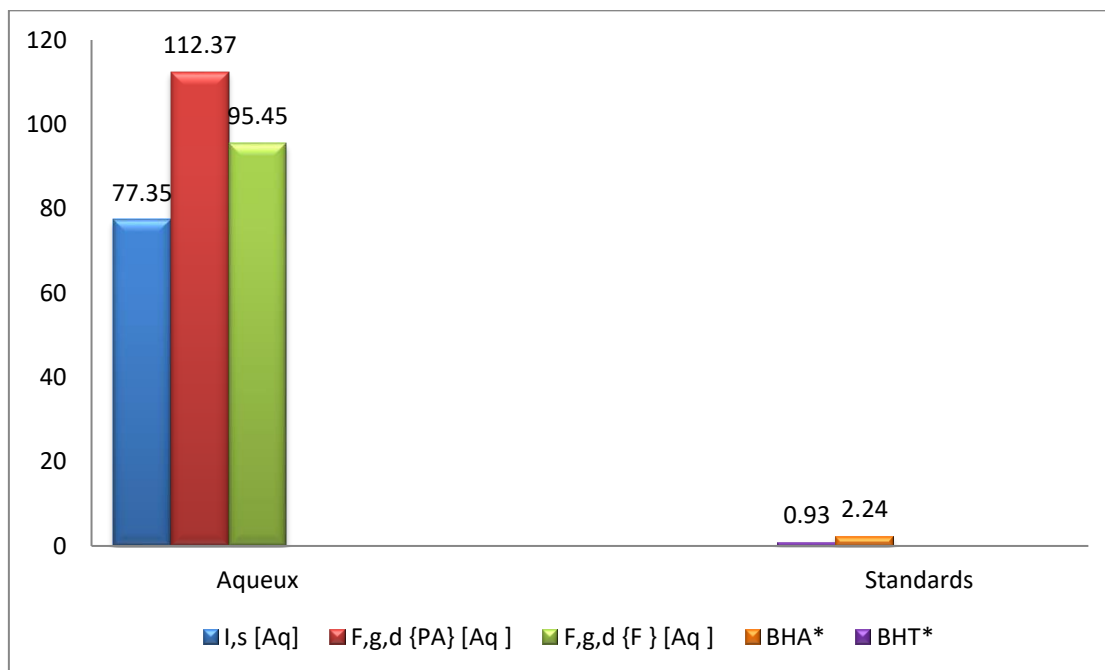


Figure 14 : Valeur IC₅₀ du test PHENOLTRILINE des extraits aqueux d'*I.s* et *F.g.d*.

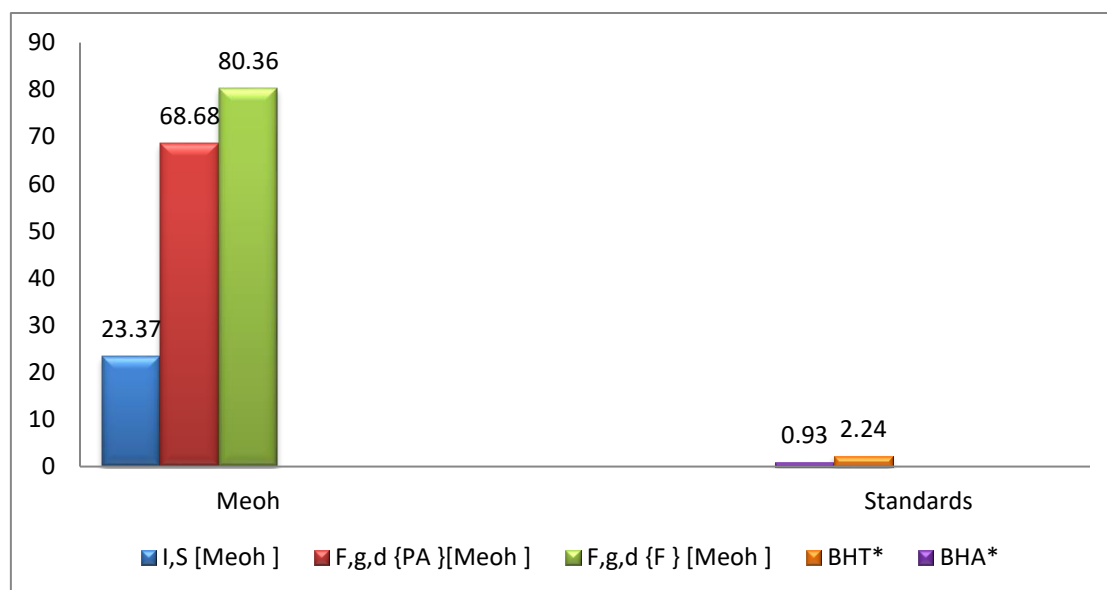


Figure 15 : Valeur IC₅₀ du test PHENOLTROLINE des extraits hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d*.

Les résultats obtenus par cette activité montrent que tous les extraits sont révélés capables de réduire le fer et de former un complexe Fe⁺²- phénantroline. A partir du Tableau et la Figure, on peut déduire que l'extrait hydro-méthanoïque de la plante *I.S* montre le pouvoir réducteur le plus important ($A_{0,50}=23,37\pm 1,18\mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Ce dernier est presque trois fois plus élevé à celui de la partie aérienne de la plante *F.G.Del* ($A_{0,50}= 68,68\pm 2,43 \mu\text{g/ml}$) et presque quatre fois plus élevés à celui de la partie fleur de la plante *F.G.Del* ($A_{0,50}= 80.36\pm 3,45\mu\text{g/ml}$). Toutefois, les deux standards le BHA et le BHT présentent les plus fortes activités réductrices ($A_{0,50}=0,93\pm 0,07$ et $2,24\pm 0,17 \mu\text{g/ml}$), les résultats obtenus par notre extrait malgré l'existence de pouvoir réducteur et la formation de complexe mais sont très loin à comparé avec celle de BHA et BHT.

Dans cette activité, la présence des réducteurs dans les extraits de la plante permet de réduire le Fe⁺³ en Fe⁺². Par conséquent, ce dernier forme un complexe stable avec la phénantroline de couleur rouge orangé. Ce complexe Fe⁺²- phénantroline est révélé par la méthode spectrophotométrie, ce qui permet de doser les ions ferreux et donc de déterminer le pouvoir réducteur de l'antioxydant testé.

Cette différence du pouvoir réducteur vis-à-vis au complexe Fe⁺²- phénantroline est due à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants qui dépend du degré d'hydroxylation et du degré de conjugaison des composés phénoliques.

V. L'activité inhibitrice des enzymes :

Dans cette section nous avons effectué l'étude de l'activité enzymatique responsable aux maladies suivante : (le diabète, l'Alzheimer et l'existence de la bactérie *H.pylori* dans l'estomac) à l'aide des trois enzymes (α -amylase, d'acétylcholine estérase et uréase) pour tester nos extraits issue des plantes pré-citer ; en ce qui concerne les deux enzymes α -amylase, d'acétylcholine estérase nous avons constaté aucune inhibition pour toutes nos extrait ce qui nous a permis de dire que nous avons aucune activité enzymatique antidiabétique ni anti-Alzheimer ; par contre nous avons effectué une inhibition de 50% d'uréase pour les deux extraits de la plante *F.G.Del* comparant avec celle de l'extrait *I.S* qui présente une inhibition maximale de 22%, ce qui nous a permis de dire que avec des concentrations supérieur a 800 ug/ml on peuvent obtenir des bonnes valeurs d'inhibitions. Les résultats sont exprimés dans les figures (16, 17 et 18).

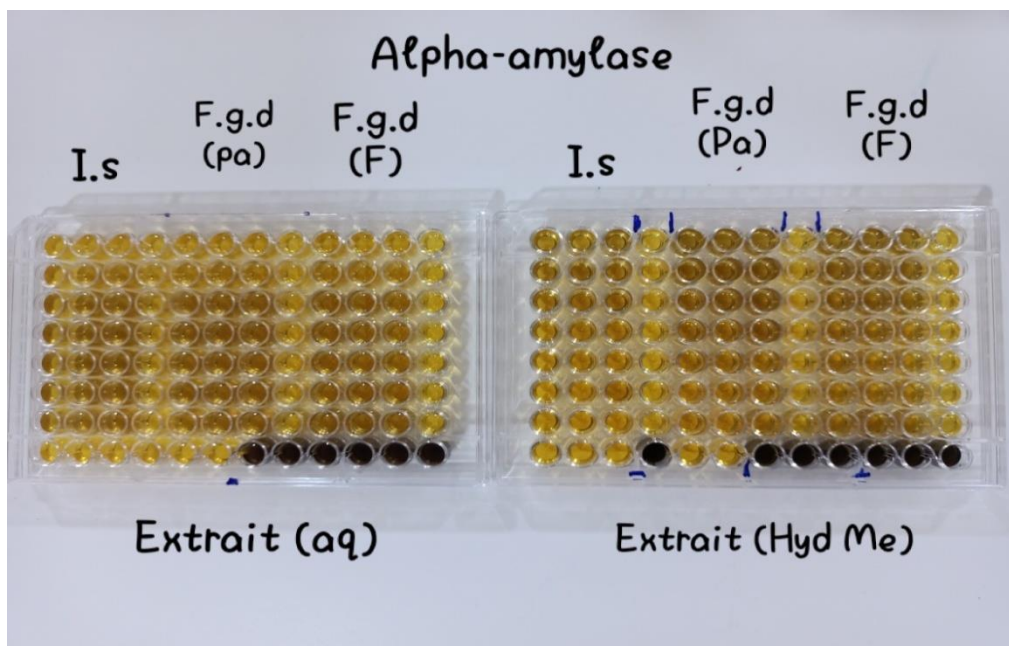


Figure 16 : Résultats d'alpha-amylase des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

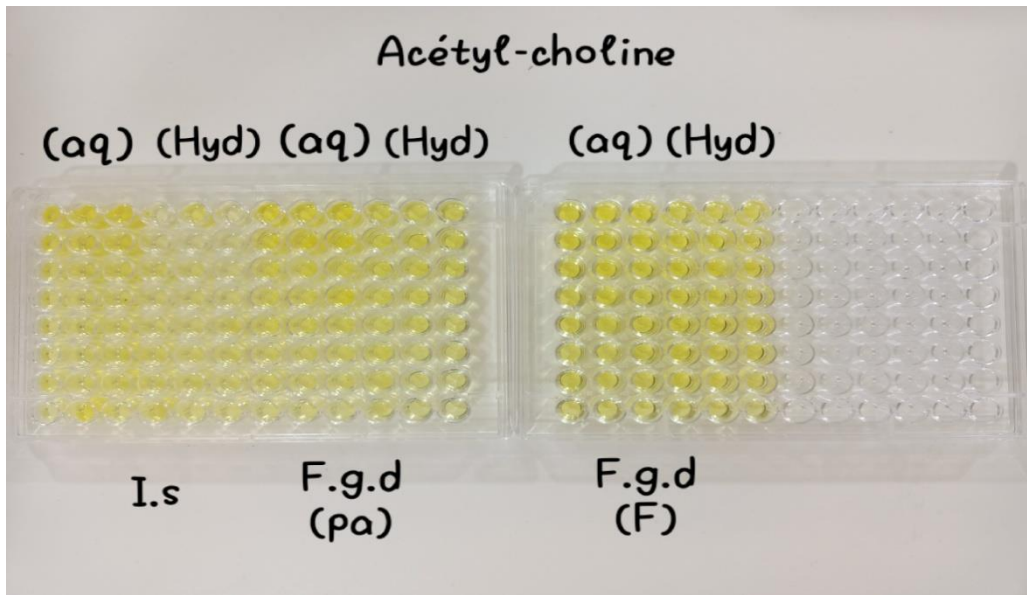


Figure 17 : Résultats d'Acétyl-choline des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

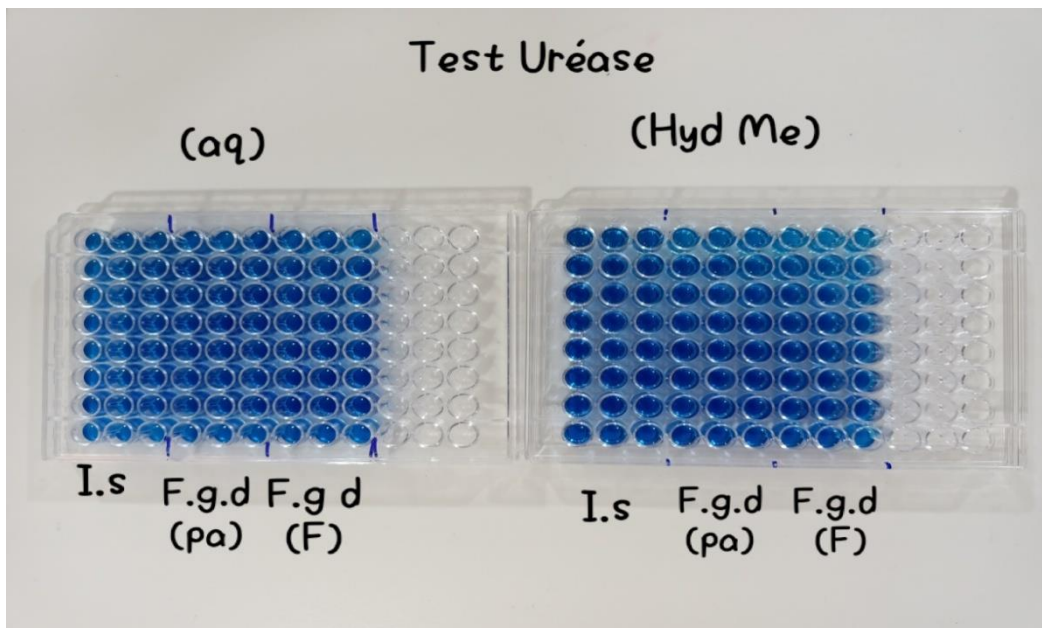


Figure 18 : Résultats du test URÉASE des extraits aqueux et hydro méthanoïques d'*I.s* et *F.g.d* sur microplaque.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et Perspectives :

L'Algérie dispose d'une diversité exceptionnelle de plantes qui dont certains sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner de divers maladies et infections, cependant des tests *in vitro* sont nécessaires pour confirmer l'utilisation de ces espèces dans la pratique médicale.

Notre travail est basé sur la valorisation des plantes de la région de Chebka wilaya de Ghardaïa qui caractérisée par un climat, un sol et une flore spécifique, ce qui nécessite des études approfondie, dans ce contexte, notre choix repose sur deux plantes de différente famille astéracée (I.S) et Zygophyllaceae (F.G.Del) pour faire réaliser une étude chimique et biologique.

Dans la présente étude, nous avons caractérisé d'une part, l'activité anti-oxydante de deux extraits hydro-méthanoïque et aqueux de chacun des plantes précitées par des méthodes standards, le piégeage des radicaux DPPH et ABTS, la réduction du fer (FRAP et Phenanthroline). D'autres parts, nous avons testé l'activité antidiabétique via l'inhibition de l' α -amylase et l'activité anti-Alzheimer via l'inhibition de l'acétylcholinestérase ; afin de finaliser notre travail par l'étude de l'activité uréase.

Nos résultats ont montré des niveaux considérables en polyphénols et flavonoïdes totaux notamment pour l'extrait hydro-méthanoïque. Concernant l'activité anti-oxydante, les résultats ont montré des activités importantes pour les extraits hydro-méthanoïques des deux plantes particulièrement pour la plante I.S (astéracée) qui est comparables aux références BHA et BHT dans les méthodes de piégeage des radicaux DPPH et ABTS. En plus, les extraits étudiés ont présenté des activités variables dans les méthodes FRAP et Phenanthroline, toujours l'extrait hydro-méthanoïque de la plante I.S a présenté le meilleur effet et l'ensemble sont loin à être comparés avec les molécules de référence BHA et BHT.

Malgré nous n'avons aucune inhibition enzymatique constatée pour nos extraits en ce qui concerne (α -amylase et acétylcholine estérase), Cela ne nous empêche pas de reconsidérer notre plan de travail pour améliorer nos résultats vis-à-vis ces enzymes, il faut bien noté que nous avons effectué une inhibition de 50% d'uréase pour les deux extraits de la plante F.G.Del comparant avec celle de l'extrait I.S qui présente une inhibition maximale de 22%, ce qui nous a permis de dire que avec des concentrations supérieur à 800 ug/ml on peuvent obtenir des bonnes valeurs d'inhibitions.

Conclusion générale et perspectives

Nos résultats justifient l'usage traditionnel de les plantes étudiées en Algérie, et valorise l'effet biologique et pharmacologique des extraits. Ils ouvrent également dans le future proche des perspectives multiples qui nous permettra sans doute d'enrichir le poids scientifique de ce modeste travail, comme perspectives en cite les point suivant :

- Utiliser ces résultats comme première étape de recherche afin d'amélioré la qualité de travail par la recherche des molécules responsable de chaque activité.
- Elargir la zone d'étude en intégrant d'autres espèces endémiques.
- Multiplier le nombre de fractions étudiées.
- Manipuler d'autres techniques anti-oxydantes.
- Faire intervenir les méthodes chromatographiques (LC-MS, GC-MS, HPLC)
Ceci nous permet de qualifier et quantifier les différents constituants des extraits étudiés.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques:

- [01]. N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Ben Halima, M. M. Chaabouni, Composition chimique et activités antioxydant, antimicrobienne et insecticides de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*, Journal de la Société Chimique de Tunisie, 10, 119-125, 2008.
- [02]. Asma. BAKIRI, Kamel. LOUADI, Maximilian. SCHWARZ, Le genre *Nomada SCOPOLI*, 1770 du Nord - Est de l'Algérie (Hymenoptera, Apidae, Nomadini), Entomofauna ZEITSCHRIFT FÜR ENTOMOLOGIE, 37, 43, 697-712, 2016.
- [03]. World Health Organization. (2002). WHO traditional medicine strategy 2002-2005.
- [04]. Gao. H, lamusta. J, Zhang. W.F, Salmonsens. R, liu. Y, Oconel. E, Evan. J. E, Burstein. S, Chen. J.J, Tumor cell selective cytotoxicity and apoptosis introduction by anHerbal preparative from *brucea javanica*. North American journal of medicine and science, 4, 62-66, 2011.
- [05]. Gaussen. H, Leroy. H. F, Précis de botanique, végétaux supérieurs. 2^{ème} Ed, 426, 1982.
- [06]. AbayomiSofowora, Medicinal plants and Tradional Medicine in Afric, 1^{er} édition, John Wiley & Sons Limited, 1982.
- [07]. Herbert. R.B, The Biosynthesis of secondary metabolites. 2^{ème}édition, Chapman and Halle : pp11-1,1989.
- [08]. Elqaj. M. Ahami. A, Belghyti. D, La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc, 2007.
- [09]. Sango.R, Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle, Université Bamako(Mali): 53, 2006.
- [10]. Andrew Chevallier, The Encyclopedia of Médicinal Plants, 2nd Edition, Dorling Kindersiey Limited, Boston, 1996.
- [11]. Wichtl. M, Anton. R, Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2^{ème} édition, Ed Lavoisier, 2003.

Références bibliographiques

- [12]. www.iesv.org, Institut Européen des Substances Végétales, Phytothérapie clinique individualisée, (20/06/2021).
- [13]. www.iesv.org, plante médicinal.pdf, 2015-2016, (20/06/2021).
- [14]. Mohammedi Zohra, Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-ouest de l'Algérie, Thèse de Doctorat en Biologie, Université de Tlemcen, 2012/2013.
- [15]. www.prescrire.org, Bien utiliser les plantes en situations de soins, 27, 286, 2007, (20/06/2021).
- [16]. Haslam. E, Natural polyphénols (végétales tannins) : Gallic Acidemétabolisme. *Nat. Prod*, 11: pp 41-66, 1994.
- [17]. Quezel.P, Santa.S, Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2 Vol, Ed, C.N.R.S, Paris : 1170 P, 1962.
- [18]. www.fao.org, L'état Des Ressources Génétique Forestières Mondiales (Rapport National Algérie), 2012, (20/06/2021).
- [19]. Sheahan.M.C, Chase. M. W, Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. *Syst. Bot.* 25: 371–384, 2000.
- [20]. Sheahan. M. C, Chase. M. W, A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae based on morphological, anatomical and rbcL DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc*, 122, 279–300, 1996.
- [21]. Khalik. K. N. A, A numerical taxonomic study of the family Zygophyllaceae from Egypt, *Acta Botanica Brasilica*, 26, 165-180, 2012.
- [22]. Pettit. G.R, Doubek. D.L, Herald. D.L, Numata. A, Takahasi. C, Fujiki. R., Miyamoto, J, Isolation and structure of cytostatic saponins from the African medicinal plant *Balanites aegyptica*, *Journal of Natural Products*, 54, 1491–1502, 1991.
- [23]. Speroni. E, Cervellati. R, Innocenti. G. Costa. S, Guerra. M.C, Dall'Acqua. S, Govoni. P, Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile, *Journal of Ethnopharmacology*, 98, 117–125, 2005.

- [24]. Bishnu. P.C, Zeev.W, Leah.T, In vitro study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi, *Industrial Crops and Products*, 26, 109–115, 2007.
- [25]. Duke. J.A, *Medicinal Plants in the Bible*, Trado-Medic Books, New York, Chapter 28, 1983.
- [26]. Kamel. M.S, Studies on *Balanites aegyptiaca* fruits, an antidiabetic Egyptian folk medicine, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 39, 1229–1233, 1991.
- [27]. Anesini. C, Genaro. A, Cremaschi. G, Sterin. B. L, Borda. E, Antimitogenic effect of *Larrea divaricata* Cav. Participation in arachidonate metabolism. *Comp Biochem Physiol C*, 122, 245–52, 1999.
- [28]. Van.Auken, O.W, Shrub invasions of North American semiarid grasslands, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 197–215, 2000.
- [29]. Whitford. W.G, Nielson. R, De Soyza. A, Establishment and effects of creosote bush, *Larrea tridentata*, on a Chihuahuan Desert watershed, *Journal of Arid Environments*, 47, 1–10, 2001.
- [30]. Brent. J, Three new herbal hepatotoxic syndromes, *Journal of Toxicology and Clinical Toxicology*, 37, 715–719, 1999.
- [31]. Tahraoui. A, El-Hilaly. J, Israili. Z.H, Lyoussi. B, Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province), *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 105–117, 2007.
- [32]. Sasmakov. S.A, Putieva. M. Zh., Saatov. Z, Kachala. V.V, Shashkov. A.S, Triterpene glycosides of *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M, *Chemistry of Natural Compounds*, 37, 91–92, 2001.
- [33]. Saber, A.H., El-Moghazy Shoaib, A.M.,. *Zygophyllum coccineum*. V. Chemistry of leaf and stem, *Journal of Pharmaceutical Science of the United Arab Republic*, 1, 1–6, 1960.
- [34]. Eskander. E.F, Won. Jun. H, Hypoglycemic and hyperinsulinic effects of some Egyptian herbs used for the treatment of diabetes mellitus (type II) in rats, *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36, 331–342, 1995.

Références bibliographiques

- [35]. aouhari. J.T, Lazrek. H.B, Jana, M, The hypoglycemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 69, 17–20, 2000.
- [36]. Bellakadhar. J, Claisse. R, Fleurotin. J, Younos. C, Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia, *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 123–143, 1981.
- [37]. Maiza. K, Hammiche. V, Brac de la Perriere. R.A, Traditional saharian pharmacopoeia, *ISHS Acta Horticulturae* 332, WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference, Maastricht, Netherlands (CR-rom), 1993.
- [38]. Meng. X.L, Riordan. N.H, Casciari. J.J, Zhu. Y, Zhong. J, Gonzlez. M.J, Miranda-Massari. J.R, Riordan. H.D, Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis, *PR Health Science Journal*, 21, 323–328, 2002.
- [39]. Atta. A.H, Mouneir. S.M, Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 303–309, 2004.
- [40]. Smati. D, Hammiche. V, Nehari. H, Alamir. B, Merad. R, *Zygophyllum geslini* coss.: chemical investigation of hypoglycemic activity, *ISHS Acta Horticulturae*, 29, 332: WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference, Maastricht, Netherlands (CD-rom), 1993.
- [41]. Smati. D, Longeon. A, Guyot. M, 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara, *Journal of Ethnopharmacology*, 95, 405-407, 2004.
- [42]. Ozenda. P, *Flore du Sahara*. 3^{ème} édition, complétée, CNRS, Paris, 662, p, 317, 1991.
- [43]. Bremer. K, *Asteraceae, Cladistics and Classification*, Timber Press, p, 752, Portland, Oregon, 1994.
- [44]. E. Le Floc'h, *Contribution a une étude ethnobotanique de la flore tunisienne*, publication scientifique tunisienne, p, 402, 1983.
- [45]. Dupont. F, Guignard.J.L, *Abrégé de Botanique* 15^{ème} édition, Editions Masson, Paris, 2012.

Références bibliographiques

- [46]. El-Masry. E, Abou-Donia. A. H A, Darwish. F. A, Aboukaram. M. A, Grenz. M, Bohlmann. F, Sesquiterpene lactones from *Chrysanthemum coronarium*, *Phytochemistry*, 23, 12, 2953-2954, 1984.
- [47]. Polosky. Z, 21st Century Homestead: Biological Pest Control, 1st Edition, NY, USA Lulu, 176, 2015.
- [48]. Chehma. Abdelmadjid, Etude floristique et nutritive des parcours camelins du Sahara Septentrional Algérien cas des régions de Ouragla et Ghardaia, Thèse de doctorat en Biologie appliqué, Université de Annaba, 2005.
- [49]. LeHouerou. H.N, Définition et limites bioclimatiques du sahara, sècheresse, 1,4, p, 246-259, 1990.
- [50]. <http://atlas-sahara.org>, (18/06/2021).
- [51]. Dubief. J, Le climat du Sahara. Ed : Inst. Rech. Saha., Alger. Mémoire h.s. Tome I. p, 307, 1959.
- [52]. Toutain. G, Eléments d'agronomie saharienne, de la recherche au développement, Ed : I.N.R.A, Paris, p, 276, 1979.
- [53]. Dubief J.,: Evaporation et coefficients climatiques au Sahara, Ed: Inst. Rech. Sah., Alger, Tome VI. p, 13-43, 1950.
- [54]. Quezel. P, Analyses of the flora Mediterranean and Saharan Africa, *Annual of the Missouri Botanical Garden*, p, 479-535, 1978.
- [55]. REGAGBA Mohamed, Contribution a la mise en place d'un système d'information géographique (SIG) dédiée ausuivi de la biodiversité de la région saharienne, Thèse de Doctorat en science agronomique, Université de Mostaganem, 2019
- [56]. Mederbal. K, Recherches Ecologiques Sur Les Zones Arides Et Semi-Arides: La Cartographie Ecologique, Une Base Nécessaire Pour L'écodéveloppement, Congrès International Ecodev96, p10, Adrar, 13-16 Novembre 1996,

Références bibliographiques

- [57]. Notes Relatives Aux Ressources En Eaux Souterraines De La Wilaya De Ghardaïa. A.N.R.H, p 19, 2005.
- [58]. Benyoucef. B, Le M'zab, Espace Et Société, Éd, Aboudaoud, El-Harrach, p 290, 1991.
- [59]. Dubief, J., 1953, "Essai sur l'hydrologie superficielle au Sahara". Édition : service des études scientifiques, Alger. pp. 26-103.
- [60]. Dubost D., 2002. Écologie, Aménagement et Développement des Oasis algériennes. Biskra, CRSTRA, 423p.
- [61]. ONM, 2014. Listing des paramètres climatologiques de la région de Ghardaïa.
- [62]. Baba-Sy, O, Recharge et paléorecharge du système aquifère du Sahara septentrional. Thèse de Doctorat., Université Tunis El Manar. FST Tunis, Tunisie, 277p,2005.
- [63]. ANRH, Agence nationale des ressources hydrauliques, Inventaire des points d'eaux de la wilaya de Ghardaïa, Algérie. Document interne, 2006.
- [64]. Fabre, J, Introduction à la géologie du Sahara Algérien et des régions voisines. Soc. Nat. Ed. SNED. Alger, p142, 1976.
- [65]. ANDI, Agence Nationale de Développement de l'Investissement, investissement in Algeria, 2013.
- [66]. Sarni-Manchado. P, Cheynier. V, Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier, Paris, p 300-398, 2006.
- [67]. Bamforth. C.W, Perceptions of beer foam, J. Inst. Brew, 106, 229-38, 2000.
- [68]. Sasaki. K, Takahashi. T, A flavonoid from Brassica rapa flower as the UV-absorbing nectar guide, Phytochem, 61 (3), 339-43, 2002.
- [69]. Haslam. E, Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism, Nat. Prod, 11, 41-66, 1994.
- [70]. www.dictionnaire.acadpharm.org/w/Anthocyan, (20/06/2021).

Références bibliographiques

- [71]. Benziane. M. M, Screening phytochimique de la plante Rutamontana. Extraction de l'HE et de la rutine. Activité antioxydante de plante, Thèse de Magister en Chimie Organique, Université d'Oran Es-Sénia, 2007.
- [72]. Brouillard. R, The Flavonoids, Advances in research sine, Ed. J. B. Harbone, Chapman and Hall, London, 525-538, 1993.
- [73]. Bruneton. J, Pharmacognosie (Phytochimie, Plantes médicinales), 3^{ème} Edition, Paris, France, 1998.
- [74]. Gerhard. L, Métabolisme des végétaux ; physiologie et biochimie, 5^{ème} Edition, Allemand, 1988.
- [75]. Guignard. J.L, Biochimie végétale. Masson, Paris, 1996.
- [76]. Harkati. B, valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae, Scorzonera undulata, Thèse de Doctorat, Université Mentouri Constantine, 2011.
- [77]. Haslam. E, Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs : possible modes of action, J. Nat Pro, 59, 205-215, 1996.
- [78]. Scalbert. A, Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30 ; 3875-3883, 1991.
- [79]. Cowan. M.M, Plant Products as Antimicrobial Agents, Clin. Microbiol Re, 12,4, 564-582, 1999.
- [80]. Akroum. Souâd, Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Thèse de Doctorat en science, Université Frères Mentouri, 2010-2011.
- [81]. Kandra. L, Gyeman. G, Zajaez. A, Batta. G, Inhibitory effects of tannins of human salivary 106 alpha-amylase, Biochem. Biophys. Res. Commun, 319, 4 1265-71, 2004.
- [82]. Kocisko. D.A, Evaluation of new cell culture inhibitors of protease resistant prion protein against serape infection in mice, J. Gen. Verol, 85, 8, 2479-83, 2004.
- [83]. D.e Mejia. E.G, Tannins, Trypsin inhibitors and lectin cytotoxicity in therapy (Phaseolus cutifolins) and common (Phaseolus vulgaris), Plant Food Hum. Nutr, 60, 3, 137-45, 2006.

Références bibliographiques

- [84]. Gaffney. S, Williams. V, Flynn. P, Carlino. R, Mowry. C, Dierenfeld. E, Babb. C, Fan. J, Tramontano. W.A, Tannin/polyphenoleffects on ironsolubilization in vitro, BIOS, 75, 2, 43-52, 2004.
- [85]. Zimmer. Z, Cordesse. R, Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants, Prod. Anim, 9, 3, 167-79, 1996.
- [86]. Gedir. J. V, Sporns. P, Hudson R.J, Extraction of condensed tannins from cerviedfeed and feces and quantification using a radial diffusion assay, J. Chem. Ecol, 31, 12, 2761-73, 2005.
- [87]. Zhang. X. Y, Tanaka. T, Betsumiya. Y, Kusano. R, Association of tannins and related polyphenols with the peptide gramicidins, Chem. Pharm. Bull, 50, 2, 258-62, 2002.
- [88]. Goel. G, Puniya. A.K, Agnilar. C.N, Singh. K, Interaction of gut micro flora with tannins in feeds, Naturw, 92, 11, 497-503, 2005.
- [89]. Gilani. G.S, Cockell. K.A, Sepher. E, Effects of anti-nutritional factors on protein digestibility and amino acids availability in foods, J. AOAC. Int, 88, 3967-87, 2005.
- [90]. Bouakaz. I, Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala, Thésede magister, Université de Batna, 2006.
- [91]. Havsteen. B.H, The biochemistry and medical significance of the flavonoids, Pharmacol. Therapeut, P96, 67- 202, 2002.
- [92]. Bruneton. J, Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2^{ème}éd, Lavoisier-Paris, 1993.
- [93]. Bruneton. J, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4^{éd} , Lavoisier, paris, 2009.
- [94]. Bruneton. J, Pharmacognosie Phytochimie - Plantes médicinales, 5^{ème}Éd, Lavoisier, Paris. p 1504, 2015.
- [95]. Morreel. K, Goeminne. G, Storme. V, Sterck. L, Ralph. J, Coppieters. W, Breyne. P, Steenackers. M, Georges. M, Messens. E, Boerjan. W, Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in Populus: a case study, Plant J, 47, 224-37, 2006.

- [96]. Ono. E, Hatayama. M, Isono. Y, Sato. T, Watanabe. R, Yonekura. Sakakibara. K, Fukuchi. Mizutani. M, Tanaka. Y, Kusumi. T, Nishino. T, Nakayama. T, Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles, *Plant J*, 45, 133-43, 2006.
- [97]. Hashimoto. F, Jamal. Uddin A.F.M, Shimizu. K, Sakaba. Y, Multiple allelism in flavonoid hydroxylation in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. *Flowers, J. Japan Soc. Hort. Sci*, 73, 3, 235-240, 2004.
- [98]. Galvez. J, Crespo. J, Jimenez. J, Suarez. A, Zarzuelo. A, Antidiarrhoeic activity of quercetin in mice and rats. *J. Pharmacol*, 45: 157-9, 1993 a.
- [99]. Galvez. J, Zarzuelo. A, Crespo. J, Lorente. M.D, Acete. M.A, Jimenez. J, Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent, *Planta Med*, 59: 333-6, 1993 b.
- [100]. Martini. A, Katerere. D.R, Eloff. J.N, Seven flavonoids with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*, *J. Ethnopharmacol*, 93, 2-3, 207-12, 2004.
- [101]. Ouali. K, Trea. F, Toumi. L, Bairi. A, Maurel. D, Guellati. M.A, L'hespéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental, *Phytothér*, 5, 4, 204-209, 2007.
- [102]. Tomofuji. T, Ekuni. D, Irie. K, Azuma. T, Endo. Y, Tamaki. N, Sanbe. T, Murakami. J, Yamamoto. T, Morita. M, Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis, *J. Periodontol*, 80, 11, 1799-808, 2009.
- [103]. Ulanowska. K, Traczyk. A, Konopa. G, Wegrzym. G, Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains, *Arch. Microbiol*, 184, 5, 271-280, 2006.
- [104]. Babayi. H, Kolo. I, Okogum. J.I, The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms, *Biochemistry*, 16, 2, 2004.
- [105]. Ortuno. A, Baidez. A, Gomez. P, Arcas. M.C, Porras. I, Garcia-Lidon A, Del Rio. J.A, *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*, *Food Chem*, 98 (2), 2006.
- [106]. Choi .H.J, Song. J.H, Park. K.S, Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication, *Eur. J. Pharm. Sci*, 37 (3-4): 329-333, 2009.

Références bibliographiques

- [107]. Sadzuka. Y, Sugiyama. T, Shimoi. K, Kinae. N, Hirota. S, Protective effect of flavonoids on doxorubicin induced radiotoxicity, *Toxicoll. Lett*, 92(1): 1-7, 1997.
- [108]. Ding. EL, Hutfless. S.M, Ding. X, Girotra. S, Chocolate and prevention of cardiovascular disease: A systematic review, *Nutr. Metab*, 3: 2, 2006.
- [109]. Morikawa. K, Nonaka. M, Mochizuki. H, Handa. K, Hanada. H, Hirota. K, Naringenin and hesperetin induce growth arrest, apoptosis, and cytoplasmic fat deposit in human preadipocytes, *J. Agric. Food Chem*, 56 (22), 2008.
- [110]. Park. H.H, Lee. S, Son. H.Y, Park. S.B, Kim. M.S, Choi. E.J, Singh. T.S, Ha. J.H, Lee. M.G, Kim. J.E, Hyun. M.C, Kwon. T.K, Kim. Y.H, Kim. S.H, Flavonoids inhibit histamine release and expression of pro-inflammatory cytokines in mast cells, *Arch. Pharm. Res*, 31(10), 2008.
- [111]. Chen. H.Q, Jin. Z.Y, Wang. X.J, Xu. X.M, Deng. L, Zhao. J.W, Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation, *Neurosci. Lett*, 448, 2, 2008.
- [112]. Yao. K, Zhang. L, Zhang. Y, Ye. P, Zhu. N, The flavonoid, fisetin, inhibits UV radiation induced oxidative stress and the activation of NF-kappaB and MAPK signaling in human lens epithelial cells, *Mol. Vis*, 14: 1865-1871, 2008.
- [113]. Yang. R. Y, Lin. S, et Kuo. G, Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species, *Asia of Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17 (S1) : 275-279, 2008.
- [114]. Vincken. J-P, Heng. L, DE Groot. A, Gruppen. H, Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom, *Phytochemistry*, 68, 2007.
- [115]. Eskandar. Moghimipour, Somayeh. Handali, *Saponin: Properties, Method of Evaluation and Applications*, *Annual Research & Review in Biology*, 5(3): 207-220, 2015.
- [116]. Abid. Ali. Khan. MM, Naqvi. T.S, Naqvi. M.S, Identification of phytosaponins as novel biodynamic agents: an updated overview, *Asian J Exp Biol. Sci*, 3, 3, 459-467, 2012.
- [117]. Valnet. J, *Aromathérapie traitement des maladies par les essences de plantes*, 10^{ème} édition, Maloine S.a, Paris, p 544, 1984.
- [118]. Tiwari. R, Awasthi. A, Mall. M, Shukla. A. K, Srinivas. K.V.N. S, Syamasundar. K.V, Kalra. A, Bacterial endophyte-mediated enhancement of in planta content of key terpenoid indole alkaloids and growth parameters of *Catharanthus roseus*, *Industrial Crops and Products* 43, 306– 310, 2013.

- [119]. Glenn. W. S, Runguphan. W, S. E O'Connor, Recent progress in the metabolic engineering of alkaloids in plant systems, *Current Opinion in Biotechnology* 24: 354–365, 2013.
- [120]. Mafart. P, E. Béliard, *Génie Industriel Alimentaire techniques séparatives*, Paris, Techniques et Documentation, Lavoisier, 1993.
- [121]. Dibert. K, contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert, Thèse de Doctorat en Science et technologie industrielle de la chimie, LYON, Claude Bernard LYON I, 1989.
- [122]. Binbenet. J. J, A. Duquenoy, Guinot. Francois, Trystram. Gilles, *Génie des procédés alimentaires des bases aux applications*. 1ST Edition, Paris, Dunod, 2002.
- [123]. Leybros. J, Fremeaux. P, *Extraction solide-liquide aspects théoriques*. Techniques de l'ingénieur, *Génie des procédés*. Vol. (2J2780):J2780.1-J2780.22, 1990.
- [124]. Bouchouka. E, *Extraction des polyphénols et étude des activités anti-oxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes*, Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar–Annaba, 2016.
- [125]. Kumar. U, Kumar. B, Bhandari. A, Kumar. Y, Phytochemical investigation and comparison of antimicrobial screening of clove and cardamom. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1, 138-147, 2010.
- [126]. Müller. L, Gnoyke. S, Popken. A.M, V. Böhm V, Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations, *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999, 2010.
- [127]. Topçu. G, Ay. A, Bilici. A, Sarıkürkcü. C, Öztürk. M., Ulubelen.. A, A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*, *Food Chemistry* 103: 816–822, 2007.
- [128]. Musa. K. H, Abdullah. A, Al-Haiqi. A, Determination of DPPH free radical scavenging activity : Application of artificial neural networks, *Food Chemistry*, 194, 705–711, 2016.
- [129]. Nithya. P, Madhavi. C, Antioxidant activity of 3-arylidene-4-piperidones in the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl scavenging assay, *Journal of Taibah University for Science*, 11(1), 40–45, 2017.
- [130]. Hamlaoui. I, Bencheraiet. R., Bensegueni. R, Bencharif. M, Experimental and theoretical study on DPPH radical scavenging mechanism of some chalconequinoline derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1156, 385–389, 2018.

Références bibliographiques

- [131]. Blois. M.S, Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200, 1958.
- [132]. N. J. Miller, C. A. Rice-Evans, The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chem.*, 60, 331-337.3, 1997.
- [133]. M. B. Arnao, A. Cano, M. Acosta, The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, *Food Chem*, 73, 239-244., 2001
- [134]. O. Benavente-Garcia, J. Castillo, J. Lorente, Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L leaves, *Food Chem*, 68, 457-462, 2000 .
- [135]. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med*, 26, 1231-1237, 1999.
- [136]. E. J. Lien, S. Ren, H. H. Bui, R. Wang, Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants, *Free Radic. Biol. Med*, 26, 285-294, 1999.
- [137]. R. Van Den Berg, G. R. Haenen, H. Van Den Berg, The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay, *Food Chem*, 70, 391-395, 2000.
- [138]. Re. R, Pellegrini. N, Proteggente. A, Pannala. A, Yang. M, Rice-Evans. C, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Bio. Med*, 26, 1231–1237, 1999.
- [139]. Pellegrini. N, Serafini. M, Colombi. B, Del Rio, D, Salvatore. S, Bianchi. M, Brighenti. F, Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays, *Journal of Nutrition*, 133, 2812-2819, 2003.
- [140]. Chou S.-T, Chao. W.-W, Chung. Y.-C, Antioxidative Activity and Safety of 50% Ethanol Red Bean Extract (*Phaseolus radiatus* L. var. Aurea). *Journal of Food Science*. 68, 21-25, 2003.

Références bibliographiques

- [141]. Szydłowska. Czerniak, A. Dianoczki. C, Recseg. K, Karlovits. G, Szlyk. E, Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods, *Talanta*, 76, 899-905, 2008.
- [142]. Adhikamsetty. R.K, Gollapalli. N.R, Jonnalagadda. S.B, Complexation kinetics of Fe²⁺ with 1,10-phenanthroline forming ferro ion in acidic solutions, *International Journal of Chemical Kinetics*, 40, 515-523, 2008.
- [143]. Apak. R, K. Azyurek. M, Karademir. S. E, 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, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981, 2004
- [143]. Apak. R, K. Azyurek. M, Karademir. S. E, 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, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981, 2004.
- [144]. Szydłowska. Czerniak A, Dianoczki. C, Recseg. K, Karlovits. G, Szlyk. E, Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods, *Talanta*, 76, 899-905, 2008.
- [145]. Glatz. Z, Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography B*, 841, 23-37, 2006.
- [146]. Nair. S.S, Kavrekar. V, Mishra. A, In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts, *European Journal of Experimental Biology*. 3, 128-132, 2013.
- [147]. Khan. M, Alam. A, Khan. K.M, Salar. U, Chigurupati. S, Wadood. A, Ali, F, Mohammad. J.I, Riaz. M, Perveen. S, Flurbiprofen derivatives as novel α -amylase inhibitors: Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation. *Bioorganic Chemistry*. 81, 157-167, 2018.
- [148]. Boursier. B, Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires, *Techniques de l'Ingénieur*, 33-38, 2005.

Références bibliographiques

- [149]. G. Zengin, Abdurrahman. Aktumsek, Cengiz. Sarikurkcu, Olcay. Ceylan, Ramazan Ceylan, A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss, Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes, *Industrial Crops and Products* 53, 244–251, 2014.
- [150]. R. Randhir, K. Shetty, Improved α -amylase and *Helicobacter pylori* inhibition by fenugreek extracts derived via solid-state bioconversion using *Rhizopus oligosporus*, *Asia Pac J Clin Nutr*, 16 (3), 382-392, 2007.
- [151]. Ellman. G.L, Courtney. K.D, Andres. V, Featherston. R.M, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem Pharmacol*, 7, 88–95, 1961.
- [152]. Till. Myrach, Anting. Zhu, X. Claus-Peter. Witte, The assembly of the plant urease activation complex and the essential role of the urease accessory protein G (UreG) in delivery of nickel to urease, *J. Biol. Chem*, 292(35) 14556–14565, 2017.
- [153]. Muhammad. Taha, Hayat. Ullah, Laode. Muhammad. Ramadhan. Al Muqarrabun, Muhammad. Naseem. Khan, Fazal. Rahim, Norizan. Ahmat, Muhammad. Tariq. Javid, Muhammad. Ali, Khalid. Mohammed. Khan, Bisindolylmethanethiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26, 152–160, 2018.
- [154]. Sánchez. Vioque. R, Polissiou. M, Astraka. K, Mozos. Pascual. M. de los, Tarantilis. P, Herraiz. Peñalver. D, and Santana. Méridas. O, Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Industrial Crops and Products*. 49, 150-159, 2013.
- [155]. Yokozawa. T, Chen. C.P, Dong. E, Tanaka. T, Nonaka. G.I, Nishioka. I, Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. *Biochemical Pharmacology*. 56, 213-222, 1998.
- [156]. Von Gadow. A, Joubert. E, Hansmann. C.F, Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 632-638, 1997.

Références Bibliographiques

[157]. Gülçin, İ, Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 11, 210-218, 2004.

[158]. Chung. Y.C, Chang. C.T, Chao. W.W, Lin. C.F, Chou. S.T, Antioxidative Activity and Safety of the 50 Ethanol Extract from Red Bean Fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *J. Agric. Food Chemistry*. 50, 2454-2458, 2002.

[159]. Amarowicz. R, Pegg. R.B, Rahimi. Moghaddam. P, Barl. B, Weil. J.A, Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84, 551-562, 2004.