



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université Abbas Laghrour-Khenchela-
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de
Master Académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème

Evaluation de l'activité antioxydante d'une plante médicinale *Atriplex mollis* Desf

Présenté par :

M^{me}. Allaoui Nabila, M^{elle}. Benabbes Romaiassa

Date de soutenance

06/2024

Membres du jury :

Présidente : M^{me} Naili Oumaima (MCA) Université Abbas Laghrour Khenchela
Promotrice: M^{me} Arab Yasmine (MCB) Université Abbas Laghrour Khenchela
Examinatrice: M^{me} Krim Meriem (MCB) Université Abbas Laghrour-Khenchela

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, pour nous avoir donné la force et la patience nécessaires à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Madame ARAB Yasmine, notre encadrante de mémoire, pour son écoute attentive, sa disponibilité constante, et surtout pour sa patience ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps précieux qu'elle nous a accordés tout au long de ce projet.

Nous remercions sincèrement les membres du jury :

Madame Naili Oumaima pour avoir accepté de présider ce travail.

Madame KRIM Meriem , pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profonds remerciements vont également aux enseignants du département de Biologie pour leur soutien et leurs enseignements.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés durant la réalisation de ce mémoire.

Merci à toutes et à tous.

Dédicace

Avec l'aide de BON DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À l'âme de la prunelle de mes yeux, ma chère mère, qui m'a accompagnée par la bénédiction de ses prières. Que Dieu lui fasse miséricorde et l'accueille en Son vaste paradis.

À mon cher père, que Dieu le protège et le garde.

À mes chers frères : ABDELHALIM et ABDELLATIF, qui sont mon soutien après Dieu. À mes chères sœurs.

À mon époux, et mes enfants, la joie de mon cœur.

À ma chère collègue d'étude, ROMAÏSSA.

À tous mes enseignants depuis mes premières années d'étude.

À tous mes collègues des promotions Master 1 et 2 Biochimie, avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant cette années.

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail,

Je leur dis « Merci ». ♥

NABILA

Dédicace

Avec l'aide de BON DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

*À ma chère mère, mon cœur et ma vie
Vous me représentez la source de tendresse. Tu n'as jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*À mon cher père,
Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eus pour vous.*

À mes chères sœurs : RANIN et BOUCHRA

*À ma chère collègue d'étude, Nabila,
À toutes mes amies.*

À tous mes enseignants depuis mes premières années d'étude.

À tous mes collègues des promotions Master 1 et 2 Biochimie, avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant cette années.

*À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail,
Je leur dis « Merci ». ♥*

ROMAISSA

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	III
Introduction	1

Partie 01 : Revue bibliographique

Chapitre I: *Atriplex mollis* Desf

I. Présentation du genre <i>Atriplex</i>	3
II. <i>Atriplex mollis</i> Desf	3
II.1. Classification.....	3
II.2. Description botanique	4
II.3. Répartition géographique.....	4
II.4. Composition chimique	4

Chapitre II : Les métabolites secondaires

I. Les métabolites secondaires.....	6
I.1. L'intérêt des métabolites secondaires	6
II. Classification des métabolites secondaires.....	7
II.1. Polyphénols.....	7
II.1.1. Les acides phénoliques	7
II.1.2. Les flavonoïdes.....	7
II.1.3. Les Tanins.....	7
II.1.4. Les lignines.....	8
II.1.5. Coumarines	8

II.1.6. Stilbènes.....	8
II.2. Les alcaloïdes.....	8
II.3. Les Terpènes	8

Chapitre III : Le stress oxydatif

I. Le stress oxydant.....	10
I.1. Les radicaux libres	10
I.1.1. Définition	10
I.1.2. Source des radicaux libres	10
I.1.3. Rôle physiologique des radicaux libres	11
I.2. Impacts du stress oxydatif sur l'organisme.....	12
I.2.1. L'oxydation des protéines	12
I.2.2. L'oxydation de l'ADN	13
I.2.3. L'oxydation des Lipides	13
I.3. Systèmes Antioxydants	13
I.3.1. Classification d'antioxydants	13
I.3.1.1. Antioxydant enzymatique	13
I.3.1.2. Les antioxydants non enzymatiques :	14
I.3.1.2.1. Le système antioxydant non enzymatique d'origine exogène	14
I.3.1.2.2. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène	15
I.3.1.2.3. Le système antioxydant non enzymatique d'origine alimentaire	15

Partie 02 :Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes	17
I.1. Réactifs chimiques utilisés	17
I.2. Appareillage	17
II. Etude phytochimique	17
II.1. Le matériel végétal.....	17
II.2. L'extraction	17

II.3. Analyse quantitative.....	17
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux	17
II.3.1.1. Le principe	18
II.3.1.2. Mode opératoire.....	18
II.3.1.3. Expression des résultats.....	18
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	18
II.3.2.1. Principe	18
II.3.2.2. Mode opératoire.....	18
II.3.2.3. Expression des résultats.....	19
II.4. Activité antioxydante	19
II.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	19
II.4.1.1. Principe	19
II.4.1.2. Mode opératoire.....	19
II.4.1.3. Expression des résultats.....	19
II.5. Analyse statistique	20

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Détermination de rendement de l'extraction.....	21
I.1. Analyse quantitative	21
I.1.1. Teneur des polyphénols totaux	21
I.1.2. Teneur des flavonoïdes totaux	22
II. Activité antioxydant	23
II.1. Activité antiradicalaire (DPPH).....	23
II.2. Détermination d'IC ₅₀	24
III.3. Discussion.....	24
Conclusion.....	27
Références bibliographiques	28

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, l'objectif de notre travail est porté sur l'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi que l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait brut de la plante *Atriplex mollis* Desf, qui appartient à la famille des Chenopodiaceae. Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait méthanolique est de l'ordre de 23%. L'analyse quantitative des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 , a révélé la présence des quantités respectives de $98,94 \pm 0,31 \mu\text{g}$ et $36,52 \pm 0,21 \mu\text{g EQ/mg E}$. En outre, l'étude du pouvoir antioxydant de l'extrait vis-à-vis du DPPH a confirmé les puissantes propriétés de l'extrait à piéger les radicaux libres avec un IC_{50} égal à $6,24 \pm 0,025 \mu\text{g/mL}$. Les résultats obtenus contribuent à prouver que l'extrait méthanolique de la plante *Atriplex mollis* exerce un effet antiradicalaire très acceptable et peut être utilisé comme source d'antioxydants naturels.

Mots clés : *Atriplex mollis*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

Abstract

In the context of discovering new antioxidants from natural sources, the objective of our work focuses on the quantitative analysis of total polyphenols and flavonoids, as well as the evaluation of the antioxidant power of the crude extract of the plant *Atriplex mollis* Desf., which belongs to the Chenopodiaceae family. The results obtained show that the yield of the methanolic extract is around 23%. The quantitative analysis of total phenols using the Folin-Ciocalteu method and flavonoids using the AlCl₃ method revealed the presence of quantities of $98.94 \pm 0.31 \mu\text{g}$ and $36.52 \pm 0.21 \mu\text{g EQ/mg E}$, respectively. Furthermore, the study of the antioxidant power of the extract against DPPH confirmed the strong properties of the extract to scavenge free radicals with an IC₅₀ equal to $6.24 \pm 0.025 \mu\text{g/mL}$. The results obtained contribute to proving that the methanolic extract of the plant *Atriplex mollis* exerts a very acceptable antiradical effect and can be used as a source of natural antioxidants.

Keywords: *Atriplex mollis*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.

الملخص

في إطار اكتشاف مضادات الأكسدة الجديدة من المصادر الطبيعية، يهدف عملنا إلى التحليل الكمي للبولىفينولات الكلية والفلافونويدات وكذلك تقييم القدرة المضادة للأكسدة للمستخلص الخام من نبات *Atriplex mollis* Desf، الذي ينتمي إلى عائلة Chenopodiaceae أظهرت النتائج أن المردود من المستخلص الميثانولي يصل إلى حوالي 23%. كشف التحليل الكمي للفينولات الكلية باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu و الفلافونويدات باستخدام طريقة $AlCl_3$ عن وجود كميات بلغت على التوالي 0,31±98.94 ميكروغرام لحمض الجالليك_ملغ من المستخلص و 0,21± 36,52 ميكروغرام لحمض الكيرسيتين / ملغ من المستخلص. بالإضافة إلى ذلك، أكدت الدراسة القدرة المضادة للأكسدة للمستخلص تجاه DPPH خصائص قوية في اعتراض الجذور الحرة بقيمة IC_{50} مساوية لـ 0,025 ± 6,24 ميكروغرام/مل. تساهم النتائج المتحصل عليها في إثبات أن المستخلص الميثانولي من نبات *Atriplex mollis* له تأثير مقبول في مكافحة الجذور الحرة، ويمكن استخدامه كمصدر طبيعي لمضادات الأكسدة الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: *Atriplex mollis*، البولىفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة.

I-Liste des abréviations

- **AlCl₃** : chlorure d'aluminium
- **CoQ₁₀** : Coenzyme
- **CPG** : Chromatographie en Phase
- **DPPH**: 2,2- Diphényle-1-picrylhydrazil
- **EAG**: Electroantennographie
- **ERN**: Endoplasmic Reticulum Nucleus signaling
- **ERO**: Enzyme Releasing Oxygen
- **GSH**: Glutathione
- **GSSG**: Glutathione disulfide
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- **HOCL** : Acide hypochlorique
- **HPLC-DAD** : Chromatographie Liquide Haute Performance avec Détection par Réseau de Diodes.
- **IC₅₀** : Concentration Inhibitrice à 50%.
- **Na₂CO₃** : carbonate de sodium
- **NAD(P)H**: Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Phosphate) Hydrogen
- **NQO1**: oxidoreductase 1
- **ONOO⁻**: Peroxynitrite
- **P 450**: Cytochrome P450
- **Prxs**: Peroxiredoxines
- **ROS**: Reactive Oxygen Species
- **Trxs**: Thioredoxines

II-Liste des figures

Figure 1. Morphologies de la plante <i>Atriplex mollis</i> Desf.	4
Figure 2. Balance déséquilibré par stress oxydant	10
Figure 3. Diverses cibles des espèces réactives de l'oxygène	12
Figure 4. Mécanisme de réaction entre le DPPH l'antioxydant.....	19
Figure 5. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.	21
Figure 6. Droite d'étalonnage de la quercétine.	22
Figure 7. Pourcentage d'inhibition de l'extrait et de l'acide ascorbique.....	23

III-Liste des tableaux

Tableau 1. Classification d' <i>Atriplex mollis</i>	3
Tableau 2. Principaux sources production des radicaux libres	11
Tableau 3. Le rendement de l'extrait méthanolique d' <i>Atriplex mollis</i>	21
Tableau 4. Teneur en polyphénols d'extrait méthanolique de plante <i>Atriplex mollis</i> Desf. ...	22
Tableau 5. teneur en flavonoïdes l'extrait méthanolique de la plante <i>Atriplex mollis</i> Desf	22
Tableau 6. Les calculs des IC ₅₀ d'extrait et d'acide ascorbique.	24

Introduction

Introduction

L'Algérie, grâce à sa diversité climatique et à sa position géographique, abrite une richesse remarquable en espèces naturelles, qui jouent un rôle crucial dans l'équilibre écologique. Les plantes médicinales algériennes sont dignes d'une attention particulière, avec environ 3139 espèces répertoriées (**Quézel et Santa, 1962**).

La famille des Chenopodiaceae sont répandues dans le monde entier, mais elles ont une forte préférence pour les sols argileux salins, vivant principalement dans des climats arides et semi-arides en tant qu'arbustes xéro-halophytes (**Glenn et Brown,1998**).

Plus de 400 espèces d'*Atriplex* ont été identifiées. Le bassin méditerranéen compte 40 à 50 espèces d'*Atriplex*, dont 15 poussent en Algérie (**Smail-Saadoun,2005 ; Ortíz-Dorda et al.,2005**). On outre, ils sont caractérisés par le haut degré de tolérance à l'aridité et à la salinité ; et pour procurer des fourrages riches en protéines et en carotène (**Maâlem, 2002**). L'étude phytochimiques précédentes de certaines espèces d'*Atriplex* ont rapporté la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires tels que les saponines, les glycosides, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les protéines, ainsi que les acides aminés et les alcools à longue chaîne. De plus, elles se caractérisaient par de grandes quantités de composés dérivés du soufre et de minéraux. En particulier, la teneur en protéines et en acides aminés variait au cours de la croissance de la plante (**Ksouri et al.,2012 ; Krishchenko et al.,1984**).

Atriplex mollis présent en Algérie, en Tunisie et en Libye, est très tolérant aux conditions d'aridité et de salinité élevées et seule espèce de son genre (**Teresa et Joan ,2020**). D'après la littérature, aucune investigation phytochimique sur les parties aériennes de L'*Atriplex mollis* Desf n'a été précédemment rapportée. Cela nous a incités à choisir cette espèce pour une étude phytochimique dans le but de quantifier les composés phénoliques et les flavonoïdes ainsi que d'évaluer *in vitro* leur potentiel antioxydant.

Pour atteindre cet objectif, le présent mémoire se subdivise en deux grandes parties :

- La première consiste en une partie bibliographique qui a pour objet de donner des informations sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur le stress oxydatif, les radicaux libres et les antioxydants.

- Dans la partie pratique, nous avons focalisé dans le premier chapitre sur le matériel et les méthodes utilisées dans notre travail, notamment, les méthodes utilisées pour le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que L'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait en utilisant le test DPPH. Dans le deuxième chapitre nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions.

Pour terminer, une conclusion sur l'ensemble de cette étude, ainsi que les perspectives dégagées.

*Partie 01 : Revue
bibliographique*

Chapitre I :

Atriplex mollis **Desf**

I. Présentation du genre *Atriplex*

Les *Atriplex* sont des plantes halophytes dotées d'une série de caractères écologiques et physiologiques permettant la croissance et la reproduction dans un environnement salin (Haddioui et Baaziz, 2006). Le genre *Atriplex* compte plus de quatre cent espèces réparties dans les différentes régions arides et semi-arides du monde. Il est particulièrement répandu en Australie où on peut déterminer une grande diversité d'espèces et de sous-espèces. Le genre *Atriplex* inclut 48 espèces et sous espèces dans le bassin méditerranéen (Maâlem, 2002). Les espèces du genre *Atriplex* sont caractérisées par le haut degré de tolérance à l'aridité et à la salinité, et pour procurer des fourrages riches en protéines et en carotène. Par ailleurs, elles ont la propriété de produire une abondante biomasse foliaire et de la maintenir active durant les périodes défavorables de l'année (Maâlem, 2002).

II. *Atriplex mollis* Desf

II.1. Classification

La classification de cette plante est comme suit :

Tableau 1. Classification d'*Atriplex mollis* (Quezel et Santa, 1962).

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Sous-règne	Spermaphytes
Super division	Spermatophyta
Division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Caryophyllades
Famille	Chénopodiaceae
Genre	<i>Atriplex</i>
Espèce	<i>Atriplex mollis</i>

II.2. Description botanique

Plantes basses ne dépassant guère 50 cm ; à feuilles bien plus petites (1-2 cm). Tiges dressées. Périanthe fructifère grand de 1 cm environ, orbiculaire, papyracé et lisse. Buisson très rameux à tiges blanchâtres (Figure 1).

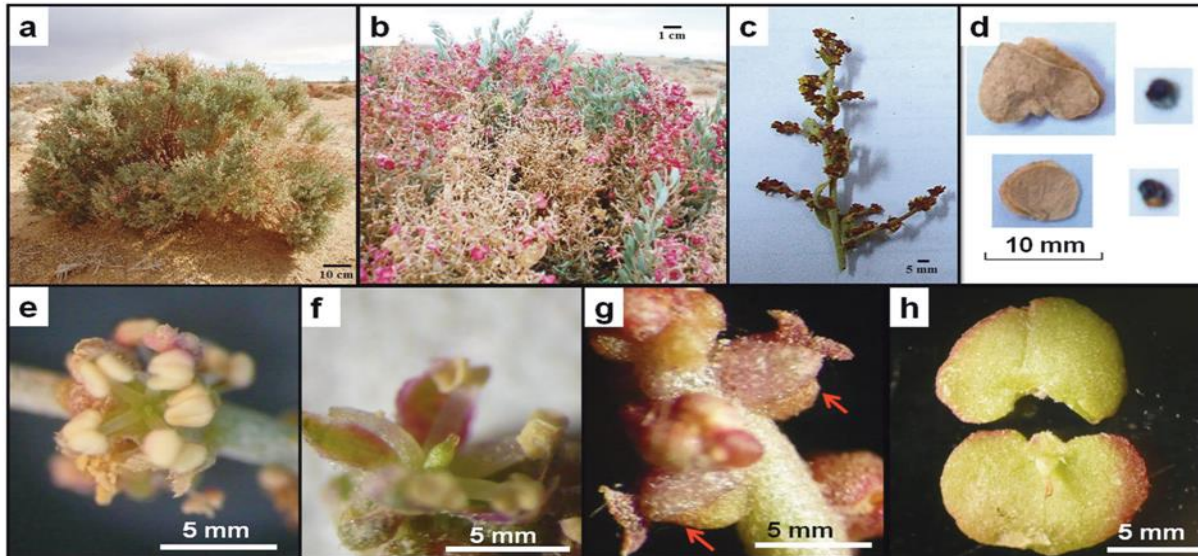


Figure 1. Morphologies de la plante *Atriplex mollis* Desf. (a) Plante en site naturel, (b) inflorescence, (c) branche florale, (d) graines mûres avec et sans bractéoles. (e) fleur mâle fonctionnelle avec 5 étamines. (f) fleur hermaphrodite. (g) fleur femelle fonctionnelle sous la flèche, et (h) bractéoles avec graine prématurée (Tili et al., 2019).

II.3. Répartition géographique

Parmi les espèces indigènes de la frontière sud du bassin méditerranéen (Afrique du Nord), *Atriplex mollis* Desf. a été signalée en Tunisie, en Algérie et en Libye comme endémique (Greuter et al., 1984) et a été observée plus tard en Grèce (Crète, La Canée et l'île de Gavdopoula) comme un arbuste supra littoral (Greuter and Raus, 1999). *Atriplex mollis* Desf. est une plante xérophile largement présente dans les régions steppiques et désertiques d'Algérie. Elle prospère particulièrement dans les zones arides des Hauts Plateaux et du Sahara algérien, notamment autour de Ouargla, Ghardaïa, et El Oued. Adaptée aux conditions climatiques extrêmes, cette espèce supporte les précipitations très faibles et les températures élevées de ces régions. La répartition géographique de *Atriplex mollis* en Algérie témoigne de sa remarquable capacité à survivre dans des environnements hostiles et pauvres en eau (Doe, 2023).

II.4. Composition chimique

L'analyse chimique d'*A. mollis* par la méthode HPLC-DAD a montré la présence des divers constituants appartenant à trois classes chimiques importantes : les acides phénoliques, les monoterpènes et les flavonoïdes. L'extrait d'acétate d'éthyle était le plus riche en composés

phénoliques par rapport aux extraits de chloroforme et *n*-butanol. Il était caractérisé par de grandes quantités d'acide *p*-hydroxybenzoïque, de rutine et de catéchine avec les plus fortes concentrations dans certaines fractions isolées (115 µg/g, 65 µg/g et 34 µg/g, respectivement). Il est également important de noter que l'épicatéchine, l'acide 3-OH,4-MeO benzoïque et l'acide benzoïque ont été identifiés dans trois sous-fractions de l'extrait d'acétate d'éthyle à des concentrations plus faibles. Seize composés ont été détectés dans les fractions isolées de l'extrait de chloroforme, avec des concentrations élevées d'épicatéchine, d'acide *p*-coumarique et d'acide vanillique (158 µg/g, 24,9 µg/g et 42,2 µg/g, respectivement). Le carvacrol a également été identifié dans l'extrait de chloroforme avec une concentration de 0,44 µg/g dans la fraction F7. Enfin, huit composés ont été évalués dans l'extrait de *n*-butanol (*n*-BuOH), qui s'est avéré être le moins riche en composés phénoliques, parmi lesquels la flavonoïde rutine (12,3 µg/g), l'acide phénolique acide 3-hydroxybenzoïque (1,5 µg/g) et le monoterpène carvacrol (0,15 µg/g). Collectivement, un profil phénolique spécifique avec des quantités prédominantes de rutine, d'acide 3-hydroxybenzoïque et d'acide chlorogénique a été mis en évidence par ces analyses (Boutaoui et al., 2018).

*Chapitre02 : Les
métabolites secondaires*

I. Les métabolites secondaires

Dans la nature, on trouve deux principaux groupes de métabolites. Les métabolites primaires comme les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques, sont universels et présents chez tous les organismes vivants. Et les métabolites secondaires se trouvent uniquement chez certains organismes, notamment les plantes médicinales. Ces plantes possèdent des propriétés thérapeutiques remarquables et une grande diversité de métabolites secondaires (**Bakkali et al., 2008**).

Le terme "métabolite secondaire" désigne diverses molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref,2018**). En générale, ils sont des substances organiques de petite taille, souvent inférieure à 1000 Da en masse moléculaire (**Naik and al-khayri, 2016**).

I.1. L'intérêt des métabolites secondaires**✓ En agronomie**

Le rôle de ces composés dans la protection des cultures est bien établi : ils confèrent une résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes et à certains insectes (**Raven et al., 2000**).

✓ En pharmacologique

Les métabolites secondaires représentent la fraction la plus active des composés chimiques présents dans les plantes. On estime qu'environ un tiers des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une de ces substances d'origine végétale (**Newman et Cragg, 2012**).

✓ En alimentation

Les épices et les herbes aromatiques, qui contiennent divers métabolites, sont considérés comme des condiments et des aromates (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

✓ En cosmétique

On les retrouve dans les produits de beauté, les parfums, les articles de toilette et les produits d'hygiène (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

II. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires se classent selon leur structure chimique, composition, solubilité dans divers solvants, ou voie de synthèse. Le système de classification principal inclut trois grandes catégories : les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques. Chaque catégorie comprend des sous-classes aux structures variées (Justin *et al.*, 2014).

II.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés chimiques naturels présents dans les plantes, connus pour leurs propriétés antioxydantes (Seymour *et al.*, 2018). On les trouve dans divers organes des plantes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Bruneton, 1999). Ils incluent plusieurs classes comme :

II.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent un groupe de métabolites secondaires largement répandus dans les plantes (Chen *et al.*, 2012). Les acides phénoliques sont indispensables pour les fonctions normales des plantes. Ils jouent un rôle crucial dans la résistance aux agents pathogènes et aux herbivores, favorisent la croissance, influent sur la couleur et les caractéristiques sensorielles des plantes, et contribuent à prévenir le stress oxydatif (Challacombe *et al.*, 2012). Ils sont principalement divisés en deux sous-groupes : Acides hydroxycinnamiques, Acides hydroxybenzoïques (Hart *et al.*, 1981).

II.1.2. Les flavonoïdes

Selon Dóka *et al.* (2011) Les flavonoïdes représentent une catégorie significative de composés phénoliques présents dans les plantes supérieures. Cette famille comprend plus de 6500 molécules, toutes partageant un squelette composé de 15 atomes de carbone (Chae *et al.*, 2013). Ils sont classés en six sous-groupes principaux : flavonols, flavones, isoflavones, flavanones, anthocyanidines et flavanols, chacun caractérisé par des variations dans leur structure chimique et leurs propriétés biologiques (Slimestad *et al.*, 2005).

II.1.3. Les Tanins

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques hydrosolubles, caractérisés par des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Da (Sereme *et al.*, 2010). En raison de leur puissante capacité antioxydante et de leur potentiel effet protecteur sur la santé humaine, les tanins végétaux suscitent un vif intérêt dans les domaines de la nutrition et de la médecine, comme l'ont souligné (Oszmianski *et al.*, 2007). Deux sous-classes se distinguent encore parmi les tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Cette première sous-classe a une structure de base de polyesters d'acide gallique et d'ellagitannines, la seconde sous-classe des tannins condensés correspond aux polymères d'unités catéchiques (Bravo, 1998).

II.1.4. Les lignines

C'est l'un des polymères biosourcés les plus présents sur terre. C'est le polymère aromatique naturel le plus abondant (Tsao, 2010). Sous les contraintes de la gravité, la lignine est apparue principalement pour rigidifier les parois cellulaires. Cette rigidité est essentielle pour la croissance verticale des plantes et leur capacité à transporter l'eau et les nutriments. De plus, la lignine confère une protection contre les agents pathogènes et la dégradation enzymatique (Cruz et al., 2001).

II.1.5. Coumarines

Les coumarines des molécules largement répandues dans le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones. Elles sont considérées comme les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques (Kawsar et al., 2008).

II.1.6. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques issus du métabolisme secondaire végétal et qui dérivent de la voie des phénylpropanoïdes. Les stilbènes sont composés de deux noyaux phényles reliés entre eux par un double pont éthène pouvant exister sous deux formes : la forme trans (E) et la forme cis (Z). cette dernière étant obtenue par photoisomérisation ou par l'action de la chaleur (Mérillon et al., 1997).

II.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels principalement dérivés des plantes, caractérisés par la présence d'au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, souvent avec une propriété basique. Leur synthèse se fait à partir d'acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Bhat et al., 2005). Ils figurent parmi les composés les plus significatifs en termes d'efficacité pharmacologique et médicinale (Guignard, 2000). Ils ont des propriétés thérapeutiques ou toxiques (Delille, 2007). On les classe sous trois groupes :

- **Les alcaloïdes vrais** : l'azote inclus dans un hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes.

- **Les proto-alcaloïdes** : ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique, ils ont une structure proche des amines (Guignard, 2000).

- **Les pseudo-alcaloïdes** : ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des Alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Bruneton, 1999).

II.3. Les Terpènes

Les terpènes sont les composants les plus abondants dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999), L'enchaînement de molécules isopréniques (5 atomes de carbones) conduit à la formation de plus de 20000 molécules terpéniques différents, ceux-ci sont classés en

monoterpènes (deux unités d'isoprène), sesquiterpènes (trois unités d'isoprène), diterpènes (quatre unités d'isoprène), triterpènes (six unités d'isoprène), tétra terpènes (huit unités d'isoprène) (**Gallagher et *al.*, 2010**).

Chapitre III : Le stress oxydatif

I. Le stress oxydant

Le stress oxydant survient lorsque le corps est incapable de neutraliser efficacement les radicaux libres, des molécules instables qui peuvent endommager les cellules, l'ADN et les protéines. Ce déséquilibre résulte de divers facteurs comme la pollution, le tabagisme, une mauvaise alimentation et le stress. Bien que le corps dispose de mécanismes de défense naturels, comme les enzymes antioxydantes et les vitamines, un stress oxydatif excessif peut entraîner des problèmes de santé (Haleng *et al.*, 2007).

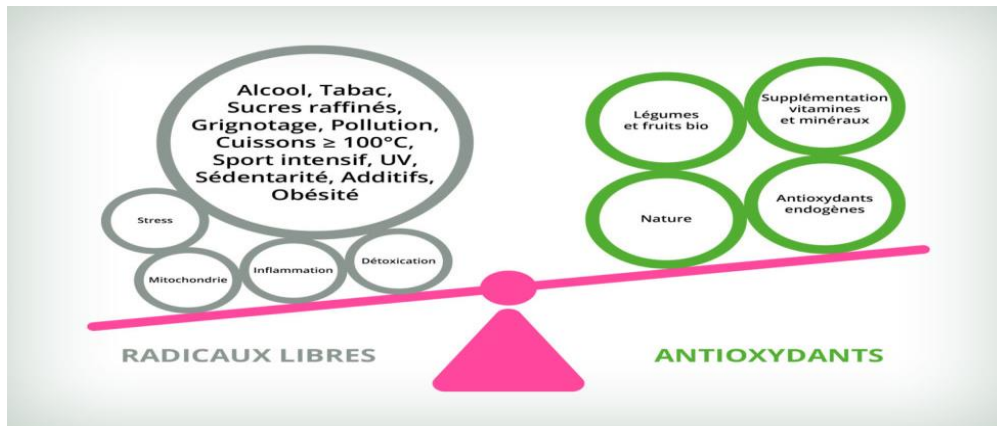


Figure 2. Balance déséquilibrée par stress oxydatif (Berdoulat, 2020).

I.1. Les radicaux libres

I.1.1. Définition

Les radicaux libres sont des molécules chimiques contenant un ou plusieurs électrons non appariés, les rendant très réactives. Ils sont définis comme des entités chimiques ayant un ou plusieurs électrons non appariés dans leur couche externe, les rendant hautement réactifs et susceptibles de réagir avec d'autres molécules (Halliwell et Gutteridge, 2015). Anion superoxyde (O_2^-), Monoxyde d'azote (NO), Radical alkoxy (RO), Radical hydroxyle (OH), Radical peroxy (ROO), Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

I.1.2. Source des radicaux libres

La mitochondrie, principale source de production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la cellule et l'organisme, génère environ 2 % de l'oxygène utilisé par ce compartiment cellulaire. Ce processus se produit au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale où environ 2 % de l'oxygène subit une réduction mono-électronique, conduisant ainsi à la formation de l'ion superoxyde (O_2^-), qui agit en tant que précurseur des ERO (Berger *et al.*, 2006 ; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2007). Les radicaux libres peuvent être d'origine exogènes ou endogènes. Le tableau suivant résume les principales sources des radicaux libres.

Tableau 2. Principaux sources production des radicaux libres (Pincemail et al.,2001).

Endogène	Exogène
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Altération du transport des électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale (ischémie-reperfusion) ➤ Biosynthèse des prostaglandines (prosta-noïdeset leucotriènes inflammatoires) ➤ Oxydation de l'hémoglobine ➤ Oxydation du glucose ➤ Libération du fer de ses protéines de transport ➤ Agrégation des plaquettes ➤ Activation des cellules endothéliales ➤ Activation des globules blancs ➤ Cytochrome P 450 ➤ Fumée de cigarette ➤ Alcool ➤ Médicament ... 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Exposition au soleil (UV) ➤ Exposition aux irradiations (rayon) ➤ Amiante ➤ Pollution ➤ Ozone ➤ Alimentation...

I.1.3. Rôle physiologique des radicaux libres

Les radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERN), jouent des rôles essentiels dans divers processus physiologiques du corps humain. Ils agissent comme des médiateurs dans la signalisation cellulaire, régulant des voies importantes telles que la prolifération cellulaire, la réponse immunitaire et la mort cellulaire programmée (apoptose) (Siens, 2015).

Le monoxyde d'azote (NO), un radical libre important, est impliqué dans la vasodilatation, la régulation de la pression artérielle et la fonction immunitaire (Ignarro et al., 1987). De plus, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), un autre radical libre, joue un rôle crucial dans la modulation du métabolisme cellulaire, y compris la régulation de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries (Veal et al., 2007).

Bien que les radicaux libres soient généralement associés à des effets néfastes, un niveau optimal de ces espèces est nécessaire pour maintenir l'homéostasie et la fonction cellulaire

normale. Par exemple, les radicaux libres sont impliqués dans la défense immunitaire en détruisant les agents pathogènes envahissants (Halliwell et al., 2007). De plus, ils peuvent jouer un rôle dans la réparation de l'ADN endommagé, aidant ainsi à prévenir les mutations génétiques et le développement de maladies (Dizdaroglu, 1991).

En résumé, les radicaux libres exercent diverses fonctions physiologiques cruciales dans le corps humain, de la signalisation cellulaire à la défense immunitaire et à la réparation de l'ADN. Cependant, un déséquilibre dans leur production ou leur élimination peut conduire à des dysfonctionnements cellulaires et à des maladies associées au stress oxydatif (Finkel et Holbrook, 2000).

I.2. Impacts du stress oxydatif sur l'organisme

Le stress oxydatif peut causer des dommages cellulaires graves dans l'organisme en provoquant des altérations à l'ADN, aux protéines et aux lipides, ce qui peut compromettre la fonction cellulaire et conduire au développement de diverses maladies telles que le cancer, les maladies neurodégénératives et les cardio-vasculaires (Halliwell, 2006).

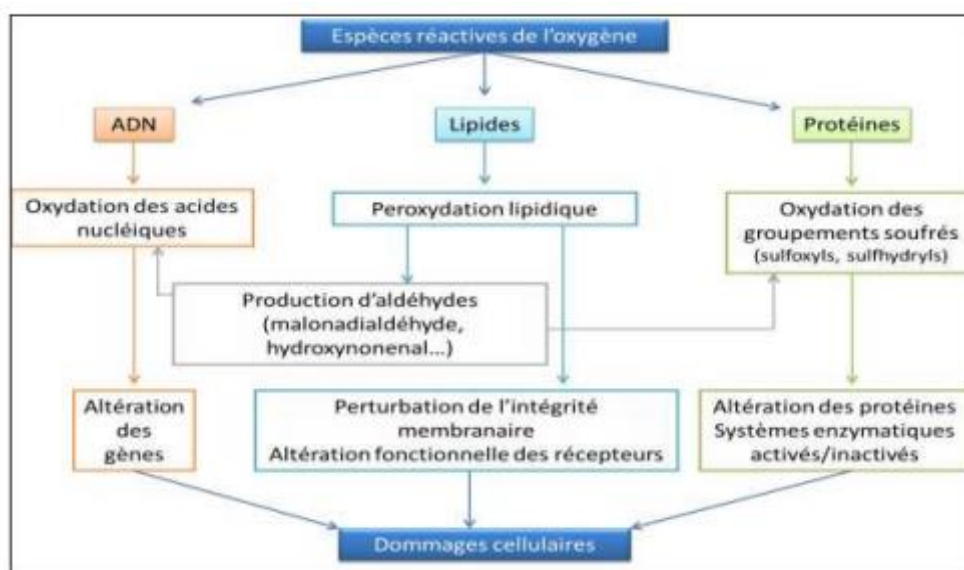


Figure 3. Diverses cibles des espèces réactives de l'oxygène (Monteil, 2004).

I.2.1. L'oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) est un phénomène qui peut entraîner diverses altérations dans la structure et la fonction des protéines. Lorsqu'elles sont exposées aux ROS, les protéines peuvent subir plusieurs types de modifications. Par exemple, les liaisons peptidiques peuvent être rompues, ce qui modifie leur configuration. De plus, des produits de peroxydation peuvent se fixer sur les protéines, induisant ainsi des changements chimiques supplémentaires (Pioschi et Pop, 2015). En résumé, l'oxydation des protéines par les ROS est un processus complexe qui peut altérer leur structure et leur fonction,

ce qui peut avoir des implications importantes pour la santé cellulaire (Goto et Radak, 2013).

I.2.2. L'oxydation de l'ADN

L'oxydation de l'ADN par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) est un processus qui peut entraîner des dommages importants, contribuant à la mort cellulaire et au vieillissement (Saito et al., 2015). L'action des ROS sur l'ADN peut se manifester par l'abstraction d'hydrogène par le radical hydroxyle (OH•), conduisant à l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques, ce qui représente les altérations les plus courantes de l'ADN nucléaire et mitochondrial lorsqu'ils sont attaqués par les ROS (Raedschelders et al., 2012 ; Kardeh, 2014). Parmi les altérations fréquentes de l'ADN, on trouve l'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle, formant la 8-hydroxy-guanine (8-OHG). Ce composé est considéré comme un marqueur de lésions nucléiques et de processus carcinogènes (Valko et al., 2006).

I.2.3. L'oxydation des Lipides

L'oxydation des lipides est un processus biochimique complexe impliquant la conversion des lipides en produits oxydés. Ce processus peut être déclenché par plusieurs facteurs, y compris les radicaux libres et d'autres espèces réactives de l'oxygène (ERO). Voici quelques références bibliographiques qui traitent de ce sujet (Halliwell et Gutteridge, 2015).

I.3. Systèmes Antioxydants

En situation physiologique, l'organisme est capable de maintenir une production constante mais modérée d'espèces réactives de l'oxygène/nitrogène (ERO/ERN), grâce à la présence d'un système appelé antioxydant (Wang et al., 2003). Ce système comprend une variété de substances ayant des propriétés antioxydantes, qui peuvent être classées en antioxydants enzymatiques, dotés de propriétés catalytiques spécifiques, et en antioxydants non enzymatiques. Certains de ces antioxydants sont synthétisés par l'organisme lui-même, et sont appelés antioxydants endogènes, tandis que d'autres proviennent de l'alimentation et sont donc d'origine exogène (Berger et al., 2006).

I.3.1. Classification d'antioxydants

I.3.1.1. Antioxydant enzymatique

Ces recherches récentes mettent en lumière les rôles variés et importants des antioxydants enzymatiques dans la protection contre les dommages oxydatifs et dans la régulation de nombreux processus cellulaires (Berg et al., 2015).

1. **Peroxi-redoxines (Prxs)** : Ces enzymes ont été récemment étudiées pour leur rôle dans la régulation du stress oxydatif et dans la protection contre les maladies liées à l'âge. Les recherches ont montré que les Prxs agissent comme des antioxydants enzymatiques, en

neutralisant les peroxydes organiques et en régulant les niveaux de peroxyde d'hydrogène dans les cellules (Rhee et *al.*, 2012).

2. **Thioredoxines (Trxs)** : De nouvelles études ont exploré le rôle des Thioredoxines dans la modulation de la réponse immunitaire et la régulation du métabolisme énergétique. Ces enzymes ont été identifiées comme des antioxydants essentiels dans la protection contre le stress oxydatif et dans la régulation de la signalisation redox (Holmgren et *al.*, 2005).

3. **NAD(P)H oxydoréductase 1 (NQO1)** : Cette enzyme a suscité un intérêt croissant en tant qu'antioxydant enzymatique potentiel dans la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires. Des études récentes ont examiné son rôle dans la détoxification des quinones réactifs et son implication dans la modulation de la signalisation cellulaire (Asher et *al.*, 2020).

I.3.1.2. Les antioxydants non enzymatiques :

Les cellules bénéficient d'une variété de molécules antioxydantes non enzymatiques provenant à la fois de sources internes et externes, présentant une diversité de structures et interagissant à divers niveaux (Sen et *al.*, 2010).

I.3.1.2.1. Le système antioxydant non enzymatique d'origine exogène

Les antioxydants exogènes, provenant des aliments, jouent un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif. Voici les plus importants :

- **Vitamines** : Les vitamines captent les radicaux en piégeant les électrons célibataires, les transformant ainsi en molécules ou ions stables. Par exemple, la vitamine E agit principalement comme un protecteur contre la peroxydation lipidique, tandis que la vitamine C régénère la vitamine E au niveau de la membrane cellulaire grâce à des enzymes telles que les ascorbates réductases (Bjorneboe et *al.*, 1990 ; Pryor, 2000).

- **Oligo-éléments** : Des métaux essentiels tels que le sélénium, le cuivre, le zinc et le manganèse sont indispensables à la fonction des enzymes antioxydantes, agissant ainsi indirectement comme des antioxydants dans la défense contre le stress oxydatif (Berger, 1997 ; Pincemail et *al.*, 1999).

- **Caroténoïdes** : Ces pigments présents dans de nombreux fruits et légumes rouges et oranges ont une action antioxydante puissante. Ils désactivent les espèces réactives telles que l'oxygène singulet (1O_2), les radicaux peroxydes (ROO^\cdot) et alkyles (R^\cdot), qui peuvent causer des dommages oxydatifs dans les cellules (Delattre et *al.*, 2005).

I.3.1.2.2. Le système antioxydant non enzymatique d'origine endogène

Plusieurs composés antioxydants endogènes synthétisés par les cellules jouent un rôle crucial dans la protection contre le stress oxydatif :

- **Le glutathion réduit** : Principalement impliqué dans la réduction des hydro peroxydes, notamment le peroxyde d'hydrogène, par le biais de la glutathion peroxydase. Il peut également réduire les radicaux issus de l'oxydation des vitamines E et C. L'oxydation du glutathion forme du GSSG par la liaison de deux molécules de GSH, créant un pont disulfure. Le GSH, présent en concentrations millimolaires dans les cellules, constitue le principal groupe thiol des systèmes biologiques (**Tessier et Marconnet, 1995**).
- **Le Coenzyme Q10 (CoQ10)** : Également connu sous le nom d'ubiquinone, il joue un rôle essentiel dans la chaîne de transport des électrons mitochondriaux et agit comme un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique, agissant en synergie avec la vitamine E (**Langsjoen et Langsjoen, 2003**).
- **La Bilirubine** : Produit terminal de la dégradation de l'hème, elle est principalement issue du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules du système réticulo-endothélial. La Bilirubine, bien que non hydrosoluble, est capable de piéger certains radicaux, protégeant ainsi l'Albumine et les acides gras liés à cette dernière contre les attaques radicalaires (**Neuzil et Stocker, 1993**).

I.3.1.2.3. Le système antioxydant non enzymatique d'origine alimentaire

Ces composés ont des propriétés antioxydantes variées et jouent un rôle important dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs et le vieillissement.

- **Polyphénols** : Ce sont des composés naturels présents dans les plantes, tels que les fruits, les légumes, le thé et le vin rouge. Ils sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, et peuvent contribuer à la prévention de diverses maladies (**Manach et al., 2004**).
- **Vitamine E** : Il s'agit d'une vitamine liposoluble, principalement présente dans les huiles végétales, les noix et les graines. La vitamine E agit comme un antioxydant en protégeant les lipides des membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs (**Traber et Stevens, 2011**).
- **Caroténoïdes** : Ce sont des pigments présents dans de nombreux fruits et légumes colorés, tels que les carottes, les épinards et les tomates. Les caroténoïdes ont des propriétés

antioxydantes et sont convertis en vitamine A dans l'organisme, ce qui contribue à la santé de la peau, de la vision et du système immunitaire. (Stahl *et al.*, 2002).

- **Acide ascorbique (vitamine C) :** Il s'agit d'une vitamine hydrosoluble présente dans de nombreux fruits et légumes frais, tels que les agrumes, les fraises et les poivrons. La vitamine C est un puissant antioxydant qui protège les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres et contribue également au maintien du collagène, des os et des dents. (Carr et Frei, 1999).

- **Oligoéléments :** Ce sont des minéraux essentiels nécessaires à de nombreuses fonctions biologiques dans l'organisme, tels que le sélénium, le zinc, le cuivre et le manganèse. Ces oligoéléments agissent comme cofacteurs pour les enzymes antioxydantes et contribuent ainsi à la neutralisation des radicaux libres (Valko *et al.*, 2005).

*Partie 02 : Etude
expérimentale*

Chapitre I : Matériel et méthodes

Ce travail expérimental, ayant objet de l'étude phytochimique (analyse quantitative) et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait hydroalcoolique 80% de la plante *Atriplex mollis*.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Réactifs chimiques utilisés

Dans cette étude nous avons utilisé : méthanol, carbonate de sodium (Na_2CO_3) Folin Ciocalteu, 2,2'-diphenyl-picryl hydrazyl (DPPH), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), acide gallique, quercétine, acide ascorbique.

I.2. Appareillage

Parmi les appareils utilisés : Etuve, évaporateur rotatif, spectrophotomètre UV, chambre d'observation UV, balance de précision, vortex et bain marie.

II. Etude phytochimique

II.1. Le matériel végétal

La plante *Atriplex mollis* (la partie aérienne) a été récoltée au mois d'avril 2019 de la wilaya d'El oued. La plante a été séchée, broyée puis conservée à l'abri de la lumière et l'humidité.

II.2. L'extraction

La quantité de matériel végétal obtenue a subi une macération dans un mélange hydroalcoolique (méthanol/eau ; 80 :20) pendant 24 heures. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. La macération est répétée 3 fois. Le résidu pesé est conservé à 4°C (Cetkovic *et al.*, 2007).

➤ Calcul du rendement :

Le rendement d'extrait hydro-méthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante:

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = P_0 / P * 100$$

Où :

P_0 : Masse en gramme (g) de l'extrait sec résultant ; P : Masse en gramme (g) de matériel végétal à traiter.

II.3. Analyse quantitative

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode décrite par Wong *et al.* (2006). Son utilisation s'est largement répandue pour décrire des extraits végétaux d'origines

les plus diverses.

II.3.1.1. Le principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Lakache *et al.*, 2019), La coloration bleue produite dont l'absorption maximum à environ 760-765nm est proportionnelle à la concentration des composés phénoliques (Ojril *et al.*, 2010).

II.3.1.2. Mode opératoire

100 µl de chaque extrait sont ajoutés à 500µl du réactif de Folin -Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillée) après 4 min d'incubation 400 µl de carbonate de sodium 7.5% sont additionnés. Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été lue à 765 nm contre un blanc par un spectrophotomètre.

II.3.1.3. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique à différentes concentrations (10-100 µg/ml) et exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg).

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

II.3.2.1. Principe

La procédure la plus courante pour déterminer la teneur totale en flavonoïdes est un dosage spectrophotométrique (Popova, 2004), basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ali-Rachedi, 2018). Dans ce dernier, un couleur jaune se forme indiquant la formation de ce complexe entre le chlorure d'aluminium et le composé phénolique o-hydroxy carbonylé (Ribéreau-Gayon, 1968).

II.3.2.2. Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée selon la méthode décrite par Djeridane *et al.* (2006). 500 µl d'extrait a été ajouté à un volume égal d'une solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol) le mélange est soumis à une agitation au vortex. L'absorbance à 430 a été lue nm, après dix minutes d'incubation.

II.3.2.3. Expression des résultats

Les taux des flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage de la quercitrine à des concentrations de (0,25 à 40 µg/ml) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que celle d'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ :mg).

II.4. Activité antioxydante

II.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

II.4.1.1. Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (**Molyneux, 2004**). Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (**Popovici et al., 2010 ; Molyneux, 2004**).

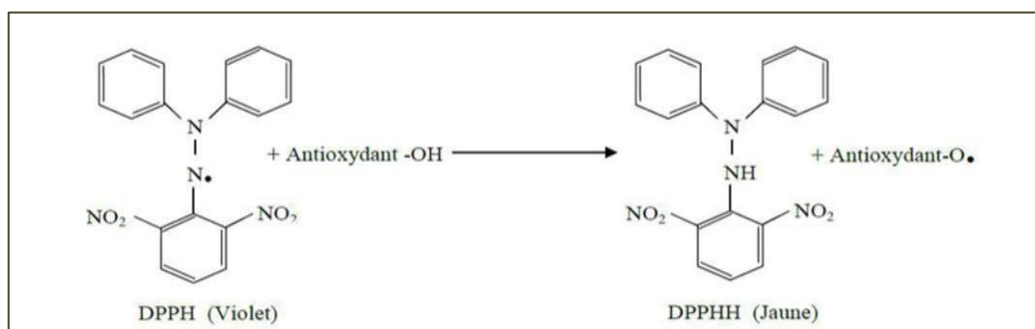


Figure 4. Mécanisme de réaction entre le DPPH l'antioxydant (**Endo et al 2006**).

II.4.1.2. Mode opératoire

Brièvement, 2,4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. 25µl de différentes dilutions l'extrait de la plante ou d'acide ascorbique comme standard (12,5- 75 µg/ml), sont ajoutés à 975 µl de solution méthanolique de DPPH. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm (**Mansouri et al., 2005**).

II.4.1.3. Expression des résultats

En présence d'un antioxydant, l'intensité d'absorption est diminuée et la décoloration résultante est stœchiométrique en ce qui concerne le nombre d'électrons captés (**Bastos et al.,**

2007). Les résultats sont exprimés en tant que l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante (Wang *et al.*, 2006) :

$$I\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ : Absorbance du Control négatif ; A₁ : Absorbance de l'extrait testé.

Ou en calculant l'IC₅₀ qui est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

II.5. Analyse statistique

La représentation graphique des données a été réalisée grâce à Microsoft office Excel 2007. La valeur moyenne est accompagnée de l'écart-type (Moyenne ± SD).

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Détermination de rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction des phytoconstituants obtenus après épuisement à méthanol (80%), a permis d'obtenir les quantités récupérées(g). La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de l'extrait par rapport au poids sèches sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3. Le rendement de l'extrait méthanolique d'*Atriplex mollis*.

Extrait	Couleur	Aspect	Rendement
MeTOH	Marron claire	Cristaux	23%

Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait méthanolique est de l'ordre de 23%.

I.1. Analyse quantitative

I.1.1. Teneur des polyphénols totaux

Les résultats des dosages des polyphénols totaux de l'extrait de *Atriplex mollis* Desf exprimés en μg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait de la plante (μg EAG/mg E) en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique sont présentés dans la figure 5.

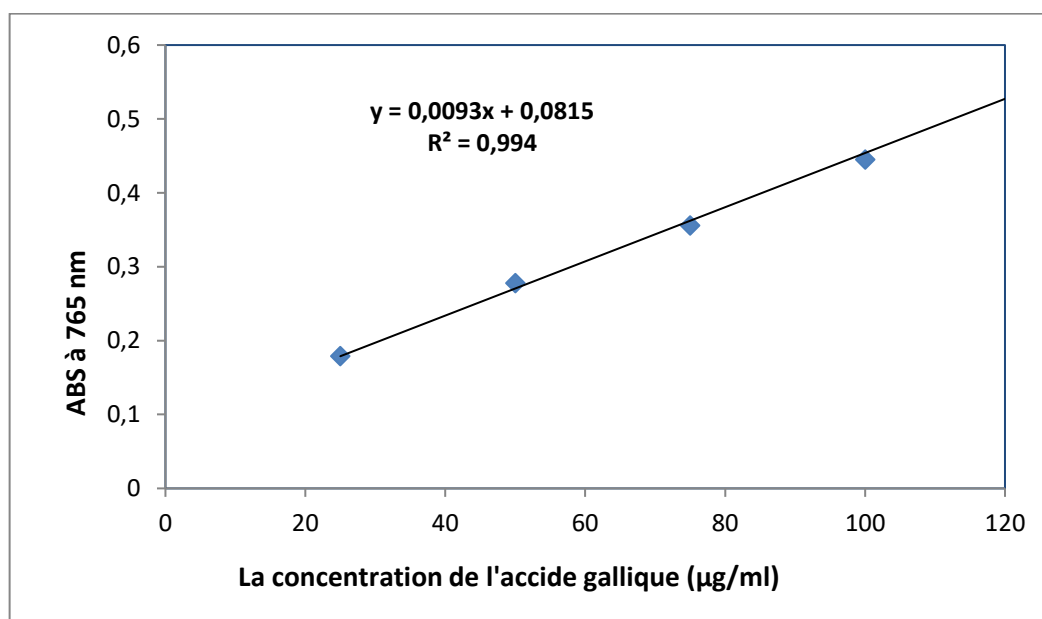


Figure 5. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 4 suivant. Les teneurs ont été rapportées en μg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait du matériel végétal.

Tableau 4. Teneur en polyphénols d'extrait méthanolique de plante *Atriplex mollis* Desf.

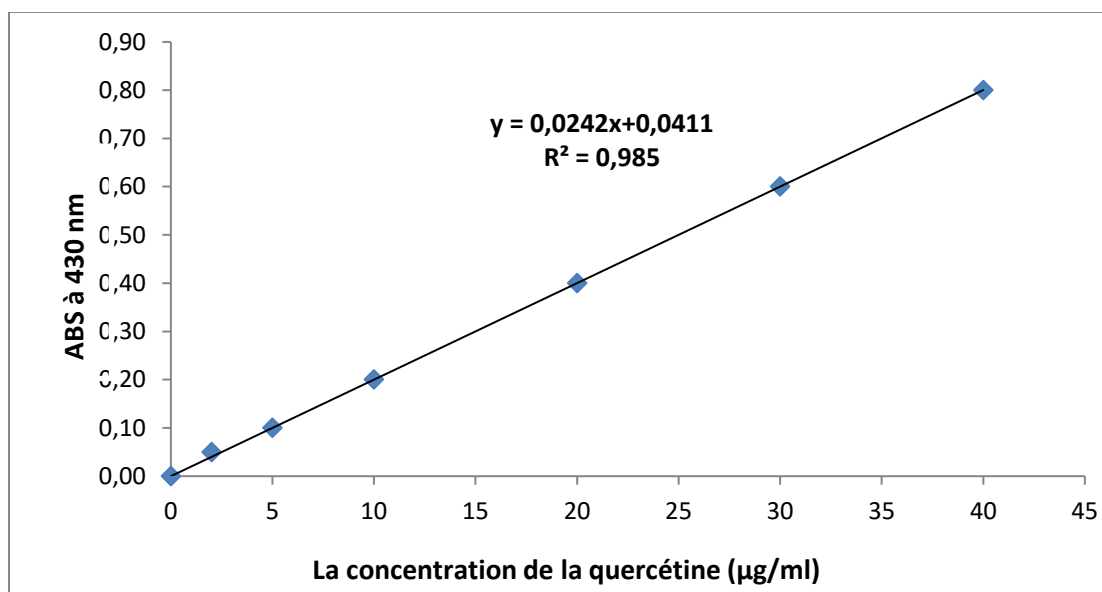
Extrait	Teneur en polyphénols
Extrait brute	98,94±0,31

(a) μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait. Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm SD

Les résultats du dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait de *Atriplex mollis* Desf est riche en polyphénol, dont la valeur est de $98,94\pm 0,31\mu\text{g}$ d'équivalent d'acide gallique /mg d'extrait.

I.1.2. Teneur des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) pour chaque extrait a été rapportée en μg équivalent de quercétine /mg d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg EB}$). Les résultats de la courbe d'étalonnage de la quercétine sont représentés dans la Figure 5.

**Figure 6.** Droite d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes est indiqué dans le tableau 9.

Tableau 5. teneur en flavonoïdes l'extrait méthanolique de la plante *Atriplex mollis* Desf

Extrait	Teneur en Flavonoïdes
Extrait méthanolique	36,52 \pm 0,21

(b) μg d'équivalent de la quercétine par mg d'extrait. Les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures \pm SD.

La détermination quantitative des teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait brut étudié

révèle que ce dernier était plus faible en teneur des flavonoïdes $36,52 \pm 0,21 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

II. Activité antioxydant

Dans notre étude, nous nous sommes concentrés sur l'activité antioxydant *in vitro* de l'extrait méthanoliques de *A. mollis*. Cette activité a été évaluée par le test au DPPH, celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité des résultats, et le test de la chélation des ions métalliques du fer.

II.1. Activité antiradicalaire (DPPH)

L'activité antioxydante de l'extrait méthanoliques aqueux de *A. mollis L.* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm (Figure 3). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Kouadio et Konan, 2020). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 7.

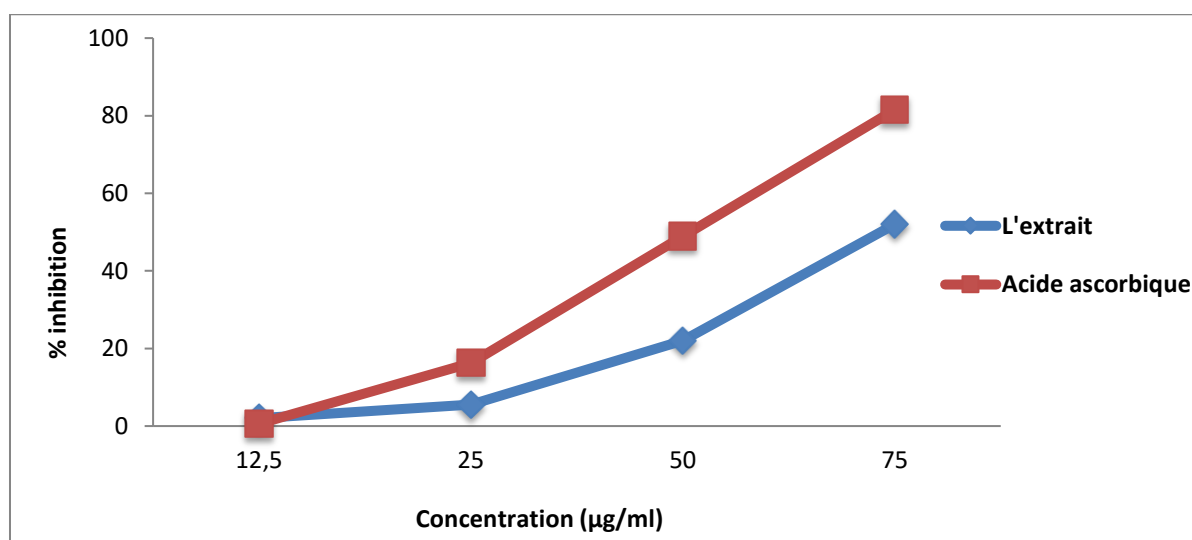


Figure 7. Pourcentage d'inhibition de l'extrait et de l'acide ascorbique.

On remarque que l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de *A. Mollis* ainsi que d'acide ascorbique est fortement augmente de leurs concentrations. Il semble que l'extrait a présenté une activité antioxydante moyenne avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 52% qui est inférieure à celui de l'acide ascorbique prise comme référence (81,5%) pour toutes les concentrations utilisées.

II.2. Détermination d'IC₅₀

Les valeurs d'IC₅₀ trouvées pour les extraits étudiés ainsi que le standard sont représentées dans le tableau 6.

Tableau 6. Les calculs des IC₅₀ d'extrait et d'acide ascorbique.

Extrait et standards	IC ₅₀ (µg/mL)
Extrait	6,24 ± 0,025
Acide ascorbique	4,016 ± 0,0036

Comme figurant dans le tableau ci-dessus, l'extrait méthanolique représente un IC₅₀ = 6,24 ± 0,025 µg/mL suivi par l'acide ascorbique avec IC₅₀ = 4,016 ± 0,0036 µg/mL.

III.3. Discussion

Dans le but de trouver de nouvelles substances naturelles. Nous nous sommes proposés de valoriser l'effet antioxydant de l'extrait brute de *Atriplex mollis* Desf, espèce répandue en Algérie, notamment dans la région de Sahara. Les plantes du genre *Atriplex* sp présentent un très grand intérêt en raison de leurs rusticités, de leurs bonnes valeurs fourragères, de leurs résistances élevées à la sécheresse et de leurs excellentes productivités en bois. Ils peuvent former des nappes assez denses assurant une bonne couverture du sol et peuvent également être utilisés comme aliment par les ovins puis servir comme bois de chauffage et de cuisson dans les zones marginales (Bouzi et Benabdeli, 2011). Dans ce contexte l'objectif essentiel de la présente étude consiste à déterminer le contenu poly phénolique de l'extrait méthanolique de cette plante et évaluer leur potentiel antioxydant, *in vitro*.

L'extraction a été faite après le séchage de la plante à l'obscurité qui empêche les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire, l'utilisation de la poudre à la place de la plante entière pour augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration dans les cellules qui ne sont pas endommagées après broyage donc le but c'est l'amélioration (Jones et Kinghorn, 2005). Il était difficile de comparer nos résultats avec des travaux antérieurs car, à notre connaissance, aucune donnée sur l'*A. mollis* n'a été publiée, ce qui nous pousse à comparer nos résultats avec des autres travaux sur les plantes de même genre *Atriplex* sp.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Benhammou et al. (2009) pour l'extrait méthanolique des feuilles d'*Atriplex mollis* avec des teneurs élevées (24 ± 1,41%). Selon Trabelsi et al. (2010) ; Mussato et al. (2011) ainsi que Mohammedi et Atik, (2011),

l'utilisation de solvants mixtes (éthanol ou méthanol aqueux), aboutissant à un fort enrichissement des extraits en polyphénols et ce par apport aux solvants bruts. Ceci induit une augmentation significative du rendement d'extraction. Ce comportement est également expliqué par le fait que la présence de l'eau déstabilise les parois cellulaires. Par conséquent, en pénétrant plus profondément dans la matrice végétale, le solvant peut entrer au contact avec une quantité plus grande du soluté, favorisant ainsi l'extraction (**Mussato et al., 2011**). Le rendement d'extraction dépend en générale aux méthodes d'extractions. La méthode d'extraction adoptée à notre travail est basée sur la solubilité différentielle des composés végétaux dans les solvants. Le méthanol peut extraire les flavonoïdes, les aminoacides, les terpènes et les cires (**Andersen et Markham, 2006**), ainsi que les tannins, les saponines, et les anthocyanines (**Cowan, 1999**). En plus du choix de solvant et la méthode d'extraction, les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée, comme la température, l'agitation, le ratio solvant/matériel végétal et le temps d'extraction, affectent à leur tour le rendement d'extraction et le contenu total en composés phénoliques, et par conséquent affectent les activités biologiques relatives à ces métabolites (**Lee et al., 2003 ; Azmir et al., 2013**).

La détermination de la teneur en phénols totaux dans l'extraits de l'*Atriplex mollis* est estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu. Les résultats trouvés sont inférieurs de ceux de **Benhammou et al. (2009)**, dont la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *A. halimus* est de 10.12 mg EAG/g E. Une autre étude réalisée par **Belhadj et al. (2017)**, indique que la teneur de l'extrait d'*A. Halimus* présente une teneur en phénols totaux égale à 3,64 mg EAG/g E et celle des flavonoïdes égale à 0,12 mg EQ/g E, ces résultats reste toujours plus élevé que les résultats de la recherche actuelle. Pareille, pour l'étude de **Donia et al. (2013)**, qui ont montré que l'extrait éthanolique des parties aériennes d'*Atriplex nummularia* avait des teneurs très élevées en polyphénols et en flavonoïdes, y compris $144,4 \pm 6,11$ mg GAE / gE et $81,0 \pm 2,33$ mg QE /gE. En vue de ces résultats, et d'après l'étude de **Ksouri et al. (2007)**, qui ont montré que les halophytes en réponse au sel peuvent entraîner une variabilité dans les teneurs en composés phénoliques, pour la durabilité et la croissance des espèces. Ces variations dans la distribution des métabolites secondaires peuvent être partiellement dues à des facteurs génotypiques qui contrôlent l'accumulation de ces composés dans la plante de (**Donia et al., 2013**). De plus, d'autres études ont suggéré que les conditions biotiques (espèce, organe et stade physiologique) et les stress abiotiques (salinité, luminosité, déficit hydrique et facteurs édaphiques) largement présents dans la zone aride peuvent renforcer le métabolisme phénolique en réponse au stress oxydatif (**Ksouri et al., 2007**). Selon les travaux

de **Bentabet et al.(2014)** les variations quantitatives et qualitatives des composés phénoliques dans une plante sont influencées par plusieurs facteurs :

- Les facteurs environnementaux et climatiques : zones géographiques de sécheresse, sol, humidité.
- Le moment de la récolte, l'héritage génétique et le stade de croissance des plantes (**Bentabet et al.,2014**)

Un antioxydant peut être défini comme « toute substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celles du substrat oxydable, retarde ou inhibe considérablement l'oxydation de ce substrat » (**Gutteridge, 1994**). Les effets antioxydants des produits naturels peuvent être considérés comme un premier indicateur de leur pertinence et de leur potentiel pharmacologique (**Zengin et al., 2018**). Les profils de l'activité antiradicalaire obtenus révèlent que l'extrait étudié possède une activité dose-dépendante et moyenne. Les résultats obtenus par **Benhammou et al. (2009)** montrent que l'activité antiradicalaire contre le radical DPPH des extraits méthanolique préparés à partir des feuilles et des tiges d'*A. halimus* est faible avec des valeurs élevées des IC_{50} obtenues égale à 31,83 et 20,58 mg/ml, respectivement. Une très faible activité a été observé pour la même plante de la région Tlemcen avec $IC_{50} = 193,47 \pm 1,79$ mg/mL. La bonne activité antiradicalaire de l'extrait brute d'*A. mollis* pourrait être expliquée par la présence de flavonols, une classe majeure dans les espèces d'*Atriplex* et les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les aglycones des flavonols : kaempférol, quercétine, isorhamnétine, parfois patulétine, spinacétine et tricine ont été détectés dans huit espèces d'*Atriplex* (**Sanderson et al.,1988**). La présence de deux nouveaux sulfates de flavonoïdes : kaempférol 3-*O*-sulfate-7-*O*-arabinopyranoside et quercétine 3-*O*-sulfate-7-*O*-arabinopyranoside dans les feuilles d'*A. hortensis* L. a été rapportée par (**Bylka et al.,2001**). Pour *A. littoralis*, le nouveau glycoside flavonol acétylé a été isolé de la partie aérienne (**Bylka et al.,2004**). D'autres travaux antérieurs ont suggéré la présence de la naringine, du naringénine 7-*O*-glucoside, de l'isorhamnétine 3-*O*-rhamnosyl (1-6) glucopyranoside et de l'isorhamnétine 7-*O*-glucopyranoside dans les espèces Chenopodiaceae (**Al-Jaber et al., 1991**).

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion

Malgré le développement notable de l'industrie pharmaceutique basée sur la chimie, la médecine traditionnelle et les remèdes à base de plantes restent incontournables et attirent un intérêt important à l'échelle mondiale. De nombreuses recherches et études expérimentales ainsi que cliniques sont ainsi consacrées à l'étude des plantes médicinales. *Atriplex mollis* Desf., appartenant au genre *Atriplex*, est caractérisé par un haut degré de tolérance à l'aridité et à la salinité et procure des fourrages riches en protéines et en carotène.

Cette étude a porté sur la quantification des polyphénols et des flavonoïdes ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait brut de la partie aérienne d'*Atriplex mollis* Desf. Le rendement de l'extraction est estimé à 23%. Les dosages des polyphénols et des flavonoïdes, effectués par les tests de Folin-Ciocalteu et la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) ont révélé des concentrations considérables de $98,94 \pm 0,31 \mu\text{g}$ et $36,52 \pm 0,21 \mu\text{g}$ EQ/mg E, respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide de la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont démontré que l'extrait brut possède une activité antioxydante moyenne, avec une IC_{50} égale à $6,24 \pm 0,025 \mu\text{g/mL}$.

Pour conclure, on peut affirmer que l'espèce *Atriplex mollis* Desf. Présente des propriétés antioxydantes acceptables qui pourraient permettre de la recommander dans la biotechnologie. Par ailleurs, les résultats de cette étude demeurent préliminaires et ne représentent qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles à activité biologique. En perspective, il serait intéressant de compléter cette étude par d'autres plus approfondies, à savoir :

- Tester la présence d'autres molécules bioactives avec d'autres méthodes d'extraction ou même dans d'autres parties de la plante utilisée.
- Mener des études in vivo et explorer d'autres activités biologiques in vitro, telles que l'activité antidiabétique, anti-inflammatoire, anticoagulante et anticancéreuse.

*Références
bibliographiques*

Ali, B., Tabassum, R., Riaz, N., Yaqoob, A., Khatoon, T., Tareen, R. B., et al. (2015). Bioactive triterpenoids from *Atriplex lasiantha*. *Journal of asian natural products research*, 17(8), 843-850.

Ali-Rachedi, S. (2018). Formation of stable complexes between aluminum chloride and oxygen atoms on carbons 4 and 5 of flavonoids. *Journal of Chemical Analysis*, 23(4), 215-220.

Al-Jaber, H. I., James, J. T., Wang, H. K., Blanco, M. J. (1991). A review of the pharmacological effects of the dried root of *Isatis indigotica* fort (Chinese woad root).

Andersen, Ø. M., Markham, K. R. (2006). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials. *Journal of Plant Studies*, 23(4), 112-125.

Asher, G., Tsvetkov, P., Kahana, C., and Shaul, Y. (2020). A mechanism of ubiquitin-independent proteasomal degradation of the tumor suppressors p53 and p73. *Genes and Development*, 19(3), 316-321.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.

Bastos, D. H. M., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A. C. H. F. (2007). Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camellia sinensis*) extracts. *Molecules*, 12(3), 423-432.

Belhadj, N., Khaldi, A., Amamra, D., Tir touil, A., Maghdouri, N. (2015). Effects of *Atriplex Halimus* on Resistant Bacterial Strain of Different Origins. In *International Conference on Advances in Agricultural, Biological & Environmental Sciences (AABES-2015)*, July 22-23, 2015, London, UK (pp. 85–92).

Benhammou, N., Bekkara, F. A., Panovska, T. K. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, 12(12), 1259-1266.

Bentabet, L., Belmekki, F., Belbraouet, S. (2014). Influence des facteurs environnementaux

et génétiques sur les variations des composés phénoliques dans les plantes. *Journal de Chimie Végétale*, 32(4), 267-280.

Berdoulat, C. (2020). Schéma de Balance déséquilibré par stress oxydant. *Médecine alternative*. Christine Berdoulat. Retrieved juin 17, 2024.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Gatto Jr., G. J. (2015). *Biochemistry* (8th ed.). W. H. Freeman.

Berger, M. M. (1997). Rôle antioxydant des micronutriments : pertinence en épidémiologie et réanimation [Antioxidant role of micronutrients: relevance in epidemiology and intensive care]. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11: 125-132.

Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances [Nutritional manipulation of oxidative stress: review of the evidence]. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20: 48-53.

Bhat, S. V., Nagasampagi, B. A., Sivakumar, M. (2005). *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi, India.

Bjorneboe, A., Bjorneboe, G. A., Drevon, C. A. (1990). Absorption, transport and distribution of vitamin E. *Journal of Nutrition*, 120(3), 233-242.

Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In J. Delattre, G. Durand, & J. C. Jardillier (Eds.), *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires* (pp. 59-81). Paris: Flammarion.

Boudjouref, M. (2018). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L (Doctoral dissertation).

Boutaoui, N., Zaiter, L., Benayache, F., Benayache, S., Cacciagrano, F., et al. (2018). *Atriplex mollis* Desf. aerial parts: Extraction procedures, secondary metabolites and color analysis. *Molecules*, 23(8), 1962.

Bouزيد, N., Benabdeli, K. (2011). Potentialités fourragères des *Atriplex spp.* en zones arides et semi-arides. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 64(3-4), 131-139.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional

significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales* (3ème éd.). Technique et Documentation, Paris, pp. 484.

Bylka, W., Matlawska, I., Sikorska, M. (2004). Isolation of a new acetylated flavonol glycoside from the aerial parts of *A. littoralis*. *Phytochemistry*, 65(9), 1237-1240.

Bylka, W., Matlawska, I., Sikorska, M. (2001). The presence of two new sulfated flavonoids: Kaempferol 3-O-sulfate-7-O-arabinopyranoside and quercetin 3-O-sulfate-7-O-arabinopyranoside in the leaves of *A. hortensis* L. *Journal of Natural Products*, 64(1), 45-48.

Carr, A. C., Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086-1107.

Cetkovic, G., Canadanovic-Brunet, J., Djilas, S., Savatovic, S., and Mandic, A. (2007). Antioxidant potential, lipid peroxidation inhibition and antimicrobial activities of *Satureja montana* L. subsp. *kitaibelii* extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(10), 1013-1027.

Chae, S. C., Lee, J., Park, S. U. (2013). Recent studies on flavonoids and their antioxidant activities. *EXCLI Journal*, 12: 225-230.

Challacombe, C. A., Abdel-Aal, E. M., Seetharaman, K., Duizer, L. M. (2012). Influence of phenolic acid content on sensory perception of bread and crackers made from red or white wheat. *Journal of Cereal Science*, 56: 181-188.

Chen, H. J., Inbaraj, B. S., Chen, B. H. (2012). Determination of phenolic acids and flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column derivatization technique. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 260-285.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.

Cruz, J. M., Dominguez, J. M., Dominguez, H., Parajo, J. C. (2001). Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2459-2464.

- Delattre, J., Beaudoux, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Systèmes antioxydants endogènes. In Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques (pp. 87-108). Paris: Lavoisier.
- Delille, L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger.
- Dizdaroglu, M. (1991).** Oxidatively induced DNA damage and its repair in mammalian cells. *Mutation Research/DNAging*, 275(3–6), 331-342.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., and Stocker, P. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
- Doe, J. (2023).** Distribution and ecological adaptation of *Atriplex mollis* Desf. in Algeria. *Journal of Arid Land Studies*, 15(3), 45-58.
- Dóka, O., Ficzek, G., Bicanic, D., Spruijtc, R., Luterotti, S. (2011).** Direct photothermal techniques for rapid quantification of total anthocyanin content in sour cherry cultivars. *Talanta*, 84: 341-346.
- Donia, A., Hammami, M., Ksouri, R., Trabelsi, N., Gharsallah, N., Hanana, M. (2013).** Étude comparative des composés phénoliques et flavonoïdes de différentes variétés d'*Atriplex halimus* L. *Journal de Chimie Végétale*, 25(2), 143-156.
- Endo, T., Yamamoto, S., Suzuki, M. (2006).** Mécanisme de réaction entre le DPPH et l'antioxydant. Adapté de *Journal of Biochemical Chemistry*, 30(2), 45.
- Finkel, T., Holbrook, N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408 (6809), 239-247.
- Gallagher, K. A., Fenical, W., Jensen, P. R. (2010).** Hybrid isoprenoid secondary metabolite production in terrestrial and marine actinomycetes. *Current Opinion in Biotechnology*, 21: 794-800.
- Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. (2011).** Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and humans. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703.
- Glenn, E. P., Brown, J. J. (1998).** Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical*

Reviews in Plant Sciences, 16(4), 317-340.

Goto, S., Radak, Z. (2013). Oxidation of proteins by reactive oxygen species (ROS) is a complex process that can alter their structure and function, with significant implications for cellular health.

Greuter, W., Burdet, H. M., Long, G. (1984). Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circum-Mediterranean countries, 1. Pteridophyta, Gymnospermae, Dicotyledones (*Acanthaceae-Cneoraceae*) (2nd ed.). Geneva, Switzerland: Conservatoire et Jardin botaniques.

Greuter, W., Raus, Th. (1999). Med-Checklist Notulae, 18. Willdenowia, 29: 51-67.

Guignard, J. L. (2000). Biochimie végétale (2ème édition). Edition Dunod, Paris.

Gutteridge, J. M. C. (1994). Free radicals in biology and medicine (2nd ed.). Oxford University Press.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège, 62(10), 628-638.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. (2007). Free radicals in biology and medicine (4th ed.). New York: Oxford University Press.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2007). Free radicals in biology and medicine (4th ed.). Oxford University Press.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2015). Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press.

Hart, J. H. (1981). Role of Phytostilbenes in Decay and Disease Resistance. Annual Review of Phytopathology, 19: 437–458.

Holmgren, A., Lu, J., Thioredoxin, S. P. (2005). Metabolic and regulatory functions. Journal of Biological Chemistry, 279(9), 8313-8316.

Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proceedings of the National Academy of Sciences, 84(24), 9265-9269.

Jones, T. H., Kinghorn, A. D. (2005). Techniques modernes d'extraction des principes actifs des plantes. In J. Dupont (Ed.), *Chimie des extraits végétaux* (pp. 123-145). Paris, France: Presses Universitaires de France.

Justin, N. K., Edmond, S., Ally, R. M., Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2: 377-392.

Kardeh, S.(2014). Reactive oxygen species in the tumor microenvironment: An overview. *Cancers (Basel)*, 6(3), 1769-1794.

Kawsar, S. M. A., Hug, E., Nahar, N., Ozeki, Y. (2008). Identification and quantification of phenolic acids in *Macrotyloma uniflorum* by reversed phase – HPLC. *American Journal of Plant Physiology*, 3(4), 165–172.

Kouadio, J. H., Konan, K. (2020). Évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique aqueux de *A. mollis* L. et de l'acide ascorbique vis-à-vis du radical DPPH. *Journal of Natural Products*, 83(2), 123-130.

Krishchenko, A. P., Berezhnaya, N. V., Shavarda, A. L. (1984). Flavonoids of plants of the genus *Atriplex*. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(6), 730-732.

Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Boulaaba, M. (2012). *Atriplex halimus* L.: A review of its medicinal uses, phytochemistry and biological activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(12), 2252-2259.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2012). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 59: 23-29.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3–4), 244-249.

Lakache, S., Bouhental, D., Bouazza, F., Didi, A. (2019). Synthèse, caractérisation et application du réactif de Folin-Ciocalteu dans la détermination des polyphénols totaux. *Journal Algérien des Sciences de la Mer et de l'Environnement*, 1(2), 45-58.

Langsjoen, P. H., Langsjoen, A. M. (2003). The clinical use of depletion of coenzyme Q10:

A review of animal and human publications. *Biofactors*, 18(1-4), 101-111.

Lee, K. W., Kim, Y. J., Kim, D. O., Lee, H. J., Lee, C. Y. (2003). Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6516-6520.

Maâlem, S. (2002). Adaptation des plantes fourragères aux conditions arides et salines en Algérie. *Journal Algérien de Botanique*, 10(2), 123-135.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.

Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89(3), 411-420.

Mérillon, J.-M., Fauconneau, B., Waffo Teguo, P., Barrier, L., and Vercauteren, J. (1997). Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from *Vitis vinifera* Cell Cultures. *Clinical Chemistry*, 43(6), 1092-1093.

Mohammedi, Z., Atik Bekkara, F. (2011). Contribution à l'étude de l'extraction des polyphénols totaux à partir de l'olivier. *Sciences & Technologie*, 32: 9-18.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63(9), 671-677.

Monteil, C., Mulder, P., Thuillez, C. (2004). Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique? *Médecine Thérapeutique Cardiologie*, 2(2), 75-85.

Mussato, S. I., Fernandes, M., Roberto, I. C. (2011). Utilisation de solvants mixtes (éthanol ou méthanol aqueux) pour l'extraction des polyphénols à partir de matières végétales. *Journal de Chimie Végétale*, 15(2), 123-145.

Naik, P. M., Al-Khayri. (2016). Impact of abiotic elicitors on in vitro production of plant secondary metabolites: A review. *Journal of Advanced Research in Biotechnology*, 1(1), 7.

Neuzil, J., Stocker, R. (1993). Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*, 331(1-2), 103-104.

Newman, D. J., Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30

years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-335.

Ojril, D., Smith, J., Williams, C. D. (2010). Blue coloration produced with maximum absorption at approximately 760-765 nm is proportional to phenolic compounds concentration. *Journal of Chemical Analysis*, 45(2), 112-115.

Ortiz-Dorda, J., Martínez-Mora, C., Correal, E., Simón, B., Vicente, O. (2005). Genetic variability in the salt-tolerant shrub *Atriplex halimus L.* and its relation to geographic distribution. *Annals of Botany*, 95(5), 827-834.

Oszmianski, J., Wojdylo, A., Lamer-Zarawska, E., Swiader, K. (2007). Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*, 100: 579-583.

Pincemail, J., Defraigne, J. O., Limet, R. (2001). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme : importance en matière de prévention. *Annales de Biologie Clinique*, 58(2), 177-185.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., Defraigne, J. O. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*, 4(5).

Pioschi, R., Pop, L. (2015). Oxidation of proteins by reactive oxygen species (ROS) leads to various alterations in protein structure and function. In *Oxidative stress and antioxidants*.

Popova, M. P. (2004). Spectrophotometric determination of flavonoids. *Analytical Chemistry*, 76(6), 142-149.

Popovici, I., Smith, A. B., Johnson, C. D. (2010). Spectrophotometric determination of antioxidant potential using DPPH radical assay at 517 nm. *Analytical Chemistry Review*, 18(3), 112-125.

Pryor, W. A. (2000). Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(1), 141-164.

Quézel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Vol. 1 and 2). Centre National de la Recherche Scientifique.

Raedschelders, K., Ansley, D. M., and Chen, D. D. Y. (2012). The cellular and molecular origin of reactive oxygen species generation during myocardial ischemia and reperfusion. *Pharmacology & Therapeutics*, 133(2), 230-255.

Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. (2000). Biologie végétale (6e éd., B. Jules & M. Charles, Trad.). Paris, France.

Rhee, S. G., Woo, H. A., Kil, I. S., and Bae, S. H. (2012). Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides. *Journal of Biological Chemistry*, 287(7), 4403-4410.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Formation of a yellow color indicating the complex formation between aluminum chloride and o-hydroxy carbonyl phenolic compound. *Journal of Biochemical Chemistry*, 42(2), 78-81.

Saito, Y., Nishio, K., Yoshida, Y., Niki, E. (2015). Oxidative stress and stomach diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 21(16), 13-19.

Sanderson, J. T., Letcher, R. J., Henning, F. C. (1988). The isolation and identification of the major estrogenic isoflavonoid in red clover. *Journal of Steroid Biochemistry*, 30(1-6), 577-582.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3: 91-1001.

Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., Nacro, M. (2010). Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des Sciences*, 10(2), 24-32.

Seymour, T. A., Goss, B. G., Cates, M. C. (2018). Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications. Elsevier.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183.

Slimestad, R., Fossen, T., Vågen, I. M. (2005). Flavonoids and other phenolics in tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3104-3111.

Smail-Saadoun. (2005). Flore et végétation des zones arides et sahariennes. Algérie.

Stahl, W., Sies, H. (2002). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 23(6), 344-351.

Teresa, M., Joan, S. (2020). Adaptation et distribution de *Atriplex mollis* en Afrique du Nord. Journal de Botanique Nord-Africaine, 15(3), 200-215.

Tessier, F., Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & Sports, 10(1), 1-13.

Tlili, A., Sbissi, I., Boughalleb, F., Gouja, H., Garnatje, T., et al. (2019). Phylogenetic placement, floral anatomy, and morphological characterization of the North African pastoral halophyte *Atriplex mollis* Desf. (Amaranthaceae). Turkish Journal of Botany, 43(4), 517-527.

Trabelsi, N., Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Boulaaba, M., et al. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331(5), 372-379.

Traber, M. G., Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. Free Radical Biology & Medicine, 51(5), 1000-1013.

Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2: 1231-1246.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazura, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 160(1): 1-40.

Valko, M., Morris, H., Cronin, M. T. D., Mazur, M., and Telser, J. (2005). Free radicals and metals in medicine: Antioxidants, chelators, and therapeutic metals. Biometals, 18(4), 325-327.

Veal, E. A., Day, A. M., and Morgan, B. A. (2007). Hydrogen peroxide sensing and signaling. Molecular Cell, 26(1), 1-14.

Wang, D., Cederbaum, A. I. (2003). Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. Alcohol Research & Health, 27(4), 277-284.

Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. (2006). Total antioxidant capacity of fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(3), 701-705.

Wong, S. P., Leong, L. P., Koh, J. H. W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry, 99(4), 775-783.

Zengin, G., Sinan, K. I., Mahomoodally, M. F., Paksoy, M. Y., Mollica, A. (2018). The

genus *Anthemis*: A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacological properties and essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 119: 389-406.