

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : S.N.V

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

Etude phytochimique d'une plante medicinale locale *Anabasis articulata*

Présenté par :

M KEMINI Abderrezak
M AMRANI Nassim

Devant le jury composé de :

GOUZI Hicham	Professeur	Université Amar Téliidji	Président
Seffi Ibrahim	MCA	Université Amar Téliidji	Examineur
HADJAISSA Fatima Zohra	MAA	Université Amar Téliidji	Promoteur
Amrani Ouarda	MCB	Université Amar Téliidji	Co-Rapporteur

Année Universitaire 2020/2021

Dédicace

ce modeste travail soit un prélude de l'immense bonheur

que nous comptons vous procurer .

A nos frères et sœurs ; A toute nos familles .

A tous nos amis et connaissances .

nous vous dédions ce travail, témoignage de nos

profonde reconnaissance et nos plus grand

attachement.

Remerciement

Nos remerciements profonds et indescriptibles d'abord et avant tout à Dieu Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force, la santé et le courage de pouvoir accomplir cette humble œuvre.

Nous remercions tout particulièrement nos encadrateurs, Mme Hadj Aissa Fatim et Amrani Ouarda Pour son acceptation de nous encadrer, de la direction, de la confiance qu'elle nous a accordée et de son suivi régulier du développement et des conseils qu'elle nous a prodigués tout au long de ce travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique du département de biologie de l' université Amar Telidji - Laghouat – Nous remercions l aide du m M. Benatmani Wahiba .

Nous exprimons toute notre reconnaissance envers les membres du jury, qu' il nous soit ainsi permis de vous remercier très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail et d' avoir consacré une partie de votre temps précieux à l' examen de ce mémoire

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source importante de molécules bioactives d'origine naturelle. Elles possèdent diverses propriétés biologiques et sont utilisées dans le domaine thérapeutique pour diverses pathologies. La plante *Anabasis articulata* d'origine saharienne a été étudiée, elle est connue pour ses propriétés thérapeutiques en Algérie. Ce travail se concentre à la caractérisation phytochimique des extraits des feuilles d'*Anabasis articulata*, de trois provenances de la région de Laghouat. La comparaison de la composition en polyphénols des extraits des feuilles et leurs activités antioxydantes de différente provenance fait l'objectif de ce travail. Les rendements obtenus des extraits qui varient de 2,1 % à 5,4%. La provenance HOUITA enregistre la teneur en phénols (69.9 mgEAG/g) et flavonoïdes (55.9 mgEQ/g) les plus élevées, ainsi le pouvoir antioxydant a révélé que les extraits possèdent une capacité antioxydante importante, DPPH vari de 2,6 à 3,5 mg/ml et ABTS varier IC 50 H=2,2 mg/ml et IC 50 =2,8 mg/ml.

Mots clés : *Anabasis articulata*, flavonoïdes, polyphénols, Activité antioxydante, DPPH, ABTS, Laghouat.

Abstract

Medicinal plants are an important source of bioactive molecules of natural origin, They have various biological properties and are used in the therapeutic field for various pathologies , The plant *Anabasis articulata* of Saharan origin has been studied, it is known for its therapeutic properties in Algeria. This work focuses on the phytochemical characterization of extracts from the leaves of *Anabasis articulata*, from three provenances from the Laghouat region.

The comparison of the polyphenol composition of leaf extracts and their antioxidant activities from different sources is the objective of this work. The yields obtained from the extracts which vary from 2.1% to 5.4% The HOUITA provenance records the highest content of phenols (69.9 mgEAG / g) and flavonoids (55.9 mgEQ / g), as well as in Antioxidant activities revealed that the extracts have an important antioxidant capacity, DPPH varying from 2.6 to 3.5 mg / ml and ABTS varying IC 50 H = 2.2 mg / ml and IC 50 = 2.8 mg / ml.

Keywords: *Anabasis articulate*, flavonoids, polyphenols, Antioxidant activity, DPPH, ABTS, Laghouat.

ملخص

تعتبر النباتات الطبية مصدرًا مهمًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا ذات الأصل الطبيعي. لها خصائص بيولوجية مختلفة وتستخدم في المجال العلاجي لأمراض مختلفة. تمت دراسة نبتة *Anabasis articulata* من أصل صحراوي ، وهو معروف بخصائصه العلاجية في الجزائر. يركز هذا العمل على التوصيف الكيميائي النباتي لمستخلصات من أوراق نبتة *Anabasis articulata*، من ثلاثة مناطق في الأغواط. الهدف من هذا العمل هو المقارنة بين تركيبة البوليفينول لمستخلصات الأوراق وأنشطتها المضادة للأكسدة من مصادر مختلفة. وتتراوح غلة المتحصل عليها من الخلاصات من 2.1% إلى 5.4%. يسجل منشأ الحويطة أعلى محتوى من الفينولات (69.9 مجم / EAG جم) والفلافونيدات (55.9 مجم / EQ جم) ، وبالتالي أظهرت قوة مضادات الأكسدة أن المستخلصات لها قدرة مضادات أكسدة مهمة ، وتتراوح DPPH من 2.6 إلى 3 ، 5 مجم / مل و تتنوع ABTS في $IC_{50} H = 2.2$ مجم / مل و $IC_{50} = 2.8$ مجم / مل.

الكلمات المفتاحية

Anabasis articulata، مركبات الفلافونويد ، البوليفينول ، نشاط مضادات الأكسدة ، DPPH ، ABTS ، الأغواط.

Liste de Tableaux

Tableau 1	Caractérisation des extraits méthanoliques des trois provenances étudiées	25
Tableau 2	Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des feuilles de trois provenancesd	28
Tableau 3	les teneurs en flavonoïdes des extraits purs méthanoliques des feuilles de trois provenance	29
Tableau 4	illustre la moyenne des trois provenances en phénols totaux et flavonoïdes et ABTS en comparaison a d autres plante	35

Listes des figures

Figure 01	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	9
Figure 02	Structure de base des flavonoïdes	10
Figure 03	Structure d'un stilbène	11
Figure 04	photo <i>anabasis articulata</i> (Kser Elhirane 2021)	13
Figure 05	<i>Anabasis articulata</i> (Forssk) (a)Houita (b)Kser Elhirane (c)Sid Makhlouf	16
Figure 06	piégeage du radical libre DPPH	21
Figure 07	Structure du L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)	22
Figure 08	Réaction du radical ABTS•+en présence d'un antioxydant	23
Figure 09	Rendement d'extraction des feuilles d' <i>Anabasis articulata</i> de trois provenances	26
Figure 10	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	27
Figure 11	Courbe d'étalonnage de la quercétine	29
Figure 12	représentent les proportions des flavonoïdes en phénols totaux	30
Figure 13	Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait	31
Figure 14	Courbes représentant la variation du pourcentage de réduction d'ABTS en fonction de la Concentration des extraits de trois régions	33

LISTE DES ABREVIATION

% : *Pourcentage*

°C : *Degré Celsius*

µl : *Microlitre*

µm : *Micromètre*

Abs: *Absorbance*

Ac : *Acide*

AlCl₃ : *Chlorure d'aluminium*

AQ : *Extrait Aqueuse*

DO : *Donsité Optique*

DPPH : *Diphenylpicrylhydrazyl*

ERO : *Espèces Réactives d'Oxygène*

EtOH : *Extrait éthanolique*

Fe : *Feuilles*

Fe³⁺ : *Fer Ferrique*

FeCl₃ : *Chlorure de fer*

FRAP : *Ferric Reducting Antioxidant Power*

g : *Gramme*

GSS: *Gultat Sidi Saad*

HCl : *Chlorure d'hydrogène*

I% : *Inhibition (Pourcentage)*

IC₅₀: *Concentration Inhibitrice à 50%*

LDL : *low density lipoprotein*

MeOH : *Extrait Méthanolique*

mg : *Mlligramme*

mg EAG/g MS: *mg équivalent à l'cide gallique par un g de la matière sèche*

mg/g : *milligramme par gramme*

mg/ml: *Milligramme par millilètre*

min : *Minutes*

ml : *Milliliter*

Na₂CO₃ : *Carbonate de sodium*

NADPH : *Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate*

Sommaire

Dedicace	
remerciement	
Résumé	
Liste de Tableaux	
Liste de Figure	
Liste des abréviations	

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1. Phytothérapie	4
I.1.1. Définition des plantes médicinales	4
I.1.2. Médicaments à base des plantes	4
I.1.3. Principes actifs des plantes médicinales	5
I.1.4. Différents groupes des principes actifs	5
I.1.4.1. Les métabolites primaires	5
I.1.4.2. Les métabolites secondaires	5
I.2. Activité biologique	5
I.2.1. le stress oxydant	5
I.2.2. Stress oxydant et pathologies humaines	6
I.2.3. Les Radicaux libres	6
I.2.3.1. Origine des radicaux libres	7
I.2.3.2. Rôles biologiques des radicaux libres	7
I.2.4. Les conséquences biologiques du stress oxydant	7
I.3. Les métabolites secondaires	8
I.3.1. Classification des métabolites secondaires	8
I.3.1.1 Structure chimique	9
I.3.1.2 Biosynthèse des polyphénols	9
I.3.1.3 Classification des polyphénols	10
a. Les flavonoïdes	10
b. Les lignanes	11
c. Les stilbènes	11
d. Les coumarines	11
c. Les tannins	12
I.4 Présentation de la plante	12
I.4.1. Description botanique	12
I.3. Propriétés et usages thérapeutiques	13
I.4. Travaux antérieurs	14
CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES	15
II.1. Matériel végétal	16
II.1.1. Choix de la plante	16

II.1.2. Collecte du matériel végétal	16
II.2. La méthode d'extraction	17
II.2.1 Préparation des extraits	17
2.2. Méthode d'extraction des polyphénols	17
II.2.1. Macération	17
II.2.2. Dépigmentation	17
II.2.3. Purification	17
II.3. Calcul le rendement des extraits	18
II.4. Analyses qualitatives	18
II.4.1. Test des phénols	18
II.4.2 test des flavonoïdes	18
II.5. Analyses quantitatives	18
II.5.1. Dosage des phénols totaux	18
a.Principe	19
b.Mode opératoire	19
c.Courbe d étalonnage	19
II.5.2. Dosage des flavonoïdes	19
a.Principe	20
b.Mode opératoire	20
c.Courbe d étalonnage	20
II.6. Activité antioxydante (in-vitro)	20
II.6.1. Evaluation de l'activité antioxydant par Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)	20
a. Principe	21
b. Mode opératoire	21
II.6.2. Méthode de piégeage du radical libre ABTS	22
Protocole expérimentale	23
CHAPITREIII RESULTATS ET DISCUSSION	24
III.1. Rendement d'extraction	25
III.2. Analyse quantitative de composés phénolique	27
III .2 .1 Dosage des phénols totaux	27
III .2 .2 Dosage des flavonoïdes	28
III .2 .3 Activité antioxydante	30
III .2 .3 .1 Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)	30
III .2 3.2Activité de piégeage du radical ABTS (L'Acide 2,2'-Azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique	33
III.3.3 Comparaison a d'autre plantes	34
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	36
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les plantes médicinales ont toujours joué un rôle de grande importance dans la santé humaine. À l'heure actuelle, les substances chimiques issues du métabolisme secondaire qu'elles contiennent, sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, en raison de leurs diverses activités biologiques (anti-oxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, anti-hémolytique, antimicrobienne... etc). Elles représentent près de 60 % des médicaments dont nous disposons . Les 40 % restants sont souvent issus de la synthèse chimique de molécules ou parties de molécules naturelles prises comme tête de séries . Selon un rapport de l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour traiter diverses maladies.

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques en Afrique dont l'Algérie est une partie intégrante de la culture et de la tradition . Cependant, cette utilisation empirique ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des réelles nécessités de la thérapeutique actuelle.

De nombreuses recherches à travers le monde se sont orientées vers la valorisation de la flore par la découverte de substances naturelles douées d'activités biologiques. Le travail de recherche qui m'a été confié rentre dans ce contexte et est axé principalement sur l'étude de la composition chimique et l'évaluation des propriétés anti-oxydante , d'une plante locale nommée *articulata anabasis* est connue par sa richesse en divers métabolites secondaires comme les alcaloïdes , les polyphénols et les flavonoïdes.

L'objectif de cette étude porte principalement sur la composition chimique et l'évaluation en laboratoire de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et des feuilles de la plante étudiée *anabasis articulata* , une espèce des hauts plateaux et du Sahara algériens (LAGHOUAT).

Ce mémoire est subdivisé en deux grandes parties principales :

Une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques sur les plantes médicinales, les métabolites secondaires et les activités biologiques.

INTRODUCTION

La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur le matériel et méthodes de travail ; et la deuxième regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis par une discussion. Une conclusion générale résume l'ensemble des résultats issus de cette étude et présente les perspectives de recherche concernant toutes les étapes à réaliser dans l'avenir.

CHAPITRE I

Plante médicinale et principes actifs

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

CHAPITRE I: Plante Médicinale et Principes Actifs

Parmi les espèces végétales sahariennes, *Anabasis articulata* qui fait partie de la famille des *Amarantacées* (*Chénopodiacées*) est largement utilisée par la population locale du Sahara pour traiter plusieurs maladies telles que le diabète.

I.1. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifie respectivement "plante" et "traitement" (Wichtl et Anton, 2003). La phytothérapie est donc une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plantes. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle », qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui perpétuent les usages de leurs ancêtres (Limonier, 2018).

1.1.1. Définition des plantes médicinales

Le terme d'une plante médicinale désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des substances appelées principes actifs, pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques sans effets nocifs en respectant les doses recommandées (**Didier et al., 2011**). Ces principes actifs peuvent être des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles c'est-à-dire possédant des effets qui se rapportent à la santé, ou ont été prouvés utiles comme médicaments selon les normes occidentales, ou qui contiennent des constituants qui sont utilisés comme médicaments (**Máthé, 2015; Bureau, 2016**).

I.1.2. Médicaments à base des plantes

Ce sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue végétale. Les composants à effets thérapeutiques connus sont des substances ou des groupes de substances, définis chimiquement, dont la contribution à l'effet thérapeutique d'une drogue végétale ou d'une préparation est connue (Chabrier, 2010).

I.1.3. Principes actifs des plantes médicinales

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale (Chabrier, 2010). Parmi leurs principes actifs naturels les plus courants, on peut nommer les polyphénols (Bahri et al., 2017), les terpénoïdes

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

(Hennebelle *et al.*, 2007; Dhar *et al.*, 2017), les stéroïdes, les alcaloïdes (Seabrooks et Hu, 2017), les vitamines (A, C, E et K) (Turhan et Bör,2016), les caroténoïdes (Cueto *et al.*, 2017), les tanins (Huang *et al.*, 2017), les saponines (Singh et Kaur, 2018), les pigments (Kumara *et al.*, 2017) et les minéraux (Velandar *et al.*, 2017) qui possèdent diverses activités biologiques.

I.1.4. Différents groupes des principes actifs

Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux. On distingue deux classes de métabolites.

I.1.4. 1. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie.

Ils sont classés en trois grandes catégories (Koné, 2009) :

- Les glucides
- Les lipides
- Les protéines.

I.1.4.2. Les métabolites secondaires

On appelle métabolite secondaire des composés bio synthétisés naturellement par les végétaux, qui ne participent pas directement à son développement. Ces métabolites sont responsables des fonctions périphériques essentielles à la survie de la plante (Sensri et El Bar, 2017). Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, flavonoïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires, ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques (Koné, 2009).

I.2. Activité biologique

I.2.1 le stress oxydant

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO) et leur destruction par des systèmes de défense antioxydants (Ammari et Laouar, 2019).

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatif (Berkal et Bouchama, 2016).

Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces réactives d'oxygènesont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions, on dit que la balance pro oxydant/anti-oxydants est en équilibre (figure 09) (Ammari et Laouar, 2019).

I.2.2.Stress oxydant et pathologies humaines

Les radicaux libres réagissent avec les tissus voisins causant des lésions oxydatives par extension de proche en proche, lésant les acides nucléiques, les lipides, les protéines et les hydrates de carbone. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement et la dégradation des cellules et des tissus.

La recherche de ces deux dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant : cancer, cataracte, sclérose latérale, syndrome de détresse pulmonaire aigu, oxydation des LDL, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré et inflammation. Il sera aussi l'un des facteurs potentialisant la genèse de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Benkaddour & Ben abd allah, 2019).

I.2.3 Les Radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron, il peut arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en cédant un électron (agissant alors comme un réducteur) (Berkal & Bouchama, 2016).

La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) et ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices. Cette instabilité rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques (Ammari & Laouar, 2019).

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

I.2.3.1 Origine des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits continuellement à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule eucaryote par divers mécanismes. On parle donc de deux sources exogènes et endogènes :

Sources exogènes

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (figure 10) (Berkal & Bouchama, 2016).

Sources endogènes

Les enzymes pro-oxydantes, incluant la NADPH-oxydase, la NO-synthase ou la chaîne du cytochrome P450 peuvent générer des RLO, lors du transport des électrons dans la chaîne respiratoire des cellules aérobies, une réduction incomplète de l'O₂ peut apparaître pour 1 à 2% de l'oxygène moléculaire conduisant à la formation de RLO, surtout l'anion O₂^{•-} (Berkal & Bouchama, 2016).

I.2.3.2 Rôles biologiques des radicaux libres

Les radicaux libres jouent des rôles essentiels dans le bon déroulement de la réaction immunitaire par l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydesdismutases (SOD) et la NO Synthase qui aboutissent à l'O^{•-}, H₂O₂, HO[•] et autres radicaux libres. La présence de chlore donnera la naissance à l'acide hypochlorique HOCl, c'est l'oxydant microbicide le plus puissant dans la phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires.

Les radicaux libres peuvent aussi en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation (Benkaddour & Ben abd allah, 2019).

I.2.4 Les conséquence biologiques du stress oxydant

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation des foetus, dépôt de

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Benzineb & Menadi, 2019).

I.3. Les métabolites secondaires

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques.

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Berkal & Bouchama, 2016).

I.3.1 Classification des métabolites secondaires

On peut classer les SM en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction.

Les composés phénoliques jouent un rôle fondamental, car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé.

Une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Berkal & Bouchama, 2016)

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

I.3.1.1 Structure chimique

Les polyphénols caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substituants qui les relient (Berkal & Bouchama, 2016).

I.3.1.2 Biosynthèse des polyphénols

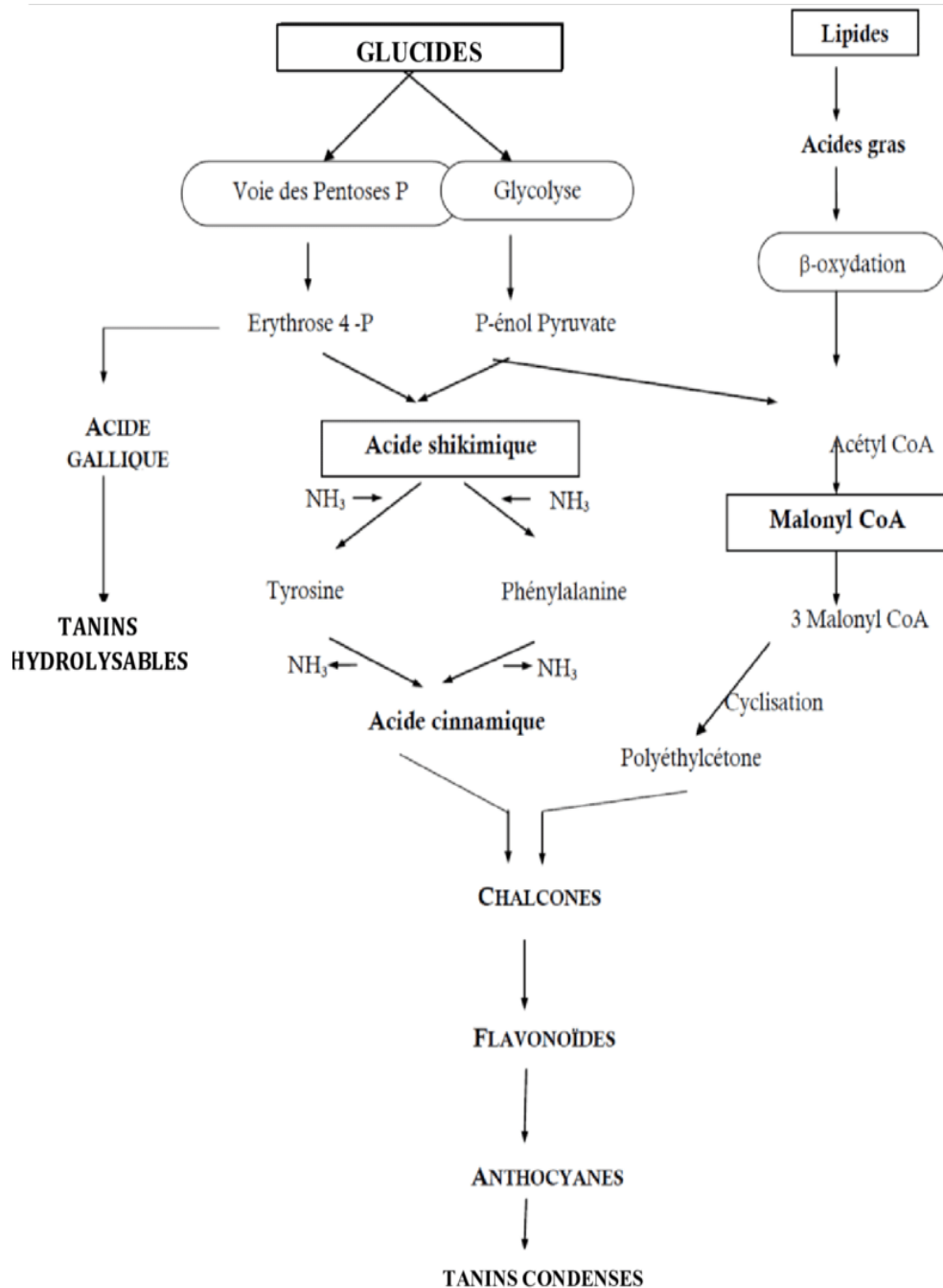


Figure 01 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Berkal & Bouchama, 2016).

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

I.3.1.3 Classification des polyphénols

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins. Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Et présents chez toutes les céréales ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets probiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques. Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer oesophagien chez les rats (Berkal & Bouchama, 2016).

a. Les flavonoïdes

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

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits et jouent un rôle important dans la protection des plantes. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Berkal & Bouchama, 2016).

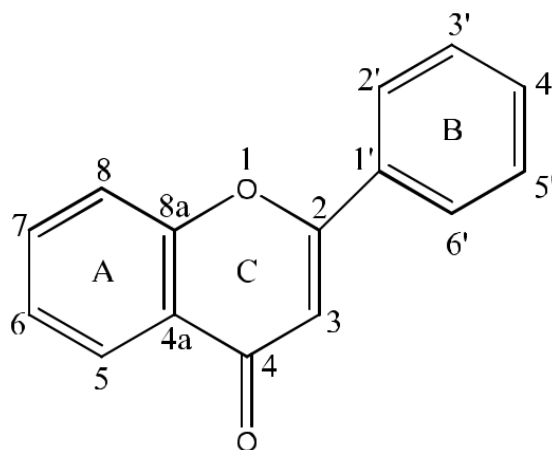


Figure 02 : Structure de base des flavonoïdes (Benarous, 2018).

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

b. Les lignanes

Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936. Ils sont les dimères des unités de phenylpropane (C6 C4).

Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique est large : plusieurs centaines des composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles chez les gymnospermes, Ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, Ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits est les graines (figure 06) (Berkal & Bouchama, 2016).

c. Les stilbènes

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule. Les stilbènes sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (figure 07) (Berkal & Bouchama, 2016).

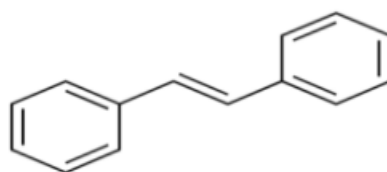


Figure 03 : Structure d'un stilbène (Yezza & Bouchama, 2014)

d. Les coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuse*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines. Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Berkal & Bouchama, 2016).

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

e. Les tannins

Les tannins (ou tanins) sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir.

Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau. D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da, ils sont caractérisés de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité (Berkal & Bouchama, 2016).

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes :

- **Les tannins hydrolysables :**

Les tannins hydrolysables (THs) sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol

Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol : Les tannins galliques et Les tannins éllagiques (Berkal & Bouchama, 2016).

- **Les tannins condensés**

Les tannins condensés (TCs), ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavanoïdes. Ils sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine), liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (Berkal & Bouchama, 2016)

I.4. Présentation de la plante d'étude

I.4.1. Description botanique

Anabasis articulata est une plante saharienne spontanée endémique (Ozenda, 2004), halophile (Hamdoon et al., 2013), arbuste (à buisson bas) (Figure 1), elle mesure 20 à 40cm. Elle se présente comme une touffe verte bleutée très claire au port ramifié, rampant, ornée de petite feuilles soudées par deux, en forme d'écailles (Kherraze et al., 2010). Les fleurs blanches rosées sont isolées à l'aisselle de chaque feuille. Le fruit est entouré par trois ailes dues à la dilatation de trois de ces sépales. Elle est commune dans les sols pierreux de tout le

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

Sahara, jusqu'au Sahara méridional (Ozenda, 2004). Son étalement au sol contribue à la fixation du sable à son niveau (Kherraze et al., 2010).



Figure 04 :photo *anabasis articulata* (Originale 2021)

La classification d'*A. articulata* a été faite par (Quezel et Santa, 1963; Dupont et Guignard, 2007).

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous classe : Pré-astéridées

Ordre : Caryophyllales

Familles : Amarantacées

Genre : *Anabasis*

Espèce : *Anabasis articulata* (Forsk.) Moq.

Noms vernaculaires : Belbel, Djell (Quezel et Santa, 1963), Ajrem et Baguel (Kherraze et al., 2010).

I.4.3. Propriétés et usages thérapeutiques

De nombreuses espèces végétales sahariennes ont des vertus précieuses, elles ont été utilisées dans la médecine traditionnelle par la population indigène contre la diarrhée, le diabète, l'asthme, les rhumatismes et le cancer (Chopra, 1956). Parmi ces espèces, *A. articulata* est un remède pour le traitement du diabète (Kambouche et al., 2011).

CHAPITRE I Plante médicinale et principes actifs

Les parties aériennes sont utilisées en décoction et sous forme de cataplasme pour soigner les dermatoses, les maladies de la peau (eczéma), les maux de tête et la fièvre (Hammiche et Maiza, 2006). D'autres effets thérapeutiques contre les lésions hépatiques et les infections rénales (Azza et al., 2014) et aussi des propriétés cholinergiques ont été signalés chez cette espèce (Tilyabaev et Abduvakhabov, 1998)

I.4.4. Travaux antérieurs

Peu d'études ont été réalisées sur la phytochimie d'*A. articulata* (Batanouny, 1999 ; Kambouche et al., 2009 (b) ; Eman, 2011). Ces auteurs ont mis en évidence la présence des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des alcaloïdes, des carbohydrates et/ou des glycosides, des coumarines et des triterpènes dans les extraits de cette espèce. D'autres auteurs ont montré l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux d'*A. articulata* (Benhammou, 2012 ; Ghambaza, 2015), ainsi que certains auteurs ont démontré que l'extrait butanolique des saponines d'*A. articulata* a une activité antimicrobienne élevée contre plusieurs souches bactériennes par rapport à celle de l'extrait des alcaloïdes (Maatalah et al., 2012).

CHAPITRE II

Matériel

et méthodes

CHAPITRE II Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal

II.1.1 Choix de la plante :

Anabasis articulata c'est une plante spontanée qui pousse dans des régions à caractère climatique aride. Elle possède des activités antioxydante et hypoglycémiant, du fait de sa richesse en composés phénoliques. Donc cette plante a été choisie pour son potentiel biochimique important.

Le but de cette étude est d'étudier la composition phytochimique de la plante *Anabasis articulata* appelée communément Begel et de comparer sa composition entre différentes provenances de la wilaya de Laghouat. Les parties d'*Anabasis articulata* qui font l'objet de cette étude sont les feuilles. L'étude expérimentale a été réalisée sur les feuilles

II.1.2. Collecte du matériel végétal :

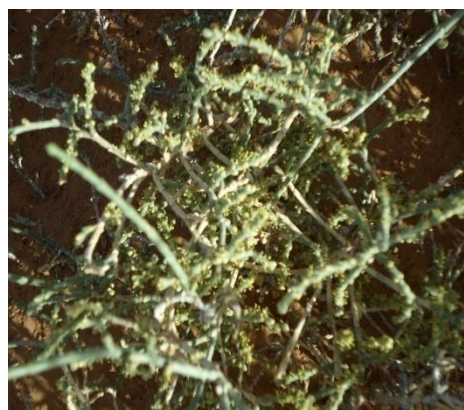
La collecte a été effectuée au début du mois d'avril 2021 au niveau de La wilaya de Laghouat dans les 3 provenances suivantes : SIDI MAKHLOUF, HOUITA, KSSER ELHIRAN (figure ?).



a



b



c

Figure 05 : *Anabasis articulata* (Forssk): (a) Houita; (b) Kser Elhirane ; (c) Sid Makhlouf (Originale 2021)

CHAPITRE II Matériel et méthodes

II.2. La méthode d'extraction

II.2.1 Préparation des extraits :

Après collecte, le matériel végétal est bien nettoyé, afin d'éliminer les poussières et les impuretés. Puis essuyé et séchées à l'air libre, à l'ombre (pour préserver au maximum l'intégrité des molécules) et à température ambiante jusqu'au séchage complet, et par la suite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine, puis tamisées. Les poudres ont été conservées dans des sacs en papier à l'abri de la lumière. Le matériel végétal de *Anabasis articulata* a été utilisé dans l'extraction par macération avec un solvant polaire ; méthanol (80/20)

II.2.2. Méthode d'extraction des polyphénols :

Les composés phénoliques ont été extraits selon la méthode décrite par M.G.L HERTOOG (1995). Cette méthode comporte trois étapes :

II.2.2.1. Macération

1 g de chaque partie de plante d'*Anabasis articulata* (feuilles), finement broyé est macéré simultanément dans 100 ml du mélange méthanol/eau : MeOH/h₂O à température ambiante. L'extrait est séparé du tourteau par filtration sur papier filtre (Whatman 0.7µm). Après filtration, le mélange a été évaporé à sec à l'étuve 30°C jusqu'au séchage complet.

II.2.2.2. Dépigmentation

La phase aqueuse ainsi obtenue est lavée trois fois avec 25 ml de l'éther de pétrole. Le rôle de l'éther de pétrole éliminé les lipides, les pigments et tous les composés apolaires.

II.2.3.3. Purification

La phase aqueuse a subi une décantation avec l'acétate d'éthyle (v/v). Par l'ajout de deux solutions aqueuses l'une de sulfate d'ammonium (20%) et l'autre de l'acide ortho-phosphorique (2%), qui facilitent le passage des substances phénoliques vers la phase organique. La phase organique ainsi obtenu a été séchée en ajoutant une quantité suffisante du sulfate de sodium anhydre (pour éliminer toutes les traces d'eau distillée après l'extraction liquide-liquide) et ensuite évaporée à sec sous vide. Le résidu est repris par 10 ml méthanol. (Hadj Aissa, 2004).

CHAPITRE II Matériel et méthodes

II.3. Calcul le rendement des extraits :

La productivité des extraits est le rapport entre la masse de matière végétale sèche extraite obtenue qui est notée (Me) sur la masse de matière végétale sèche utilisée et symbolisée par le symbole (Mv), Il est calculé en utilisant la relation suivante.

$$R\%=(Me/Mv)\times 100$$

$R\%$: rendement des extraits en %.

Me : La masse de matière sèche extraite après évaporation du solvant.

Mv : Masse de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction, qui est égale à 1g

II.4. Analyses qualitatives

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques constituants une plante ; les tests y sont basés sur l'intensité du précipité et de la turbidité, la coloration étant proportionnelle à la quantité de substances recherchées (Lamia, Ghizlane, Jamal, & Laila, 2016). Le screening phytochimique a nécessité divers réactifs.

Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques

II.4.1. Test des phénols

Introduire Quelques gouttes de **FeCl₃** 2% ajoutées au mélange de 1ml de l'extrait et 1 ml de l'éthanol à 96% conduit à l'apparition d'une coloration bleue qui indique la présence de phénols (Adra & Manel, 2018).

II.4.2. Test des flavonoïdes :

Un volume de l'extrait est traité avec quelques gouttes de **AlCl₃** (2%), la formation de couleur jaune, indique la présence de flavonoïdes (Khacheba, 2020).

II.5. Analyses quantitatives

Dans le but de quantifier le contenu en composés phénoliques des extraits d'*Anabasis articulata* deux protocoles ont été suivis :

II.5.1. Dosage des phénols totaux

Les phénols totaux ont été dosés par la méthode utilisant le réactif de **Folin-Ciocalteu** décrite par Singleton et Rossi en (1965), utilisée dans plusieurs travaux. (Mbaïhougadobé, et al., 2017).

CHAPITRE II Matériel et méthodes

a. Principe

Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction de réactif de Folin-Ciocalteu (Tirgine, 2016). Il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃ PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄) (Taouzinet, 2017), qui sont réduits, lors de l'oxydation des polyphénols, en oxyde bleus de Tengstène (W₈O₂₃) et de Molybdène (MO₈O₃) (Hadj Aissa, 2004), en présence de carbonate de sodium (Tirgine, 2016).

b. Mode opératoire

100 µl de chaque extrait dilué a été mélangé avec 500 µl de Folin-Ciocalteu (10 %) et 2 ml de Na₂CO₃ carbonate de sodium (20%) et 1 ml d'eau distillé. Après une heure à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance de l'extrait a été mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm (Adra & Manel, 2018). L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des polyphénols présents dans les extraits (Tirgine, 2016).

c. Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage est réalisée avec une gamme d'étalon d'acide gallique (Mbaihougadobé, et al., 2017). Pour ce faire, une courbe d'étalonnage a été établie au préalable en préparant une gamme de solution d'acide gallique à différentes concentrations variant de 0.01 et 0.1mg/ml.

500µl du réactif de (**RF-C**) dilué 10 fois a été ajouté à la solution d'acide gallique à différentes concentrations. Puis 2 ml d'une solution de Na₂ CO₃ (20%). Les absorbances ont été mesurées à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible après incubation pendant 30 min à 37 °C (Rasmané Abdou, et al., 2015). Les résultats sont exprimés en équivalents d'acide gallique, après l'établissement d'une droite d'étalonnage.

II.5.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été basée sur la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium (AlCl₃) et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Achouche & Azouzi, 2019). La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour déterminer la teneur en flavonoïdes dans nos extraits (Adra & Manel, 2018).

CHAPITRE II Matériel et méthodes

a. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement OH libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} , la coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Tirgine, 2016).

d. Mode opératoire

1 ml de chaque extrait dilué au méthanol (avec dilution convenable), est mise à réagir avec 1 ml d'une solution MeOH ou EtOH de tri chlorure d'aluminium (2%). Après 15 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 430 nm. (Hadj Aissa, 2004).

e. Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage est établie avec des solutions standards de Quercetine à différentes concentrations.

Une solution méthanolique de Quercetine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0,01 et 0,12 mg/ml permettront de tracer la courbe d'étalonnage (Ali-rachedi, Meraghni, Touaibia, & Sabrina, 2018).

II.6. Activité antioxydante (in-vitro)

L'évaluation du pouvoir antioxydant d'un extrait est importante si l'on veut apprécier sa capacité de défense contre le stress oxydant (Hadj Aissa, 2004).

Dans cette étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro des différents extraits issus de la plante étudiée est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, et la chélation des ions métalliques comme le Ferric Reducing Antioxidant Power (le teste FRAP) et ABTS .

II.6.1. Evaluation de l'activité antioxydant par Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable. Dans ce test les antioxydants réduisent le Diphénylpicryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Talbi, et al., 2014).

CHAPITRE II Matériel et méthodes

a. Principe

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à piéger le radical libre DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). Le radical DPPH• est réduit en son hydrazine correspondant lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antiradicalaire (Tirgine, 2016). Le mécanisme est récapitulé dans la Figure

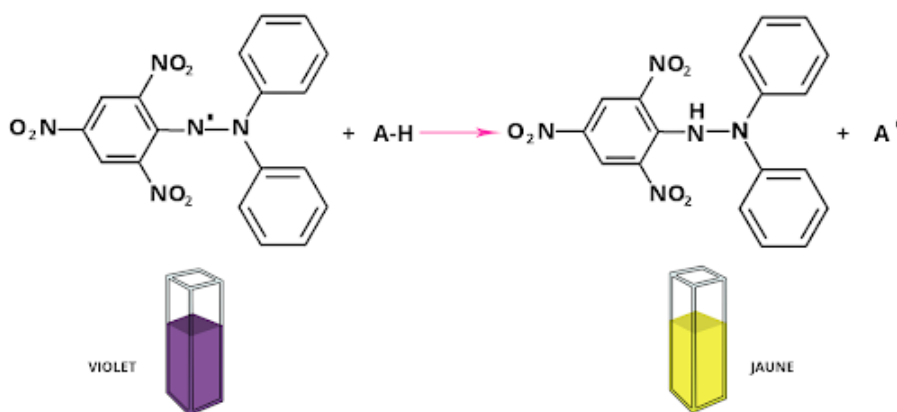
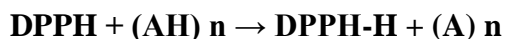


Figure 06: piégeage du radical libre DPPH.

La disparition de la couleur violette de DPPH est expliquée par la réduction en Diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivant :



Où (AH)_n représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en Diphényle picryl hydrazine (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. (Adra & Manel, 2018) Avec quelques modifications.

II.6.2. Mode opératoire

a. La préparation du DPPH

Le protocole expérimental utilisé est celui de Brand-Williams et al. (1995) avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 0,0098 g de DPPH dans 100ml de méthanol (Benidiri & Benmammar, 2016).

CHAPITRE II Matériel et méthodes

b. Préparation de l'extrait

100 µl de chaque extrait dilué par 900 µl de méthanol, puis on ajoute à chacun un volume de la solution mère (20 µl – 200 µl) et on complète le volume avec le méthanol jusqu'à 500 µl, afin d'obtenir des solutions de différentes concentrations. Ces concentrations ont été ajoutées à 500 µl de la solution de DPPH fraîchement préparée (Tirgine, 2016). Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité. Les Abs ont été mesurées à 517nm.

Un standard de référence représenté par l'acide ascorbique a également été analysé en respectant la même procédure.

L'activité antiradicalaire de chaque extrait a été estimée en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante (Adra & Manel, 2018).

$$\%Inhibition = [(Abs\ Contr\hat{o}le - Abs\ d'extrait) / Abs\ contr\hat{o}le] \times 100.$$

II.6.2. Méthode de piégeage du radical libre ABTS :

Ce test basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé ABTS^{•+} est généré en présence des ions persulfates ABTS + Ions persulfates ABTS^{•+}

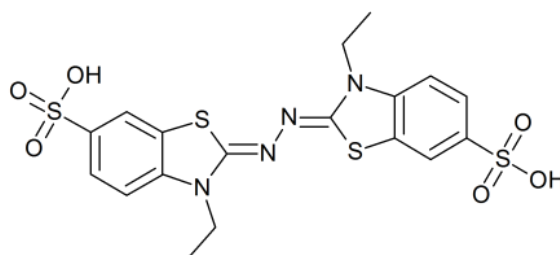


Figure 07: Structure du L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS^{•+}. Le radical ABTS^{•+} est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec le persulfate de potassium K₂S₂O₈. En présence de Trolox (ou d'antioxydant donneur de H[•]), le radicale d'azote concerné piège un Conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution.

CHAPITRE II Matériel et méthodes

L'absorbance résiduelle du radical ABTS^{•+} est mesurée à 734 nm après 6 minutes.

Ce test est simple, opérationnel, reproductible, et peut être utilisé dans différents milieux.

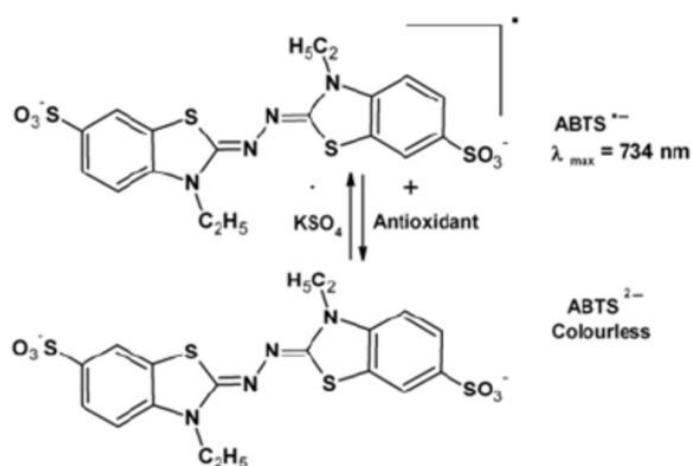


Figure 08: Réaction du radical ABTS^{•+} en présence d'un antioxydant

II.6.3. Protocole expérimentale

Une solution du radical ABTS^{•+} à 7mM est préparée dans l'eau distillée contenant 2,45mM de persulfate de potassium. Le mélange a été mis en incubation à l'obscurité pendant 12 h à température ambiante. La solution d'ABTS^{•+} obtenue est diluée dans du méthanol de manière à ce que l'absorbance du mélange soit d'environ 0,7 à 734 nm (**Gouzi et al. 2013**).

Dans des tubes à essai, 100 µL de chaque dilution de l'extrait est mélangé avec 950 µL de la solution d'ABTS^{•+}. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 5 min. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible à 734 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif.

L'activité d'inhibition du radical ABTS est calculée selon la formule suivante:

$$A (\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100.$$

Avec:

A₀: Absorbance de l'ABTS (seul)

A₁ : Absorbance de l'ABTS + échantillon à tester.

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux ABTS (IC₅₀) est calculée de la même manière que celle effectuée pour le radical DPPH.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

CHAPITRE III Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction

Le méthanol est un solvant très efficace pour l'extraction des composés phénoliques relativement polaires et des polyphénols des plantes (Zeng et al., 2012). Par conséquent, nous avons utilisé ce solvant pour la préparation des extraits bruts de nos plantes. L'extrait de méthanol a été préparé pour les feuilles des plantes de trois provenances, par macération pendant 48 heures, Après filtration et évaporation, nous avons calculé le rendement, ainsi que l'observation des propriétés des extraits en termes de couleur et de forme.

Le poids du résidu sec de chaque plante varie en fonction de la provenance, la composition chimique des échantillons et la nature du solvant et de sa polarité.

Les tests phytochimique consistent à détecter les différentes familles des composés existantes dans la plante *Anabasis articulata*, par des réactions de précipitation ou de changement de couleurs spécifique. La caractérisation des extraits est présentée par le tableau

Tableau 01 : Caractérisation des extraits méthanoliques des trois provenances étudiées

Provenance	Partie utilisée	Couleur
<i>Kassr hiran</i>	<i>feuilles</i>	Vert
Sidi Makhlouf	<i>feuilles</i>	Vert
Houita	<i>feuilles</i>	Vert

la figure 09 montre les rendements d'extraction

CHAPITRE III Résultats et discussion

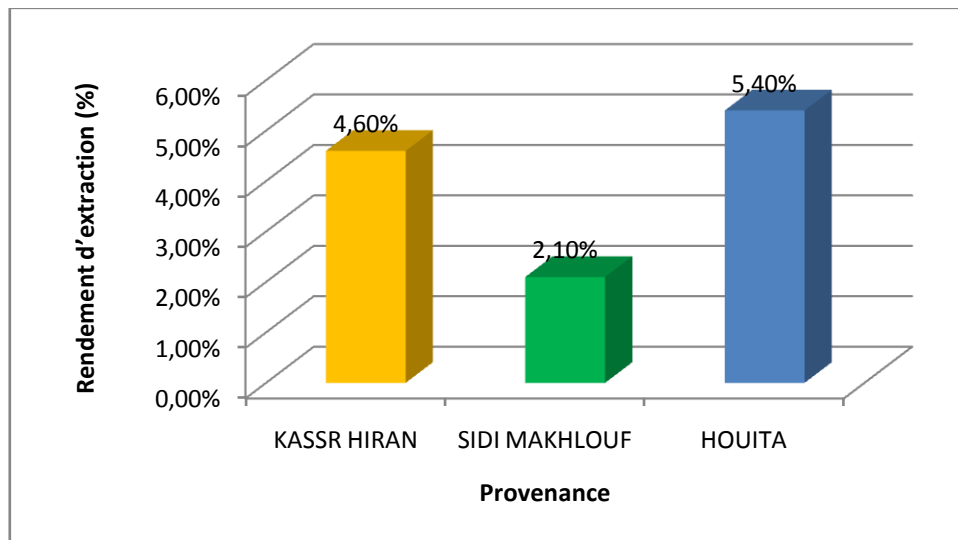


Figure 09 : Rendement d'extraction des feuilles d'*Anabasis articulata* de trois provenances

D'après la figure 09, le rendement d'extraction des composés phénoliques obtenus varient de 2,1 ; 4,6 % et 5,4%. La provenance de HOUITA enregistre le meilleur rendement d'extraction (5,4 %). Le rendement le plus faible est celui de la plante provenant du Sidi Makhlof (2,1%).

Nous pouvons dire que la méthode d'extraction par macération en utilisant le mélange Méthanol/Eau est adéquate pour extraire les alcaloïdes à partir des rameaux d'*A. articulata* prouver par Bouderbali (2017).

Des travaux réalisés sur la plante *A. articulata* ont montré que l'extrait méthanolique a un rendement élevé de l'ordre de 28% (Abdallah *et al.*; 2014). D'autres auteurs ont confirmé que cette espèce a toujours un rendement important de l'ordre de $5.95 \pm 0.25\%$ par rapport à d'autres constituants (Benhammou *et al.*, 2013).

on a trouvé un rendement d'*anabasis articulata* se varier entre 2,1 et 5,4% .D'autre étude du GHenbaza (2015) au région du BECHAR a trouvé un rendement d'*anabasis articulata* est de 5.4% similaire a notre provenance HOUITA .

Selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction, la polarité de solvants utilisés sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en composés polaires (Salminen, 2003; Iloki-Assanga *et al.*, 2015).

CHAPITRE III Résultats et discussion

III.2. Analyse quantitative de composés phénolique

La teneur en phénols totaux de chaque extrait obtenu de plante a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matériel sèches.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de chlorure d'aluminium en utilisant comme standard la quercétine, la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matériel sèches (Ramdane, 2018).

Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés anti oxydantes des plantes leur sont attribués (Amari & Gourissi, 2017). Les analyses quantitatives des phénols totaux, des flavonoïdes sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage.

III .2 .1 Dosage des phénols totaux

La couleur bleue après une heure d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le F-CR. L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le bleu foncé est fonction de la teneur en polyphénols (Tirgine, 2016).

Le contenu phénolique dans les extraits d'*Anabasis articulata* est exprimé en termes d'équivalent d'acide gallique et déterminé à partir de l'équation de régression linéaire :

$$y = 7.0242x + 0.0147$$

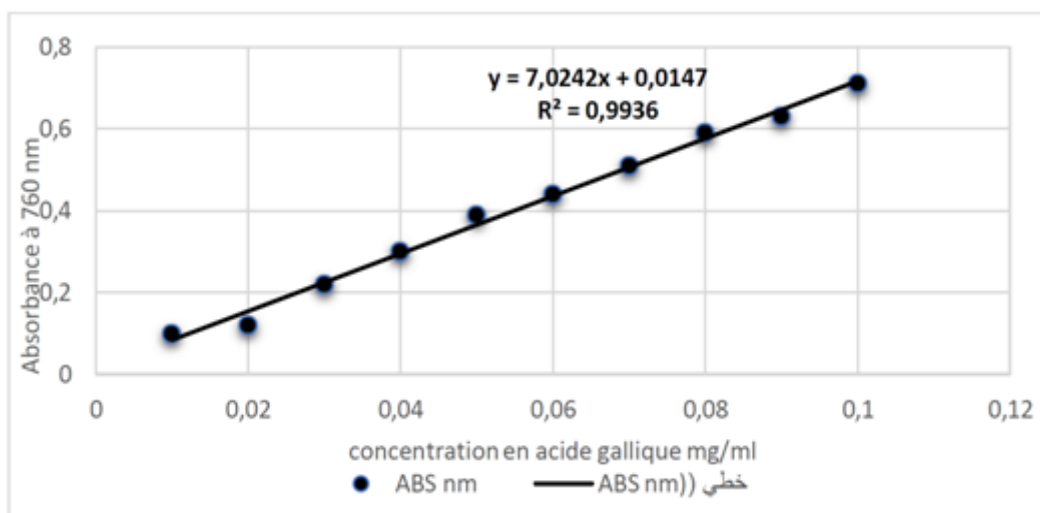


Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

CHAPITRE III Résultats et discussion

Tableau 02 : Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des feuilles de trois provenances

La provenance	Polyphenols totaux (mgEAG/g résidu sec)
KASSR HIRAN	44,6±0.1
SIDI MAKHLOUF	25,2±0.2
HOUITA	69,9±0.15

EAG : Equivalent Acide Gallique

On remarque d'après les résultats illustré dans le tableau ci-dessus, que la teneur en composé phénolique dans l'extrait méthanolique des feuilles d' *Anabasis articulata* provenant de HOUITA est la plus importante (69,9). Tandis que les feuilles de la provenance du SIDI MAKHLOUF présente la plus faible valeur.

Nos résultats du rendement obtenus pour la provenance de Sidi Makhlouf sont comparables à ceux trouvés par Gheubzi (2015) qui estiment une valeur de (25,48 ±3,829). Les échantillons provenant de Houiata montre un taux en phénol totaux plus élevés a celles données par Gheubzi (2015).

A la lumière de ces résultats, on peut en déduire que nos extraits sont riches en Polyphénols. Nous pouvons dire que le solvant d'extraction ainsi que la provenance de la matière végétale utilisée est la différence dans la composition en composés phénoliques de chaque échantillon influent sur les teneurs en polyphénols totaux. Le contenu phénolique dans les extraits dépend du type de solvant, c'est à dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant les solvants polaires pour l'extraction (Ghedadba, et al., 2015)

III .2 .2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium. La Quercetine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits de la plante qui est exprimée en mg équivalent de la quercetine par gramme de matière sèche (Amari & Gourissi, 2017).

CHAPITRE III Résultats et discussion

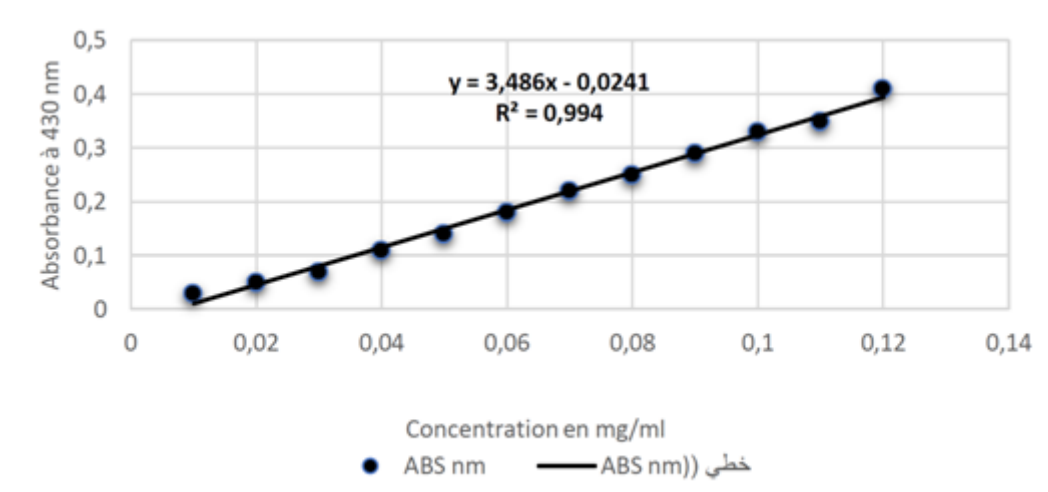


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la quercetine.

Une couleur jaunâtre est formée dans les extraits d'*Anabasis articulata* après l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés (Tirgine, 2016).

Le tableau présente les résultats obtenus des teneurs en flavonoïdes, des extraits purs méthanoliques des feuilles d'*A. articulata* de trois provenance.

Tableau 03: les teneurs en flavonoïdes des extraits purs méthanoliques des feuilles de trois provenance

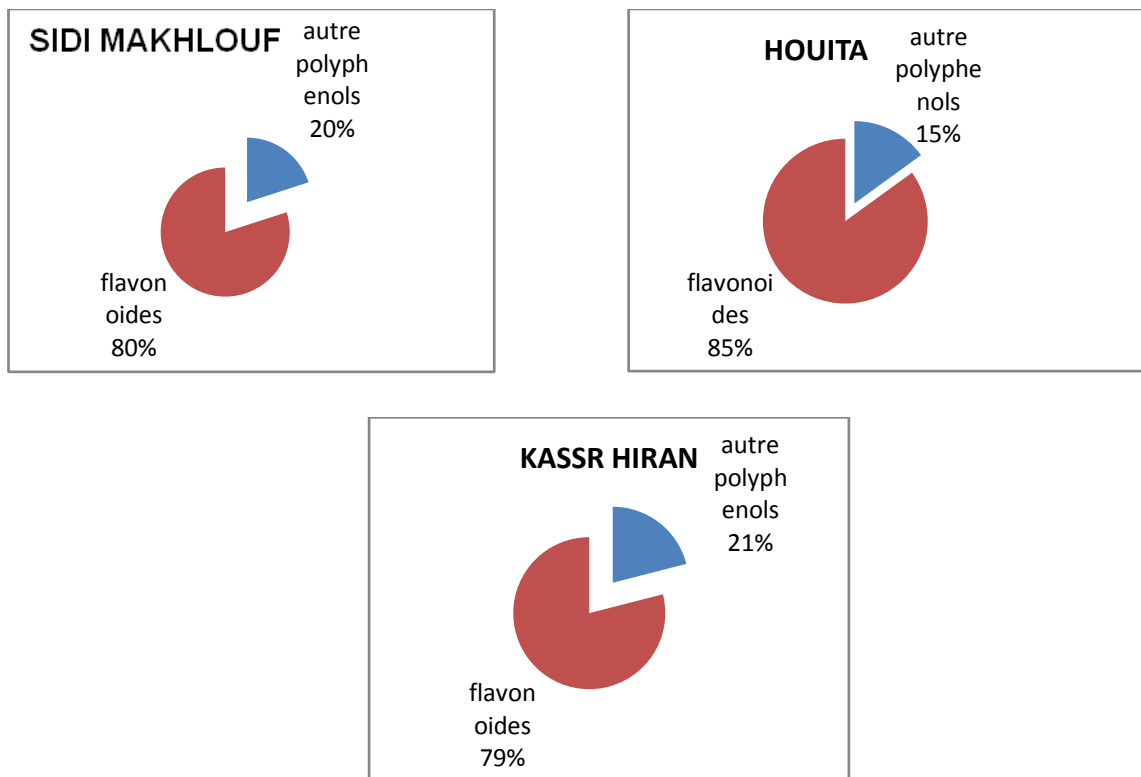
La region	Flavonoides (mgEQ/g résidu sec)
KASSR HIRAN	35,6±0.1
SIDI MAKHLOUF	21,42±0.2
HOUITA	55,9±0.15

Mg EQ/g mg équivalent Quercetine /g matières sèche

CHAPITRE III Résultats et discussion

III.2.3. Estimation relative de la quantité des flavonoïdes et phénols totaux dans les extraits

la provenance HOUITA a la valeur la plus importante en flavonoïde ,et on remarque aussi que la teneur la plus faible est celle du provien de SIDI MAKHLOUF.



figures 12: La teneur des phénols totaux par apport aux flavonoïdes des extraits

III .3. Activité antioxydante

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits obtenus, différentes méthodes chimiques ont été utilisées test de DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle) ,et le test ABTS (L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)).

III.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

Le test de DPPH est un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire des extraits de plante. De nombreuses études démontrent l'importance portée aux antioxydants naturels dans les domaines de l'industrie agroalimentaire et médicale, mais également leurs rôles protecteurs contre les espèces réactives oxygénées, ainsi que la

CHAPITRE III Résultats et discussion

corrélation existante entre les composés bioactifs des matières végétales et leur capacité antioxydants (Guerres & Moussous, 2018).

La mesure de la densité optique (DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant (matériel et méthode). Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes (Annexe II et III) de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations d'extraits de la plante. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC₅₀), qui constitue l'activité antioxydante des extraits étudiés.

La variation du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration en antioxydant (phénols), nous ont permis de déterminer les valeurs d'IC₅₀ (qui représente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% du taux des radicaux libres). De même nous avons calculé les IC₅₀ d'antioxydants de référence afin de comparer nos extraits (Bekhaoua & Bensayah, 2015).

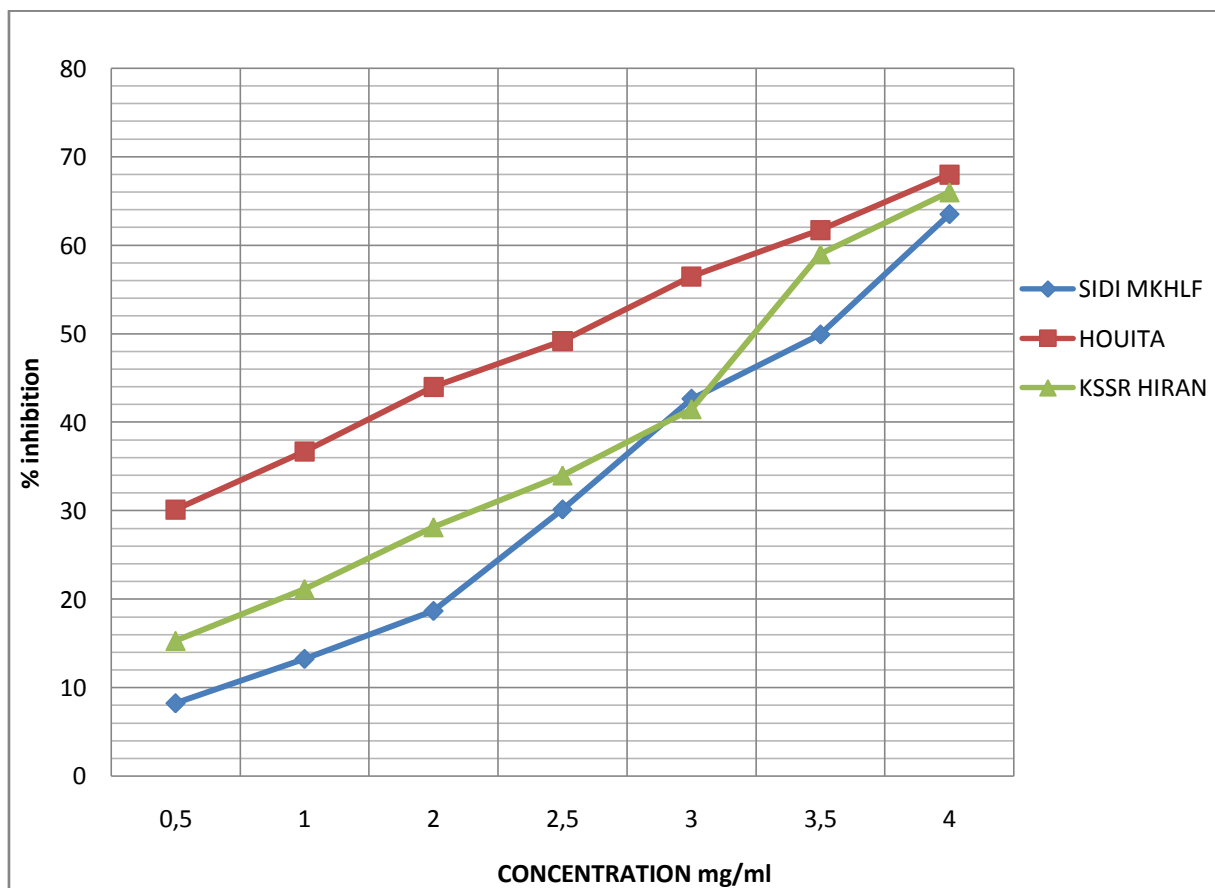
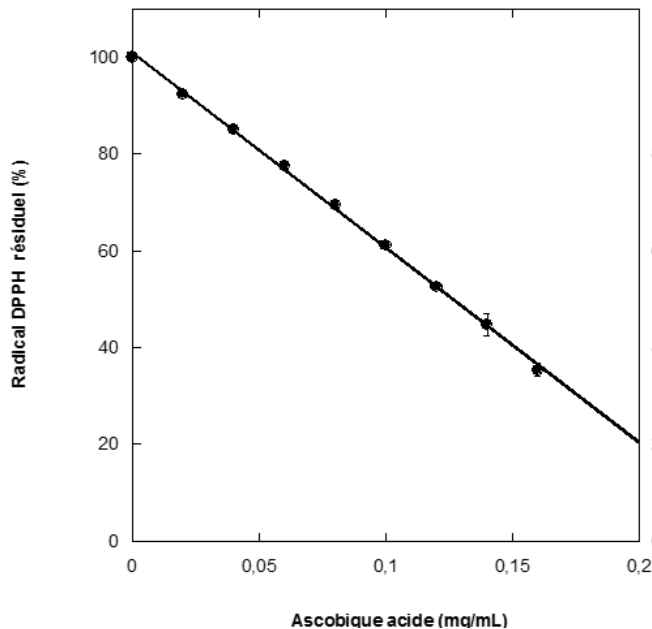


Figure 13: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait.

CHAPITRE III Résultats et discussion



La valeur de l'IC₅₀ est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (taux d'inhibition I%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'activité anti radicalaire d'un composé est appréciable.

On remarque que la provenance HOUITA a l'activité antioxydante la plus puissante IC₅₀ = 2,6 mg/ml

Et la provenance du SIDI MAKHLOUF IC₅₀ = 3,5 mg/ml est la plus faible.

Comparativement à d'autres travaux ; Belyagoubi (2019) a trouvé IC₅₀ 1,988 mg/ml +/- 0,153. ElHouria ET al., (2019) ont trouvé IC₅₀ entre : 3,2 +/- 0,08 et 4,9 mg/ml +/- 0,13.

Le travail réalisé par **Benhammou et al. (2013)** a montré que l'extrait alcaloïdique des tiges d'*A. articulata* a une activité importante à piéger le DPPH avec une concentration EC₅₀ de 1.30 ± 0.02 mg/ml

Une étude menée par **Abdulsahib et al. (2016)** a montré que les alcaloïdes présents dans l'extrait méthanolique des tiges d'*A. articulata* ont un pouvoir antioxydant important à piéger le radical libre DPPH avec une concentration de EC₅₀ égale à 94.7 µg/ml.

Les extraits éthanolique et d'acétate éthylique d'*A. articulata* ont un pouvoir anti-radicalaire élevé contre le radical DPPH avec des pourcentages d'inhibition de 71.83 et 51.27%, respectivement à une concentration de 250 µg/ml (**Hamdoon et al., 2013**).

CHAPITRE III Résultats et discussion

III.3.2. Activité de piégeage du radical ABTS

(L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique))

Le radical cation $ABTS^{•+}$ est une méthode spectrophotométrique courante pour la détermination du pouvoir antioxydant des composés. Ce chromogène (bleu vert) est facile à utiliser, possède une sensibilité élevée et permet l'analyse rapide de l'activité antioxydante d'un grand nombre d'échantillons. La formation du radical cation ABTS constitue l'une des méthodes spectrophotométrique de base pour la mesure de l'activité antioxydante des substances pures en solution, des mélanges aqueux et les boissons (Miller, 1996).

La technique améliorée pour la génération de l' $ABTS^{•+}$ décrite ici implique la production directe du chromophore $ABTS^{•+}$ bleu/vert par la réaction entre le radical cation $ABTS^+$ et le persulfate potassium (Mandade et al., 2011).

L'activité de piégeage est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical libre $ABTS^+$. L'activité de piégeage de l'ABTS par les trois extraits méthanoliques est faible par rapport à celle observée avec l'acide ascorbique.

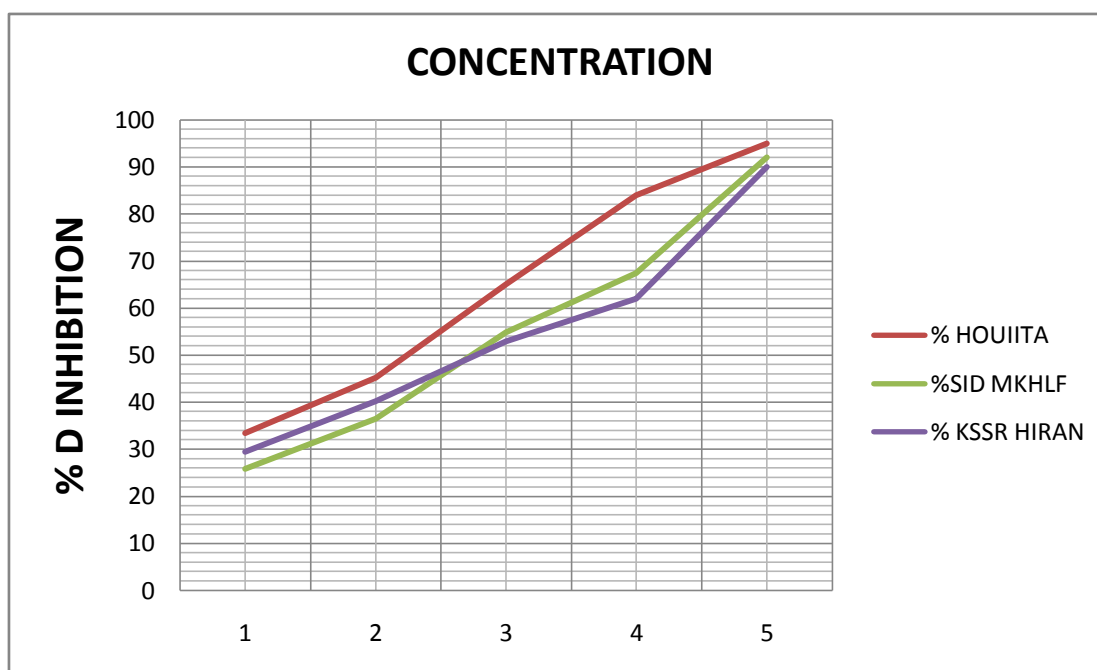


Figure 14 : Courbes représentant la variation du pourcentage de réduction d'ABTS en fonction de la

Concentration des extraits de trois région.

On constate que la région HOUITTA qui a l'activité la plus puissante $IC_{50} = 2,2$ mg/ml et les deux autres régions presque ont la même valeur KASSR HIRAN ET SIDI MAKHLOUF

CHAPITRE III Résultats et discussion

IC 50 = 2,8 mg/ml .

Les travaux de Youssfi ont révélé un résultat IC 50 = 2,37 Mm proche de celle de la provenance HOUITA.

Il a été reconnu que les composés phénoliques présentent une activité antioxydante et que leurs effets sur la nutrition et la santé humaines sont considérables.

Les antioxydants inhibent la peroxydation des lipides, piègent les radicaux libres et chélatent les cations divalents. Il a été démontré que les antioxydants réduisent le risque d'apparition du diabète, améliorent l'élimination du glucose et certaines des complications associées. En particulier, les composés phénoliques. L'activité antioxydante dépend beaucoup plus de la structure des composés phénoliques que de la concentration.

Un intervalle de concentration IC₅₀ du DPPH est entre 2.6 et 3.5 mg/ml, en comparant nos résultats avec l'étude de ElHouria et al., (2019) sur la même plante, enregistre des IC 50 DPPH variant entre 3.2 et 4.9 mg /ml, nous constatant que notre région a une activité plus puissante.

Comparaison à d'autres plantes

La comparaison des résultats de la teneur en composé phénolique et flavonoïde et ABTS d'autres plantes (Youssfi,) dans le tableau 04

Par comparaison l'*anabasis articulata* est riche en composés phénoliques et flavonoïdes et leur activité antioxydante est importante par rapport à d'autres plantes .

CHAPITRE III Résultats et discussion

Tableau 04 : Illustre la moyenne des trois provenances en phénols totaux et flavonoïdes et ABTS en comparaison a d autres plantes.

Plante	Phenol totaux mgEAG/g	Flavonoïde MgE Q/g	ABTS	Auteur
<i>Agatophra alopecuroides</i>	1.2	1.12	00.27	YOUSSEFI
<i>Anabasis articulata</i> Provenance HOUITA	69.9	55.9	2.2	NOTRE RESULTAT
<i>Anabasis articulata</i>	46.56	37.64	2.5	YOUSSEFI
<i>Hammada elegans</i>	0.85	0.18	01.65	YOUSSEFI
<i>Helianthemum kahiricum</i>	3.46	2.23	03.27	YOUSSEFI
<i>Salsola baryosma</i>	1	0.6	01.28	YOUSSEFI
<i>Salsola vermiculata</i>	2.22	1.22	01.23	YOUSSEFI

mgEAG/g : mg equivalent d acide galique/g
 mgEQ/g : mg equivalent Quercetine /g

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

L'utilisation des plantes médicinales aromatiques a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi important que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source abondante de substances et de composés naturels bioactifs.

Ce travail portera sur l'étude phyto-chimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de la plante *Anabasis articulata* de trois provenances de la région de Laghouat.

Les teneurs en composés phénoliques totaux révèlent que la teneur la plus élevée des poly phénols est constatée dans l'extrait méthanolique de la provenance du HOUITA (69.9 mg EAG/g).et flavonoïdes (55.9 mgEQ/g).

Les résultats des tests de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS ont montré que les extraits méthanoliques de la plante ont un pouvoir anti radicalaire et antioxydant important DPPH varier du 2,6 à 3,5 mg/ml et ABTS varier IC 50 H=2,2 mg/ml et IC 50 =2,8 mg/ml .

On peut dire que les plantes médicinales d'Algérie peuvent être considérées comme t une excellente source naturelle d'antioxydants très utile dans le domaine agroalimentaire et médical.

Afin de compléter notre étude, il sera envisageable d'identifier les molécules responsables de l'activité antioxydante et anti radicalaire du plante par l'analyse chromatographique en phase liquide à haute performance et par chromatographie en phase gazeuse.

Il serait également intéressant de réaliser d'autres essais biologiques sur les extraits du plante comme l'activité antimicrobienne, antidiabétique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

- Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé. Liste des Plantes médicinales de la Pharmacopée française Xème édition. In: Pharmacopée Française Xème ANSM. Plantes médicinales [En ligne]. Disponible sur https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application
- Abbas, K., & Belhout, T. (2019). *Etude de l'activité hypolipémiante des polyphénols des graines de Pinus pinea L sur des rats hyperlipidémiques induit par le Triton X-100*. Thèse de master, Université de Bouira, Bouira. 92p
- Abdallah, M., Abdel-Naim, B., Ashour, M., Shehata, A., Abdel-Sattar, E A. (2014). Anti-inflammatory activity of selected plants from Saudi Arabia. *Zeitschrift für Naturforschung*, 69
- Achouche, M., & Azouzi, A. (2019). *Evaluation in vitro du pouvoir hypoglycémiant des extraits des feuilles de Punica granatum L*. Thèse master, Université Djilali BOUNAAMA de Khemis-Miliana, Khemis-Miliana. 53p
- Ali-rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Sabrina, M. (2018, Février 21). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne. pp. 15-16.
- Amar Djeridane a,*, Aicha Hamdi b, Wafa Bensania b, Khadidja Cheifa b, Imane Lakhdari b, Mohamed Yousfi. 2015 The in vitro evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts.
- Ammari, M., & Laouar, S. (2019). *Contribution à l'étude phyto-chimique et l'activité biologique des extraits méthanoliques de Calligonum comosum L'her. issue de quatre régions différentes (Oued-Souf)*. Thèse master, El OUED. 99p.
- Bakchiche, B., & Gherib, A. (2014, November). Antioxidant activities of polyphenol extracts from medicinal plants in Algerian traditional pharmacopoeia. *International Journal of Innovation and Applied Studies*.
- Bekhaoua, A., & Bensayah, N. (2015). *Evaluation de l'activité antioxydante et étude de l'effet inhibiteur sur l' α - amylase de quelques plantes antidiabétiques*. Thèse, Université Amar TELIDJI Laghouat, Laghouat.
- Benarous, K. (2018). *Composés phénoliques et alcaloïdes*. cours, Laghouat.
- Benidiri, S., & Benmammar, S. (2016). *Dosage des Composés Phénoliques et Détermination de l'activité Antioxydante de Rhamnus alaternus L et Malva sylvestris L*. Thèse de Master, Université ABDERRAHMANE MIRA – Bejaia, Bejaia. 87p

Références bibliographiques

- Benkaddour, S., & Ben abd allah, S. (2019). *Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de Malva sylvestris L.* Thèse de Master, Bordj Bou Arreridj. 66p.
- Benhammou, N., Ghembaza, N., Benabdelkader, S., Atik-Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*. *Int Food Res J*,148p
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activitéantioxydante 'extraits organiques des racines de *Fredoliaa retioides* de la région de Bécharen Algérie. *Pharmacognosie*.
- Benzaoui, F., & Houari, A. (2016). *Contribution à l'étude des activités biologiques de Brocchia cinerea(Vis.) et Matricaria pubescens(Desf.).* thèse de Master UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA , OUARGLA .78p.
- Benzineb, S., & Menadi, Z. (2019). *Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits polaires des racines des espèces Aristolochia.* Thèse de Master, UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT , Laghouat .99p.
- Berkal, G., & Bouchama, S. (2016). *Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : Euphorbia characias L.* Thèse de Master, Constantine.110p.
- BOUDERBALI Nesrine (2017)Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen Thèse de Master *Étude de l'activité antioxydante des extraits des alcaloïdes des rameaux d'Anabasis articulata de la région de Béchar.*66p
- Benatmani W. (2020). Hadj Aissa F., Université Amar Telidji - Lagouat, Thèse de Master ETUDES PHYTOCHIMIQUES D'UNE PLANTE LOCAL ,80p
- Bouchouka, E. (2016). *Extraction des poly phénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes.* Thèse de doctorat, BADJI MOKHTAR- ANNABA UNIVERSITY UNIVERSITE BADJI MOKHTAR .188p.
- Chabrier Y., 2010. *Plantes médicinales et formes d'utilisation phytothérapie* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Ghedadba, N., Hambaba,. (2015). Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* de Noé ex Coss. *Lavoisier*.
- Elhouaria Benzineb1 , Nadia Kambouche1*, Abdelkader Hamiani1 , Salima Bellahouel1 , Hanane Zitouni2 , Houari Toumi .(2019) phenolics Compounds and Biological Activity of Leaves of *Anabasis Articulata*, an Algerian Medicinal Plant.
- Flora net. Quelques définitions [en ligne]. Disponible sur :

Références bibliographiques

- <http://floranet.pagespersoorange.FR/gene/Med/med2.htm#Drogue>
- Guerres, C., & Moussous, K. (2018). *Effets antioxydants et anti-enzymes du brunissement des extraits de Marrubium vulgare L.* UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA , BOUIRA.
 - Hadj Aissa, F. (2004). *Etude de l'évolution de l'activité antioxydant et antiradicalaire de feuilles et fruits du Pistachier de l'atlas.* Thèse de magister, Université Amar Telidji - Lagouat, Laghouat.
 - Iloki-Assanga, S.B., Lewis- Luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Angulo, D., Rubio-Pino, J.L., Haines, D.D., (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras Phoradendron* BioMed Central (BMC) Research Notes, 8, 1, 396
 - Kanoun, K. (2011). *Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).* Diplome de Magister , UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCCEN, Tlemcen.118p
 - Khacheba, I. (2020). Extraction et dosage des métabolites secondaires. Université Amar Telidji- Laghouat, département de biologie.
 - Krasa, L. (2019). Confection d'un herbier. *Cour.* UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT .
 - Limonier S., 2018. La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie, département bio-ingénierie pharmaceutique, Aix, Marseille université
 - Lamiae, B., Ghizlane, E., Jamal, I., & Laila, N. (2016, October). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «Lavandula stoechas L. et Lavandula dentata L.». *European Scientific Journal*, 316.
 - Lehout, R., & Laibe, M. (2015). *Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : Artemisia herba alba Asso.* Thèse de Master , Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie .88p
 - Mbaihougadobé, Ngakegni,, kounkou, (2017, November 10). Evaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de plantes utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad. 30. Unité de chimie du végétale et de la vie, PER-AUF-PMTA, Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien N'gouabi, BP 69, Brazzaville, Congo;

Références bibliographiques

- Laboratoire de Recherche sur les Substances Naturelles, Faculté des Sciences Exactes et Appliquées, Univer.
- Moctar, C., PhD Abdoul., Moussa, B., PhD Idrissa, M., Amadou, M., Tidjani, I., & MC Ikhiri, K. (2020, Février). Etude Bibliographique et Phytochimique de Quelques Plantes Médicinales Utilisées Pour Le Traitement de Certaines Maladies par les Tradipraticiens de la Zone de l'Azawagh au Niger. *European Scientific Journal*, 127.
 - Ordre National des Pharmaciens. Le pharmacien et les plantes. juil. 2014;(5).
Disponible sur:
http://www.ordre.pharmacien.fr/content/download/160922/784724/version/1/file/CTOP005_WE_B_OK.pdf
 - Rasmané Abdou, O., Moumouni, K., Constantin, D., Adama, H., Valérie B.E.J.T, B., Lamoussa Paul, Eloi PALE et Roger H.C, N. (2015, mars). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso . *Article in International Journal of Biological and Chemical Sciences* . , 283p.
 - Saffidine, K. (2015). *Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L.* thèse de doctorat, DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE, Setif.132p
 - Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., TalbiJ, Hilali, K., Talbi, H., . . . Hilali, K. (2014). *Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la Nigella sativa L.* Laboratoire Agroalimentaire et Santé, Faculté des Sciences et Techniques. Université Hassan 1er . Laboratoire de Biochimie et Neurosciences Faculté des Sciences et Techniques. Université Hassan 1er.Maroc.
 - Taouzinet, M. (2017). *Extraction, dosage et fractionnement sur CCM des composés phénoliques des feuilles de Melia azedarach.* Thèse de master, Université A. MIRA - Bejaia, Bejaia.69p
 - Saliha BESBAS (2020) Métabolites secondaires de *Ononis mitissima* L. (Fabaceae) et évaluation biologique .thèse doctorat université BATNA P 179p.
 - Salminen, J.P., (2003). Effects of sample drying and storage, and choice of extraction solvent and analysis .