REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par: - LEBCIR Salema

- LAHRECHE Mohamed

Thème

Enquête ethnobotanique de quelques plantes médicinales et activité antioxydante de *Cistanche violacea* (Desf.) BecK de la région de Ghardaïa

Soutenu publiquement, le / / , devant le jury composé de :

Mme MAIDI LeilaMaitre Assistant AUniv. GhardaiaPrésidentMelle SAAD SomiaMaitre de recherche classe BCRSTRA-BiskraDirecteur de

mémoire

Melle DJEMOUAI Nadjette Maitre Assistant A Univ. Ghardaia Co-Directeur

de mémoire

Melle BAALI Faiza Maitre Assistant B Univ. Ghardaia Examinateur

Année universitaire: 2021 2022

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie Allah tout puissant de m'avoir donné le courage et la santé pour réaliser ce modeste travail.

Avant tout, on voudrait exprimer notre reconnaissance et nos sincères remerciements à Madame *SAAD Somia* (Maitre de recherche classe B au CRSTRA Biskra), et *Madame DJEMOUAI Nadjette* (Maitre Assistant A, à 1'Université de Ghardaia) pour nous avoir encadré, aider et orienter pour 1'élaboration de ce mémoire.

Ma profonde gratitude va à Madame *MAIDI Leila* (Maitre Assistant A, à l'Université de Ghardaia), pour avoir accepté de présider le jury.

J'adresse aussi mes vifs remerciements au Docteur *BAALI Faiza* pour avoir bien accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à toute l'équipe du Centre de Recherche Scientifique et Technique des Régions Arides (CRSTRA), Biskra, spécialement pour le personnel de laboratoire d'écophysiologie des plantes et molécules bioactifs.

Nos remerciements vont également à tous les habitants locaux et herboristes qui ont contribué, à la réalisation de mémoire.

Et pour tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à élaborer ce modeste travail.

DEDICACE

Je tiens c'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

A l'être le plus chère de ma vie ma mère

A celui qui m'a fait un homme mon père

A mes chers frères et ma sœur

Mohamed

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents.

A ma très chère sœur.

A mon petit frère Taha.

A toute ma famille.

A toutes mes amies surtout:

« Tina, Abir, Jaaz, Chaima, Karima, Mouna, Sawsen, Selma, Aya ».

Salema

Résumé

Ce travail a pour objectif de faire une étude ethnobotanique dans la ville de Ghardaïa auprès de la population locale, dans le but d'acquérir le maximum d'informations sur les plantes médicinales les plus utilisées pour guérir les maladies les plus fréquentes dans cette région. L'analyse des résultats obtenus montre la présence de 50 espèces appartenant à 27 familles, dont deux familles les plus représentées sont les *Lamiaceae* et les *Apiaceae*. La population locale utilise l'infusion est le mode le plus employé pour traiter un certain nombre de pathologies, particulièrement les maladies digestives. Cette étude constitue une source d'information qui contribue à la connaissance de la flore médicinale et à la transmission du savoir-faire populaire locale.

Cistanche violacea (Desf.) Beck est une plante médicinale parmi les 50 espèces, appartenant à la famille Orobanchaceae connue localement sous le nom de «Danoun» et utilisée à des fins thérapeutiques au Sud de l'Algérie. La présente étude vise à déterminer les teneurs en phénols (TP), en flavonoïdes totaux (TF), et en tannins condensés (TC), et évaluer l'activité antioxydante, et l'extraction des composés phénoliques de la plante entière de Cistanche violacea (Desf.) Beck effectuée par trois différents types d'extractions : macération, ultrason, soxhlet, avec l'éthanol comme solvant. La teneur en TP, TF, et TC a été quantifiée par des méthodes colorimétriques. Les résultats ont montré que la plus grande quantité de phénols totaux et de flavonoïdes a été trouvée dans l'extrait de (eau) avec un taux de 149,18±5,7 µg (EAG)/mg d'extrait et 2,10±0,9 μg (EQ)/mg d'extrait, respectivement. La meilleure teneur en TC a été trouvée dans l'extrait de macération avec un taux de 2,36±0,008 µg (EQ)/mg d'extrait. Le test de piégeage de DPPH a montré que l'effet antiradicalaire le plus élevé est celui de l'extrait obtenu par macération. L'extrait de l'eau présente un pouvoir réducteur puissant 61,70±15,3 µg acide ascorbique/mg d'extrait. Cistanche violacea (Desf.) BecK a des propriétés antioxydantes fortes, d'origine naturelle qui justifient son utilisation traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections lié au stress oxydatif.

Mots clés : Ghardaïa, ethnobotanie, *Cistanche violacea* (Desf.) Beck, composés phénoliques, DPPH, FRAP.

Abstract

This work aims to carry out an ethnobotanical study in the city of Ghardaïa with local population, with the aim of obtaining the maximum information on the medicinal plants most used to cure the most common diseases established in this region. The analysis of the results obtained shows the presence of 50 species belonging to 27 families, of which two of the most represented families are *Lamiaceae* and *Apiaceae*. The local population uses the infusion the most used mode of the different parts of medicinal plants to treat a number of pathologies, especially digestive diseases. This study is a source of information which contributes to the knowledge of the medicinal flora and the transmission of local popular know-how.

Cistanche violacea (Desf.) Beck is a medicinal plant among the 50 species belongs to Orobanchaceae family known locally as « Danoun » and used for purposes therapies in southern Algeria. The present study aims to evaluate the antioxidant activity, and determine the contents of phenols (TP), total flavonoids (TF), and condensed tannins (TC). Extraction of phenolic compounds from the whole plant of Cistanche violacea (Desf.) Beck carried out by three different types of extractions: maceration, ultrasound, soxhlet, with ethanol as solvent. The content of TP, TF, and TC was quantified by colorimetric methods. The results showed that extract of (EAU) recorded the greatest amount of total phenols and flavonoids with $149.18\pm5.7~\mu g$ (GAE)/mg of extract and $2.10\pm0.9~\mu g$ (EQ)/mg extract, respectively. The major condensed tannins present in the extract of maceration with $2.36\pm0.008~\mu g$ (EQ)/mg of extract. DPPH test has shown that the highest scavenging effect was that of maceration extract. The EAU extract has a powerful reducing power $61.70\pm15.3\mu g$ ascorbic acid/mg extract. Cistanche violacea (Desf.) BecK has strong antioxidants properties, of natural origin which justify its traditional use in the treatment of many conditions related to oxidative stress.

Keywords: Ghardaïa, ethnobotany, *Cistanche violacea* (Desf.) Beck, Phenolic compounds, DPPH, FRAP.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى إجراء دراسة عرقية نباتية في مدينة غرداية مع السكان المحليين للمدينة بهدف جمع الحد الأقصى من المعلومات حول النباتات الطبية الأكثر استخداماً لعلاج الأمراض الأكثر انتشاراً في المنطقة. يوضح تحليل النتائج المتحصل عليها على وجود 50 نوعا، ينتمي الى 27 عائلة، أكثر عائلتين ترددا هما Lamiaceae و Apiaceae. يستخدم السكان المحليون للمنطقة التغلية لمختلف أجزاء النباتات من أجل علاج مختلف الأمراض، خاصة الامراض المتعلقة بالجهاز الهضمي. تشكل هذه الدراسة مصدرا للمعلومات التي تساهم في معرفة النباتات الطبية و نقل المعرفة الشعبية المحلية.

نبات Orobanchaceae (Desf.) Beck طبي من بين الخمسين 50 نوع، تنتمي إلى عائلة كرات المعروفة محليا باسم الدانون و تستخدم في الجنوب الجزائري من أجل العلاج الطبي التقليدي. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد المحتوى الكلي من الغينول TP، و مركبات الفلافونويد TF، و كذلك العقص المكثف TC، و تقييم نشاط مضادات الأكسدة، تم استخلاص المركبات الفينولية من نبتة بأكملها بثلاثة أنواع مختلفة من طرق الاستخراج: النقع، الموجات فوق الصوتية، و Soxhlet، مع استخدام الإيثانول كمذيب. تم قياس محتوى TPو TF و TC بطرق لونية. أظهرت النتائج أن أكبر كمية من الفينولات و الفلافونويد سجلت عند مستخلص العاليك / ملغ من المستخلص و عند مستخلص النقع الكيرسيتين/ ملغ على بالترتيب تم العثور على أفضل محتوى في مستخلص النقع بمعدل 13.0 كلاوجرام مكافئ لحمض العاليك / ملغ من المستخلص النقع بمعدل 13.0 كلاوجرام مكافئ حمض الاسكوربيك/ملغ. لدى Cistanche violacea (Desf.) Beck ميكروجرام مكافئ حمض الاسكوربيك/ملغ. لدى العديد من العديد من أصل طبيعي مما يوضح سبب استخدامه في العلاج التقليدي ضد العديد من الأمراض المتعلقة بالإجهاد التأكسدي.

كلمات مفتاحية: غرداية، عرقية نباتية، Beck ، محتويات فينولية، Cistanche violacea (Desf.) Beck ، محتويات فينولية، FRAP.

Liste des abréviations

AlCl₃ Chlorure d'aluminium

ANOVA Analyse de variance

BHT Butylated hydroxytoluene

DPPH 2, 2-dipheny-l-picrylhydrazyle

EAG Equivalent d'acide gallique

EAU Extraction assistée par ultrason

EQ Equivalent de quercétine

FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power

HCl Acide chlorhydrique

IC₅₀ Concentration inhibitrice à 50%

TC Teneurs en tannins condensés

TF Teneurs en flavonoïdes totaux

TP Teneurs en phénols totaux

Liste des figures

Figure 01: Description botanique de Cistanche violacea (Desf.)	04
Figure 2 : Structure générale d'un polyphénol	06
Figure 3: Principaux acides hydroxy-benzoïques	08
Figure 4: Principaux acides hydroxy-cinnamiques	08
Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes	09
Figure 6: Structure de base tanin gallique ou gallo-tanin	11
Figure 7: Structure de base de tanin ellagique ou ellagi-tanin	11
Figure 8: Structure de base d'un tanin condensé	12
Figure 9: Représentation des voies de biosynthèse des composés phénoliques	13
Figure 10: Situation géographique de Ghardaïa	15
Figure 11: Température en 2021 à Ghardaïa	16
Figure 12: Carte de localisation de site d'échantillonnage	18
Figure 13: Différentes étapes de préparation de <i>Cistanche violacea</i> (Desf.) BecK (coll lavage, séchage et broyage du matériel végétal) pour les analyses au niveau du labora	toire
Figure 14: Les étapes expérimentales pour obtenue les extraits bruts d'extractions (ultra soxhlet et macération)	ason, 25
Figure 15: Répartition de population enquêtée selon l'âge	25
Figure 16: Répartition de population enquêtée selon le sexe	26
Figure 17: Répartition de la population enquêtée selon le niveau d'étude	26
Figure 18: Répartition de la population enquêtée selon la situation familiale	27
Figure 19: Répartition de la population enquêtée selon la source des informations	27
Figure 20: Représentation des pourcentages des familles recensées dans la région Ghardaïa.	n de 30
Figure 21: Pourcentage de différentes parties utilisées des plantes médicinales	31
Figure 22: Pourcentage des différents modes de préparations des traitements	31
Figure 23: Pourcentage des différentes modes d'administration	32
Figure 24: Répartition des affections traitées par les plantes	33

Figure	25:	Les	extraits	éthanolique	de	Cistanche	violacea	issus	de	l'extraction	par
soxhlet.											33
O				es extraits étl		-		, 1		`	
Figure 2	27: T	est d	e DPPH	en utilisant la	mic	croplaque					36

Liste des tableaux

Tableau 01: Les principales classes de composés phénoliques 07
Tableau 02: les principaux sous-classes des flavonoïdes en raison de leurs différences
structurelles
Tableau 03: Précipitations mensuelles enregistrées dans de la région Ghardaïa en
2021
Tableau 04: Listes des espèces à usage ethnobotanique dans la région de Ghardaïa 28
Tableau 05: Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tannins condensés de
l'extrait éthanolique de Cistanche violacea (Desf.) Beck obtenus par différentes méthodes
d'extractions
Tableau 06: L'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique de Cistanche violacea obtenus
par différentes méthodes d'extraction
Tableau 07: Pouvoir réducteur des extraits éthanoliques de Cistanche violacea (Desf.) et
d'acide ascorbique par la méthode de FRAP

Table de matières

Chapitre I: Synthèse bibliographique	
1. Introduction	03
1.1. Généralité sur Cistanche violacea (Desf.)	03
1.1.1. Famille Orobanchaceae	03
	03
1.1.2.1.Répartition géographique	04
1.1.3. Espèce Cistanche violacea (Desf.)	04
	04
1.1.3.2.Position systématique Nomenclature	05
1.1.3.3.Répartition géographique	05
1.1.3.4.Travaux antérieurs	05
2. Les composés phénoliques	06
2.1.Classification.	06
2.1.1. Les composés phénoliques simples	07
	07
	09
2.1.2. Les composés phénoliques complexes	
2.1.2.1.Tanins	
2.2. Biosynthèse des composés phénoliques	
	13
	13
2.3. Rôle et intérêt thérapeutique des composés phénoliques	
3. L'activité antioxydante	

——————————————————————————————————————	
1. Présentation de la zone d'étude	15
1.1. Situation géographique	15
1.2. Climat	16
1.2.1. Températures	16
1.2.2. Pluviométrie (les précipitations)	16
2. Enquête ethnobotanique	17
3. Matériel	17
3.1. Matériel végétal	18
4. Méthodes	20
4.1. Extractions.	20
4.1.1. Extraction par Macération.	20
4.1.2. Extraction assistée par soxhlet.	20
4.1.3. Extraction assisté par Ultrason (Sonication)	20
4.2. Détermination du rendement	21
4.3. Caractérisation phytochimique.	21
4.3.1. Dosage des phénols totaux.	21
4.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.	23
4.3.3. Dosage des tannins condensés	23
4.4. Evaluation d'activité antioxydante	23
4.4.1. Test de DPPH	23
4.4.2. Le pouvoir réducteur	24
4.5. Analyse statistique des données	24
Chapitre III: Résultat et Discussion	
1. Enquête ethnobotanique	25
1.1. Profil des personnes enquêtées.	25
1.1.1. L'âge	25

1.1.2.	Sexe	26
1.1.3.	Niveau d'étude	26
1.1.4.	Situation familiale	27
1.1.5.	La Source des informations	27
1.2.	Informations sur les plantes médicinales	28
1.2.1.	Spectre des familles botaniques	30
1.2.2.	Partie utilisé	30
1.2.3.	Modes de préparations	31
1.2.4.	Mode d'administration	32
1.2.5.	Les maladies traitées	32
2. Cara	actérisation phytochimique de Cistanche violacea	33
2.1. Ex	straction des composés phénoliques	33
2.1.1.	Calcule du rendement des composés phénoliques	34
	Détermination les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tansés	
2.3. Ev	valuation de l'activité antioxydante	35
2.3.1.	Test de DPPH	35
2.3.2.	Pouvoir réducteur	37
3. Dis	cussion	38
Concl	usion générale	40
Référ	ences bibliographiques	41
Anne	xes	

Introduction générale

La phytothérapie ou bien la médecine par les plantes connaît un engouement extraordinaire à travers le monde. Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Tabuti *et al.*, 2003). Selon l'OMS, près de 80% des populations des pays en voie de développement de la région d'Afrique ont recours à la médecine traditionnelle (C.R.D.I, 2001). Les pratiques de la phytothérapie varient grandement d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre. Elles sont influencées par des facteurs connus (la culture et l'histoire ...etc.) (Hamel *et al.*, 2018).

L'Algérie, grâce à sa situation géographique a une richesse et une diversité de flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique. Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinale (Duraffourd *et al.*, 1997).

Les plantes médicinales constituent une source importante et inépuisable de substances ayant des activités biologiques et pharmacologiques très variées. Parmi ces substances, les composés phénoliques représentent l'un des groupes de métabolites secondaires les plus répandus dans la nature et les plus importants par leurs nombreuses propriétés biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires. Ces composés phénoliques d'origine naturelle sont connus pour leurs propriétés antioxydantes. Par ailleurs, la recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années, afin de permettre de trouver les meilleurs antioxydants possibles dans l'espoir de protéger notre organisme contre les radicaux libres, ainsi permettre la prévention de nombreuses maladies (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

Les propriétés thérapeutiques des plantes médicinales sont fortement corrélées à la présence de centaines de ces composés (Abderrahim *et al.*, 2020). Dans notre cas, nous nous sommes intéressés à une espèce endémique algérienne de la famille de *Orobanchaceae*, *Cistanche violacea* (Desf.) Beck. récoltée dans les régions de Ghardaïa. Peu d'études concernant cette plante qui présente plusieurs applications en médecine traditionnelle sont publiées.

Ce travail a pour deux objectifs, le premier est de réaliser une étude ethnobotanique afin de collecter le maximum des informations sur les pratiques thérapeutiques, et les plantes utilisées par la population de Ghardaïa. Le deuxième est d'analyser les composés phénoliques

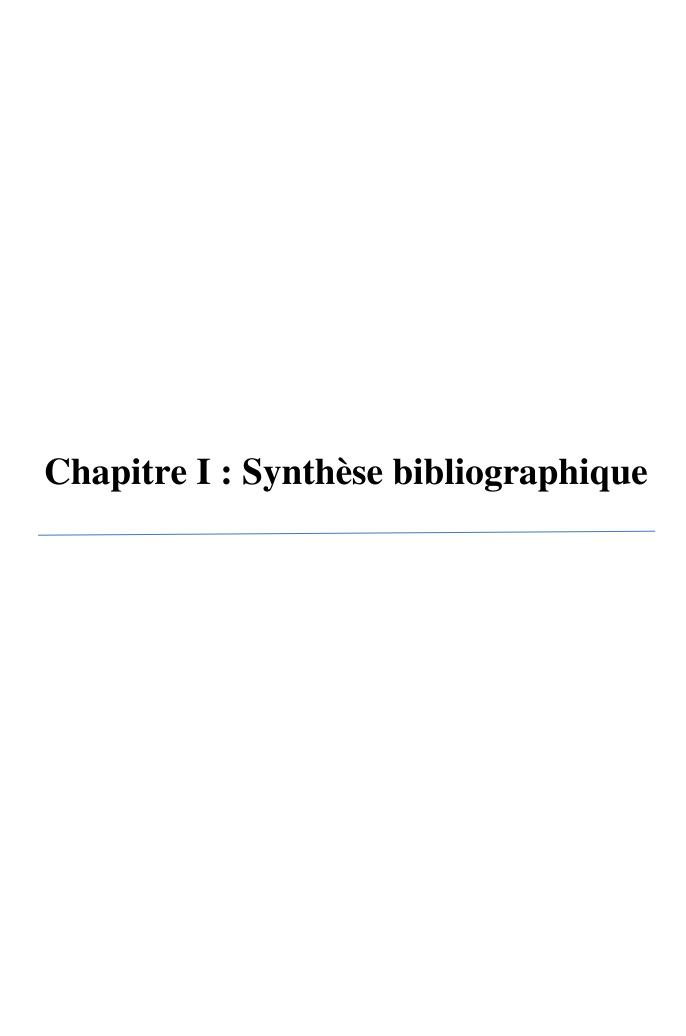
Introduction

et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de *Cistanche violacea* obtenus par trois différentes méthodes d'extraction.

Le présent travail s'articule autour des chapitres suivant;

- ➤ Un premier chapitre consacré à une synthèse bibliographique sur la plante *Cistanche violacea* (Desf.) Beck. et sur des composés phénoliques, et particulièrement les phénols, les flavonoïdes, et les tannins.
 - Le deuxième chapitre illustre la partie expérimentale décrivant le matériel végétal, ainsi que les différentes méthodes employées dans les études ethnobotaniques et phytochimique et la recherche des activités biologiques.
 - La troisième partie, nous présenterons les résultats obtenus pour l'étude phytochimique et l'activité antioxydante. Les résultats seront discutés par rapport à ceux obtenus dans la littérature.

Ce manuscrit est terminé par une conclusion générale.



Chapitre I: Synthèse bibliographique

1. Introduction

Le recours aux plantes à des fins thérapeutiques est connu depuis longtemps, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. À ce jour, les plantes jouent à travers le monde un rôle capital dans l'œuvre de guérir (Boumediou et Addoun, 2017).

Les plantes médicinales renferment plusieurs principes actifs qui présentent un intérêt curatif pour l'homme ou l'animal (Chabrier, 2010). Ces principes actifs ont un rôle critique dans les interactions plante-environnement, l'attraction des insectes pollinisateurs, communication intercellulaire, défense et régulation des cycles catalytiques (Greathead, 2003).

1.1. Généralité sur Cistanche violacea (Desf.)

1.1.1. Famille Orobanchaceae

La famille de *Orobanchacées* comprend environ 2060 espèces dont 90 genres qui sont distribués sur tous les continents et les principales îles à l'exception d'Antarctique. Les *orobanchacées* sont une famille d'angiospermes allant de totalement autotrophes et vivant librement à complètement hétérotrophes et dépendants de leurs hôtes. La plupart des espèces sont des hémiparasites photo-synthétisants durant tout ou partie de leur cycle de vie. Certains membres de la famille sont écologiquement importants en raison des impacts directs sur la biomasse et la diversité de la communauté, les interactions plantes-herbivores et le cycle des nutriments. D'autres membres sont parmi les mauvaises herbes les plus nuisibles économiquement au monde (Joel et Mcnal, 2013).

1.1.2. Genre Cistanche

Le genre *Cistanch*e est considéré comme le genre le plus précieux de la famille des *Orobanchaceae*. Ce genre contient 25 espèces qui forment un groupe attrayant de parasites des racines phanérogames. Les études sur les espèces du genre *Cistanche* ont commencé en 1980. De nombreux composés ont été isolés à partir de ce genre comprenant les huiles essentielles, les phenylethanoides glycosides, les lignanes et autres. Ces composés démontrent plusieurs activités biologiques et larges applications médicinales tels que : antioxydante, neuroprotection, amélioration de l'immunité, hépato-protection et antiradiation (Bougandoura, 2018).

1.1.2.1. Répartition géographique

Ce genre est distribué principalement dans les zones arides ou zones semi-arides de la péninsule ibérique européenne, de l'Afrique du Nord, de l'Arabie, de l'Iran, de l'Afghanistan, Pakistan, Inde du Nord, Mongolie et Chine du Nord-Ouest. Donc, les espèces du genre *Cistanche* montrent une forte résistance aux conditions environnementales difficiles (Atta-ur-Rahman, 2006; Piwowarczyk *et al.*, 2020).

Le genre *Cistanche* est représenté dans le Sahara algérien par trois espèces (Bougandoura, 2018);

- Cistanche tubulosa qui est commun au Sahara central (Tassili N'Ajjer).
- Cistanche tinctoria (Desf.) Beck, qui est une espèce Saharo-Méditerranéenne.
- Cistanche violacea qui est un arbuste endémique du Nord de l'Afrique.

1.1.3. Espèce Cistanche violacea (Desf.)

1.1.3.1. Description botanique

Cistanche violacea (Desf.) Beck est l'espèce la plus rare dans ce genre. C'est une plante parasitaire sur les Chénopodiacées. Elle n'a pas de racines mais des tiges terminées à la base par un bulbe qui se fixe sur la racine de la plante hôte par un suçoir (Quezel et Santa, 1962; Ozenda et Capdepon, 1977). Sa tige est de 15-35 cm et les fleurs sont bleues-violettes. Elle a une corole à tube s'évasant progressivement (Ozenda, 1991) (Figure 01).



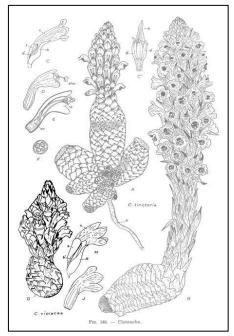


Figure 01: Description botanique de *Cistanche violacea* (Desf.) (photo personnelle prise le 13/03/2022 Ghardaïa).

1.1.3.2. Position systématique Nomenclature

Nous avons adopté la systématique phylogénétique APG III (Angiosperm Phylogeny Group, 2009).

Règne Plantae

Sous-règne Eucaryotes

Embranchement Trachéophyta

Sous-embranchement Angiosperme

Classe Dicotylédone

Ordre Lamiales

Famille Orbonchaceae

Genre Cistanche

Espèce Cistanche violacea

Cette plante est connue sous le nom vernaculaire arabe : الدانون. Cette espèce est connue sous différents synonymes; *Phelypaea violacea* Desf., *Orobanche violacea* (Desf.), *Orobanche phelipaea* Willd. (Ataei, Najibeh, 2017).

1.1.3.3. Repartition géographique

Cistanche violacea se localise dans les parties chaudes de la région méditerranéenne et dans les pays arides voisins, plus particulièrement dans les sols sableux ou limoneux un peu salés du littoral ou de l'intérieur (Ozenda et Capdepon, 1977).

Ils sont disséminés sur une large zone dans le Sud-Est de l'Algérie (Alia, 2021) : Laghouat, Ghardaïa, El Golèa, Ouargla (Hassi Messaoud vers Touggourt), Biskra, et Illizi (Hassi Bel-Guebbour) (Ataei et Najibeh, 2017).

1.1.3.4. Travaux antérieurs

La recherche bibliographique a montré qu'il y a peu des travaux menés et effectués sur l'espèce *Cistanche violacea* (Dsef.). Une étude sur cette plante a abouti à l'identification des iridoïdes, des phenylethanoïdes et des flavonoïdes (Bougandoura *et al.*, 2016 ; 2018).

2. Composés phénoliques

L'une des plus grandes caractéristiques des végétaux c'est leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées, en plus des métabolites primaires classiques : glucides, protides, lipides et les acides nucléiques. Les plantes accumulent des métabolites dits "secondaires" qui représentent la source de nombreuses molécules utilisables par l'homme dans divers domaines pharmacologie ou alimentation (Watson, 2018). On peut classer les métabolites secondaires à divers groupes chimiques, parmi ceux-ci, les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques. Chacune de ces classes contient une très grande variété de composés qui possèdent plusieurs activités biologiques, comme antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques, gastro-intestinales et antioxydantes (Palici, 2016).

Les composés phénoliques sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire. Ils représentent le groupe le plus important d'antioxydants naturels. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques; un ou plusieurs cycles aromatiques (benzènes) qui portent un ou plusieurs groupes hydroxyles OH (Legrand, 2015) (Figure 02).

OH

Figure 02 : Structure générale d'un polyphénol (Sarni-Manchado et al., 2006).

2.1. Classification

Les composés phénoliques sont classés essentiellement selon la structure, le nombre de noyaux aromatiques, la complexité du squelette de base (d'un simple C6 à des formes polymérisées), le degré de modification (oxydation, hydroxylation, méthylation ...etc.) et les liaisons possibles du squelette de base avec d'autres molécules (Macheix *et al.*, 1990) (Tableau 01).

Tableau 01 : Principales classes de composés phénoliques (Harborne, 1980; Macheix *et al.*, 1990)

Squelette	Classe	Exemple	Origine		
carboné					
C6	Phénols simples	Thymol	Thym		
C6 - C1	Acides	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise		
	hydroxybenzoïques				
C6 - C3	Acides	Acides caféique,	Citrus		
	hydroxycinnamiques	férulique	Citrus		
	Coumarines	Scopolétine,			
		Esculétine			
C6 – C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix		
C6 -C2 - C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne		
C6 -C3 - C6	Flavonoïdes				
	Flavonols	Kaempférol,	Fruits, légumes,		
		quercétine	fleurs		
	Anthocyanes	Cyanidine,	Fleurs, fruits rouges		
		pélargonidine			
	Flavanols	Catéchine,	Pomme, raisin		
		épicatéchine			
	Flavanones	Naringénine	Citrus		
	 Isoflavonoïdes 	Déidzéine	Soja, pois		
(C6 – C3)2	Lingnanes	Pinorésinol	Pin		
(C6 – C3) n	Lignines		Bois, noyau des		
			fruits		
(C15) n	Tannins		Raisin rouge, Kaki		

Donc on peut distinguer deux catégories des composées: les composés phénoliques simples (phénol en C6 aux flavonoïdes en C15) et les composés phénoliques complexes.

2.1.1. Composés phénoliques simples

2.1.1.1. Acides phénoliques

L'acide phénolique est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénols sont divisés en: les dérivés de l'acide benzoïque, et les dérivés de l'acide cinnamique (Singla *et al.*, 2019).

■ Les acides hydroxy-benzoïques (C6-C1) dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque et ont une formule de base C6-C1 (Figure 03). La concentration de l'acide hydroxybenzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles (Bijalwan *et al.*, 2016).

Figure 03: Principaux acides hydroxy-benzoïques (Călinoiu et al., 2018).

■ Les acides hydroxy-cinnamiques (C6-C3) dérivent par des substitutions au niveau du cycle aromatique de l'acide cinnamique (Figure 04), représentent une classe très importante dont la structure de base (C6 – C3) (Legrand, 2015).

	R1	R2	R3	R4	Acide phénolique
	Н	H	Н	Н	Acide benzoïque
R2 R1	Н	Н	OH	Н	Acide p-hydroxy
P2 ACCU					benzoïque
R3—COOH	Н	OH	OH	Н	Acide protocatechique
R4	Н	OCH_3	OH	Н	Acide vanillique
104	Н	OCH_3	OH	OCH_3	Acide syringique
	OH	H	Н	Н	Acide salicylique
	ОН	Н	Н	OH	Acide gentisique

Figure 04: Principaux acides hydroxy-cinnamiques (Călinoiu et *al.*, 2018).

2.1.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus et très diversifiés dans le règne végétal avec plus de 9000 composés (Wang *et al.*, 2018). Ce sont des pigments poly-phénoliques responsables de la plupart des colorations des fleurs et des fruits, et ont de nombreuses vertus thérapeutiques. Leur squelette carboné comprend quinze atomes de carbones C15 répartis selon la séquence; C6-C3-C6 et deux cycles benzéniques A et B liés par une chaine de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné central de type pyrane (Balde, 2018) (Figure 05).

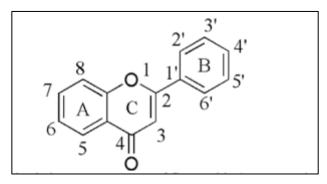


Figure 05 : Squelette de base des flavonoïdes (Wang *et al.*, 2018).

> Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes se différenciant par la nature des substituants sur leur squelette de base, le degré d'oxydation de l'hétérocycle central (cycle C), la présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C, et la nature de ses connexions avec les cycles A et B (Balde, 2018). Les composés de chaque sous-classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B (Heim *et al.*, 2002).

Les principaux sous-classes des flavonoïdes sont: flavones, flavanones, flavonols, flavanols (flavan-3-ols ou catéchines), anthocyanidines et isoflavones (Tableau 02) (Ziberna *et al.*, 2014).

Tableau 02 : Principaux sous-classes des flavonoïdes en raison de leurs différences structurelles (Izzo *et al.*, 2020).

Sous-classes	Structures chimique	Liaisons	Composés
Flavones		Double liaison entre C2-C3 et une cétone en C4 de cycle C.	Apigénine Lutéoline Morine Tricine
Flavonols	ОН	Groupe hydroxylique, un double liaison entre C2-C3 et une cétone dans le cycle C.	Quercétine Myricétine Fisétine Kaempférol
Flavanones		Manque de double liaison entre C2-C3dans le cycle C uniquement des groupes hydroxyle et méthoxy comme substituants.	Silibinine Naringenine Hespéridine
Isoflavones		Grande diversité de structure dans le cycle C. Le cycle B est attaché en C3 plutôt qu'en C2 de cycle C.	Genistéine Daidzeine Glyciteine
Flavanols ou Catechins	НООН	Pas de double liaison C2-C3 dans le groupe hydroxyle en position 3.	Épicatéchine Epicatechin-3- Gallate
Anthocyanidines	HO OH OH R ₃	Groupes hydroxyle se liant au cation flavylium et / ou groupe (s) méthoxy en position R_1,R_2 et R_3	Delphinidine Cyanidine Péonidine

2.1.2. Composés phénoliques complexes

2.1.2.1. Tanins

Les tanins sont des substances naturelles polyphénoliques, hydrosolubles à haut poids moléculaire, compris entre 500 et 3000 Da, se localisent dans divers organes. Les plus fortes concentrations se rencontrent souvent dans les fruits, les fleurs et les feuilles (Moufida Rira, 2019). Ils sont des molécules fortement hydroxylés, les groupements hydroxyles leurs permettent de la formation des combinaisons stables avec les protéines, les polysaccharides, les acides nucléiques, les stéroïdes et à d'autres polymères tels que les alcaloïdes et les gélatines (Okuda et Ito, 2011). Du point de vue de la composition chimique, on distingue aujourd'hui plusieurs catégories de tanins, les tanins hydrolysables et les tanins condensés étant les principales catégories (Moufida Rira, 2019).

a. Tanins hydrolysables: Ils sont des polyesters d'un sucre habituellement le D-glucose ou de l'acide quinique, et d'un nombre variable d'acide phénol soit l'acide gallique « gallotannins » ou bien l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) « ellagi-tannins » (Figures 06 et 07). Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique (tannase) (Tuominen et Salminen, 2017). Selon la nature de l'acide phénol on distingue :

> Tanins galliques ou gallo-tanins

Figure 06: Structure de base tanin gallique ou gallo-tanin (Grasel, 2016).

Tanins ellagiques ou ellagi-tanins

Figure 07: Structure de base de tanin ellagique ou ellagi-tanin (Grasel, 2016).

b. Tannins condensés

Ce sont des dérivés non hétérosidiques, résultant de la polymérisation d'un nombre variable d'unités flavonoïdes (Figure 08), Ils sont formés de 2 à plusieurs unités de flavan-3-ols et/ou les flavan-3,4-diols, liés entre eux par des liaisons C-C très résistantes à l'hydrolyse, le plus souvent C4-C8 ou rarement C4-C6. Au contraire aux tanins hydrolysable les tanins condensés sont non hydrolysables (Gourlay et Constabel, 2019).

Figure 08: Structure de base d'un tanin condensé (Naumann *et al.*, 2013)

2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble des substances qu'il est difficile de définir simplement. La formation de ces composés peut être issue de deux voies biogénétiques : la voie shikimique, et la voie acétate ou leur combinaison (Saidi, 2019).

La biosynthèse des composés phénoliques faite sur la surface du réticulum endoplasmique chez les cellules des plantes. La phénylalanine et la tyrosine sont des précurseurs de la biosynthèse de différentes classes de composés phénoliques (Figure 09). Une variété d'enzymes impliquées dans la biosynthèse des composés phénoliques: la phénylalanine ammoniaque lyase (PAL), la cinnamate-4-hydrolxylase, la p-coumarate-3-hydroxylase et l'o-méthyl transféras (Shahidi *et* Yeo, 2018).

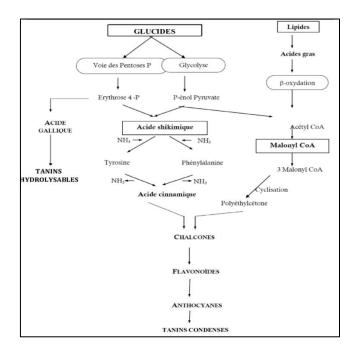


Figure 09: Représentation des voies de biosynthèse des composés phénoliques (Chaouche, 2014).

2.2.1. Voie du shikimate

Appelée aussi la voie de phénylpropanoïde parce qu'il conduit à la formation des dérivés du phénylpropane (Phénylalanine) (Lambert, 2011). Cette voie résulte ; les phénols, les acides phénols, les flavonoïdes, les coumarines, la lignine, les acides aminés aromatiques (tryptophane, phénylalanine et tyrosine), et la synthèse du noyau aromatique (Hoffmann, 2003 ; Sabrina *et al.*, 2020).

2.2.2. Voie acétate malonate

Cette voie consiste en la polymérisation de l'acétyl-CoA, produit issu des processus cataboliques de la glycolyse et de la β-oxydation, en malonate. A la fin de voie donne la chalcone qui s'isomérie spontanément en flavanone, la cyclisation de la chalcone est catalysée par la chalcone synthétase. L'obtention de flavine permet de créer la diversité structurale des molécules flavoniques et de tannins condensés (Chaouche, 2014). Donc, les deux voies shikimate et acétate malonate se condensent pour donner naissance aux différents types des flavonoïdes et les tannins condensés (Saidi, 2019).

2.3. Rôle et intérêt thérapeutique des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont les groupes bioactifs nutritifs les plus importants dans l'alimentation (Cory *et al.*, 2018). L'intérêt des composés phénoliques alimentaires a augmenté en raison de leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Ahmed *et al.*, 2015).

Ils possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, anticancéreuses, antidiabétiques, antibactériennes, antifongiques et antivirales, ainsi des effets contre les lésions gastriques et hépatiques, le vieillissement, et la maladie d'Alzheimer (Moufida, 2016).

3. Activité antioxydante

Les composés phénoliques sont des puissants antioxydants naturels qui participent à la protection contre les dommages oxydatifs au niveau cellulaire et ont la capacité d'éliminer les radicaux libres, réduisant ainsi le risque de diverses maladies (Losada-Barreiro et Bravo-Díaz, 2017). Les structures chimiques aromatiques des composés phénoliques permettant une délocalisation électronique importante, donc une stabilisation de leurs formes radicalaires. Donc les propriétés antioxydantes des composés phénoliques sont associées à leur potentiel antiradicalaire (Wang *et al.*, 2018).

3.1. Stress oxydatif

Défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense anti-oxydants dans un même organisme, entraînant des dommages aux biomolécules « dommages oxydatifs ». Ces dommages sont impliqués dans le développement de nombreuses pathologies chroniques (Niki, 2018; Tu *et al.*, 2019).

3.2. Radicaux libres

Des espèces chimiques (atomes, molécules ou des fragments moléculaires) qui portent un électron non apparié (célibataire) sur leur orbite externe d'oxygène ou d'azote, présentent une grande instabilité et très réactifs. Donc, ils à attirer les électrons célibataires d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules (Bendif, 2017).

3.3. Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes peuvent directement piéger les radicaux libres. Parmi ces composés, la quercétine, la myricétine et le kaempférol, sont les flavonoïdes avec la plus grande activité de piégeage des radicaux libres (Quiñones *et al.*, 2013).

3.4. Chélation des métaux de transition

Les ions du fer (Fe⁺²) et du cuivre (Cu⁺²) jouent un rôle important dans la production des radicaux libres. Les flavonoïdes peuvent agir comme des chélateurs des métaux de transition (Kasprzak *et al.*, 2015), L'épigallocatéchine gallate est un chélateur très puissant (Mandel *et al.*, 2011).

Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude

1.1. Situation géographique

La wilaya de Ghardaïa est située au centre de la partie Nord du désert algérien à 600 km au sud de la capitale Alger, composée de 7 districts qui sont divisés en 9 communes, elle a une superficie totale de 24711 km² (Province de Ghardaïa).

La wilaya de Ghardaïa été créée à partir de Laghouat en découpage administratif du territoire de 1984. En février 2021 El-Menia (El-Goléa) qui était la plus grande daïra a été séparée comme une nouvelle wilaya (d'après le journal officiel) (Figure 10).

La wilaya de Ghardaïa est limitée : (Province de Ghardaïa).

- Au Nord par la wilaya de Laghouat (200 Km), Djelfa (300 Km) au Nord Est.
- A l'Est par la wilaya d'Ouargla (200 Km).
- Au Sud par la wilaya de El-Menia (270 km).
- A l'Ouest par la wilaya de El-Bayadh (350 Km).



Figure 10: Situation géographique de Ghardaïa (Google image).

Chapitre II Matériel et méthodes

1.2. Climat

Le climat est un ensemble de facteurs abiotiques qui agissent en même temps pour former un milieu climatique (les précipitations, la température, le vent, etc.) (Bichi *et al.*, 2006). Les facteurs climatiques jouent un rôle indispensable dans la distribution et la vie sur terre (Faurie *et al.*, 1980).

Ghardaïa est caractérisée par un climat désertique aride, et comme dans toutes les autres régions du désert ont des étés aux chaleurs torrides et la faiblesse et l'irrégularité des précipitations et la sécheresse de l'air (Bichi *et al.*, 2006).

1.2.1. Températures

La température est considérée comme étant le facteur le plus important. Les températures mensuelles enregistrées durant l'année de 2021 dans la région de Ghardaïa sont notées dans la Figure 11.

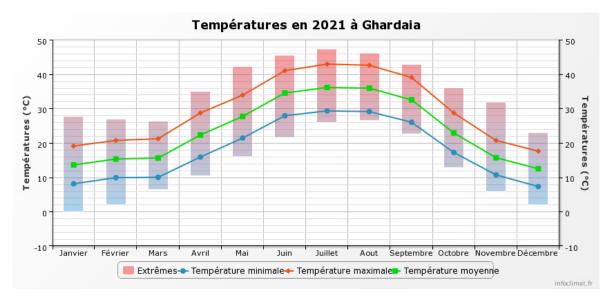


Figure 11: Température en 2021 à Ghardaïa (Info climat, 2022)

Le mois le plus chaud est Juillet avec une température moyenne de 36.1°C. Le mois le plus froid est Décembre avec une moyenne égale à 12.5°C.

1.2.2. Pluviométrie (les précipitations)

Dans le Sahara septentrional la pluie tombe souvent pendant l'hiver, laissant une longue période estivale complètement sèche (Vial et Vial, 1974). Les valeurs des précipitations mensuelles de la région de Ghardaïa en 2021 sont mentionnées dans le Tableau 03.

16

Tableau 03: Précipitations mensuelles enregistrées dans de la région Ghardaïa en 2021 (Info climat, 2022).

Précipitation mensuelle (mm)													
Mois Jan Fév Mars Avr May Juin Juill Août Sept Oct Nov Déc Cumul									Cumul				
P	0,2	7,0	0,0	1,6	7,4	3,0	0,2	0,0	1,0	1,4	13,1	0,4	35,3

P: Précipitation mensuelle exprimée en millimètre.

Le mois le plus pluvieux est le mois de Novembre avec 13,1 mm, et le mois avec de faibles précipitation est Juillet et Janvier avec 0,2 mm, la moyenne annuelle est de 35,3 mm.

2. Enquête ethnobotanique

Afin de collecter des informations précises sur les pratiques thérapeutiques traditionnelles, une enquête a été effectuée auprès de population locale de la ville de Ghardaïa à l'aide des fiches questionnaires (Annexe 1). Celle-ci a été menée durant le mois de Mars 2022. En procédant à un échantillonnage aléatoire simple, 100 personnes ont été interrogées et Toutes ces personnes ont été informées sur l'objectif de cette étude.

Pour la réalisation de cette enquête, un questionnaire simple et structuré a été élaboré pour recenser les plantes médicinales utilisées pour traiter les différents types de maladies dans la ville de Ghardaïa. Il se subdivise en deux parties permettant de récolter des informations portant sur les personnes (âge, sexe, niveau d'étude, situation familiale), et sur les plantes médicinales (type de maladies traitées, partie utilisée, son mode de préparation, ses voies d'administration et son état d'utilisation...etc.).

Les données enregistrées sur les fiches d'enquêtes ont été ensuite traitées et saisies sur le logiciel Excel.

3. Matériel

Le travail expérimental a été réalisé au niveau de Centre de Recherche Scientifique et Technique des Régions Arides (CRSTRA), Biskra, pour déterminer le contenu en phénols totaux, en flavonoïde totaux, et tanins condensés ainsi pour évaluer *in vitro* l'activité antioxydante l'extrait éthanolique de «*Cistanche violacea* (Desf.) BecK» obtenus par différentes types d'extractions.

3.1. Matériel végétal

La plante *Cistanche violacea* (Desf.) BecK a été récoltée au niveau du département des sciences de la nature et de la vie Ghardaïa (32°23'30.7"N 3°46'03.3"E) durant la période de Mars 2022 (Figure 12).



Figure 12: Carte de localisation du site d'échantillonnage (Google earth).

La plante fraîchement collectée est lavée à l'eau courante puis mis à sécher au laboratoire dans l'étuve à 40 °C pendant 05 jours. Elle est ensuite broyée finement et conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité (Figure 13).

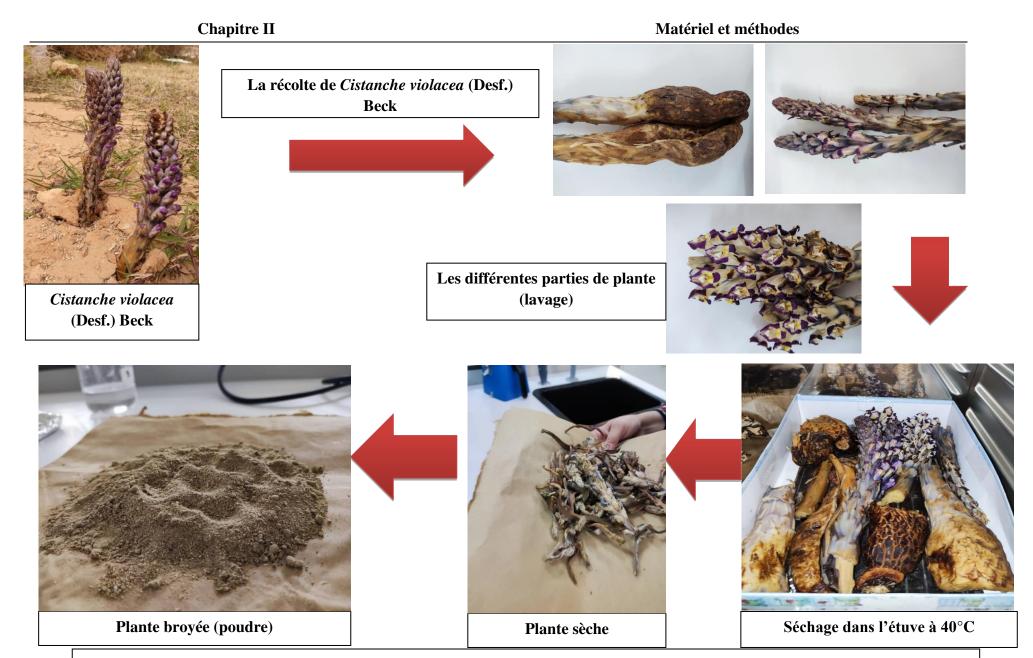


Figure 13: Différentes étapes de préparation de *Cistanche violacea* (Desf.) BecK (collecte, lavage, séchage et broyage du matériel végétal) pour les analyses au niveau du laboratoire (prise personnelle, Mars 2022)

4. Méthodes

4.1. Extraction

Trois techniques d'extraction ont été appliquées pour l'extraction de composés bioactifs de *C. violacea* afin de comparer leur efficacité. Ces techniques se divisent en conventionnelles (macération et soxhlet) et non conventionnelles (extraction assistée par ultrasons).

4.1.1. Extraction par Macération

Macération est une extraction solide-liquide consiste à laisser la poudre de plante en contact prolongé avec un solvant à froid, pour extraire les constituants solubles (Chemat, 2014). L'utilisation d'éthanol possède l'avantage d'être plus facilement éliminé dans le cas où l'on veut concentrer l'extrait (Lagnika, 2005).

Dix gramme (10 g) de poudre de matière végétal a été mise à macérer dans 100 ml d'éthanol (70%) sous agitation magnétique pendant 24h. L'extrait ensuite a été filtré et le solvant évaporé à l'aide d'un rotavapeur (Figure 14).

4.1.2. Extraction assistée par soxhlet

Soxhlet est un dispositif en verre permettant le lavage d'un composé solide par un solvant dans lequel il est totalement insoluble. Les impuretés insolubles restent dans la cartouche tandis que le composé cristallise dans le ballon récepteur par refroidissement lorsque la solution est assez concentrée (Suchat, 2012).

Cette méthode d'extraction a été effectuée comme suivant; 10 g de la plante a été déposée dans un cartouche de soxhlet. L'extraction a été réalisée en utilisant un montage de soxhlet (Figure 14) avec un ballon de 500 ml qui contient 100 ml d'éthanol dans un chauffe ballon réglé à 60°C pendant 4 h. Ensuite, la solution obtenue a été évaporée à l'aide d'un rotavapeur.

4.1.3. Extraction assistée par ultrason (sonication)

Les ultrasons sont des ondes de même nature que le son mais dans une gamme trop élevée pour que l'oreille humaine puisse la percevoir, qui peut détruire les cellules (Assami, 2004).

Chapitre II Matériel et méthodes

L'extraction assistée par ultrasons a été réalisée dans un modèle Bandelin Sonorex Digetec (Type: DT 514, Allemagne) en utilisant une puissance de 250 W et une fréquence de 35 kHz. 10 g de matière végétale broyée ont été placées séparément dans un bécher et soumises à une extraction d'une heure avec 100 ml d'éthanol. L'extrait obtenus été évaporé à l'aide d'un rotavapeur (Figure 14).

4.2. Détermination de rendement

Le rendement est le rapport entre la masse d'extrait sec récupéré et la masse de la matière végétale initial. Le rendement est calculé selon la relation suivante :

$$R = \frac{\text{m extrait}}{\text{m initial}} \times 100$$

R: rendement en %.

m extrait: la masse d'extrait sec récupéré en gramme.

m initial: la masse de la matière végétale initial en gramme.

4.3. Caractérisation phytochimique

Un milligramme (1 mg) d'extrait est dissout dans 1 ml d'éthanol dans un Eppendrof pour l'utiliser comme solution mère pour dosage.

4.3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Julkunen-Tiito (1985) modifié par (Singleton *et al.*,1999). Une quantité de 20 µl de chaque extrait sont ajoutés à 100 µl du réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois à l'eau distillée). Le mélange est agité puis additionné de 75 µl de Carbonate de sodium (Na₂CO₃ à 7,5%) et laisser incuber à l'obscurité et à température ambiante pendant 2h. Le blanc est réalisé par le remplacement de l'extrait par de le méthanol et l'absorbance est mesurée à 765 nm par un lecteur microplaque à 96 puits.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent acide gallique/ mg (µg EAG/mg MS) en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (obtenue à différentes concentrations).

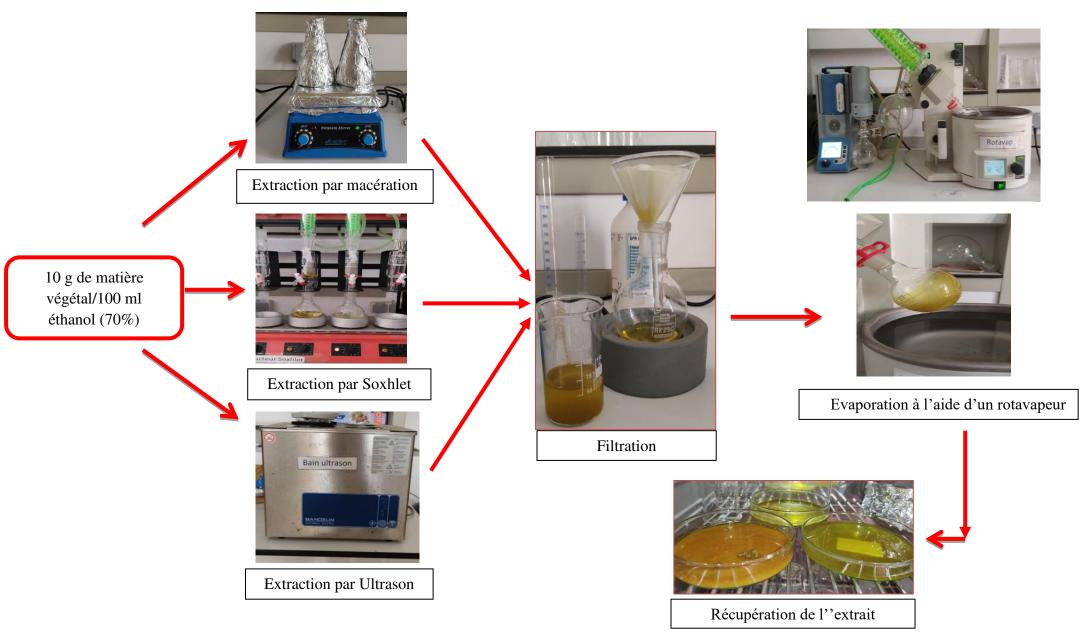


Figure 14: Les étapes expérimentales pour obtenu les extraits bruts d'extractions (Ultrason, soxhlet ET macération) (Prise personnel, Mars 2022).

Chapitre II Matériel et méthodes

4.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur totale en flavonoïdes des extraits végétaux est estimée par la méthode décrite par Zhishen *et al.* (1999). Le chlorure d'aluminium hexa-hydraté (AlCl₃, 6H₂O) forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose. 50 µl de chaque extrait sont ajoutés à 50 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃, 6H₂O) à 2%. Le mélange est agité puis on additionne 150µl d'acétate de sodium à 5% (m/v) et laisser incuber à l'obscurité et à température ambiante pendant 2 h et 30 min. Le blanc est réalisé par remplacement de l'extrait par de le méthanol et l'absorbance est mesurée à 440 nm par un lecteur microplaque. Les résultats sont exprimés en µg équivalent de quercétine/mg de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine (obtenue à différentes concentrations).

4.3.3. Dosage des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés a été effectué selon la méthode à la vanilline avec l'HCl. Un volume de 10 µl de chaque extrait a été ajouté à 155 µl de la solution vanilline/méthanol à 4%, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 80 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm par un lecteur microplaque (Schofield *et al.*, 2001). Les résultats sont exprimés en µg équivalent de catéchine/mg de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine (obtenue à différentes concentrations).

4.4. Evaluation d'activité antioxydante

4.4.1. Test de DPPH

La détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) a été effectuée en utilisant la méthode décrite par (Bouchoukh *et al.*, 2019). Une solution méthanolique de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Ensuite, à 40 µl d'extrait à une concentration donnée sont ajoutés 160 µl de la solution DPPH.

Les extraits ainsi que la référence BHT (Butylated hydroxytoluene) sont testés à différentes concentrations (800, 400, 200, 100, 50, 25 et 12.5 μ g/ml), les absorbances ont été mesurées à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité à l'aide d'un lecteur microplaque.

23

Chapitre II Matériel et méthodes

Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé. L'activité antioxydante liée à l'effet de piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition à l'aide de la formule suivante:

% inhibition =
$$((A_{blanc} - A_{extrait})/ A_{blanc})*100$$

Dont; A blanc: absorbance du blanc, A extrait: absorbance d'extrait.

Cette activité a été exprimée également en IC50 (μ g/mL) qui correspond à la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante.

4.4.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode de Oyaizu (1986). 10 μl d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 40 μl d'une solution tampon phosphate (pH=6,6) et 50 μl de ferrocyanure de potassium [K₃Fe(CN)₆] à 1%. L'ensemble est incubé à 50°C pendant 20 min, ensuite, 50 μl d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés, puis 40 μl d'eau distillée et 10 μl d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 0,1% sont additionnés. L'éthanol et l'acide ascorbique ont été utilisés comme témoins négatifs et positifs, respectivement. L'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

4.5. Analyse statistique des données

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne \pm déviation standard (D.S). L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 6), analysés par ANOVA, analyse de variance à un facteur et suivi du test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de significations. Les différences ont été considérées significatives si P < 0.05.

24

Résultats et Discussion

Chapitre III: Résultat et Discussion

1. Enquête ethnobotanique

L'enquête menée auprès de la population comportant 100 personnes interrogées (herboristes, les tradithérapeutes, les hommes du désert et des personnes normales) de la Wilaya de Ghardaïa par rapport à plusieurs données à savoir:

1.1. Profil des personnes enquêtées

1.1.1. Age

L'utilisation des plantes médicinales au niveau de la région étudiée (ville de Ghardaïa) est répandue chez toutes les classes d'âge. Dans lequel les classes d'âge de 41-50 ans est le plus prédominance avec 31%, suivi par les classes d'âge de 21-30 ans avec 25%, les classes d'âge de 31-40 ans avec 19%, les classes d'âge de 51-60 ans avec 15% et 8% pour les personnes plus que 60 ans. Finalement, les classes l'âge moins de 20 ans représentent un pourcentage de 2% (Figure 15).

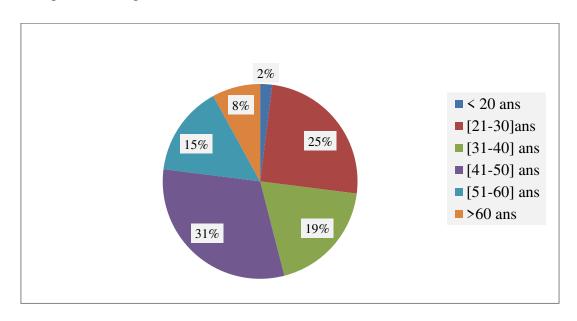


Figure 15: Répartition de population enquêtée selon l'âge.

Généralement, les personnes les plus âgées connaissent la phytothérapie traditionnelle mieux que les autres, les plus jeunes. Au contraire, nos résultats confirment que les jeunes connaissent et utilisent aussi la phytothérapie traditionnelle et ça indique l'intérêt de la population de la ville de Ghardaïa à la phytothérapie.

1.1.2. Sexe

Le sexe féminin prédomine avec un pourcentage de 53% de la population étudiée. Tandis que les hommes représentent 47%. Ce qui explique le fait que les femmes sont plus concernées par les préparations des traitements végétaux (Figure 16).

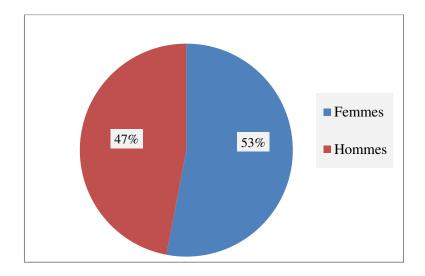


Figure 16: Répartition de population enquêtée selon le sexe

1.1.3. Niveau d'étude

D'après l'enquête réalisée, 59% de la population enquêtées sont des étudiants universitaires, et ça dû au fait que les classes d'âge de 21-30 ans sont le plus élevé. Les 41% restant se répartissaient entre une scolarisation secondaire avec 22%, une scolarisation primaire avec 4%, et 15% des enquêtées n'était pas scolarisée (Figure 17).

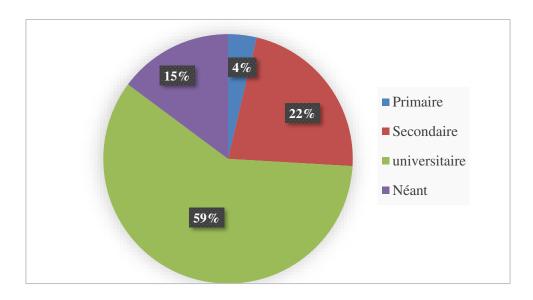


Figure 17: Répartition de la population enquêtée selon le niveau d'étude.

1.1.4. Situation familiale

L'utilisation des plantes médicinales chez la population mariée représente 56%, tandis que les célibataires représentent 39%, 4% pour les divorcés et les veufs représentent seulement 1%. Les personnes mariées sont des mères et des pères qui préparent les soins thérapeutiques pour leurs enfants et la totalité de la famille, ce qui explique leurs connaissances de phytothérapie (Figure 18).

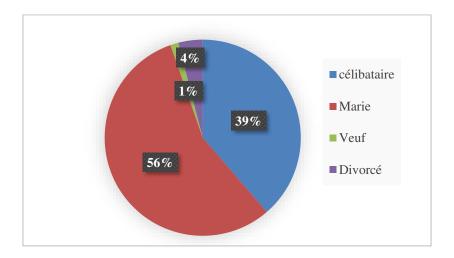


Figure 18: Répartition de la population enquêtée selon la situation familiale.

1.1.5. Source des informations

La transmission des connaissances sur la phytothérapie est actuellement en danger parce qu'elle n'est pas toujours assurée (Anyinam, 1995). En effet, 87% de la population se référant aux expériences des autres, 9% se référant aux herboristes et 10,33% se référant les hommes du désert (Figure 19). Malgré que la plupart des personnes enquêtées sont des universitaires, mais ils s'appuient sur les connaissances transmettre.

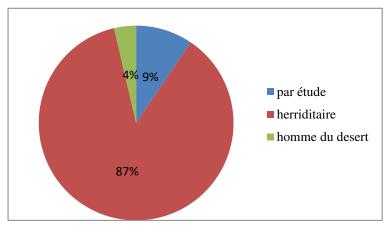


Figure 19: Répartition de la population enquêtée selon la source des informations.

1.2. Informations sur les plantes médicinales

Les résultats obtenus à travers l'étude effectuée, ont permis de recenser 50 espèces médicinales, répartis sur 27 familles. Les familles les plus dominantes sont *Lamiaceae* et *Apiaceae* avec 08 espèces, suivit par *Asteraceae* (04 espèces), *Fabaceae* (03 espèces) et le reste des familles comprennent un ou deux espèces. Les résultats de l'enquête ethnobotanique sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 04: Listes des espèces à usage ethnobotanique dans la région de Ghardaïa.

N°	Famille	Nom scientifique	Nom vernaculaire	
01		Artemisia herba-alba Asso	Chih	
	Asteraceae	Stevia rebaudiana	Stevia	
UI		Urospermum	Laadhide	
		Chamaemelum nobile (L.) All.	Babounj	
		Salvia rosmarinus	Iklil-djabel	
		Ocimum basilicum	hbak	
		Mentha	Na-naa	
02	Lamiaceae	Origanum majorana	Mardagouch	
02	Lamiaceae	Salvia officinalis	Miramia	
		Ocimum basilicum	Raihan	
		Lavandula	Khozama	
		Thymus vulgaris	Zaater	
03	Nitrariaceae	Tetraena alba (L.F.) Beler&Thulin	Agga	
	Niirariaceae	Peganum harmala	Harmel	
04	Poaceae	Cynodon dactylon (L.)Pers.	Njem	
04	Fouceae	Eleusine	Bechna	
		Foeniculum vulgare Mill.	Besbasse	
		Atriplex halimus L.	Gtaf	
		Pimpinella Anisum	Yansun	
05	Apiaceae	Coriandrum	Kousber	
05		Carum carvi	Karwia	
		Petroselinum crispum	Maadnous	
		Ammodaucus leucotrichus	Moudriga	
		Bunium mauritanicum	Targouda	

06	Brassicaceae	Lepidium sativum L.	Hab rechad
00		Oudenya africana R.	Hinat l'ibel
07	Chenopodiacées	Arthrophytum scoparium (Pomel) Iljin.	Remeth
08	Asphodelaceae	Asphodelus tenuifolius Cavan	Tazia
09	Polygonaceae	Rumex	Hemidhe
10	Linaceae	Linum usitatissimum	Zariet lketan
11	Urticaceae	Urtica	Herig
12	Geraniaceae	Pelargonium graveolens	Atarchaa
13	Cypéracées	Cyperus Rotundus	Tamoussaza/ oum saad
14	Moringaceae	Moringa	Moringa
15	Thymelaeaceae	Aquilaria malaccensis	Ereg gheris
		Retama raetam	Retam
16	Fabaceae	Trigonella foenum-graecum	Halba
		Vicia faba	Foul
17	Amaryllidaceae	Allium schoenoprasum	Lazoul
18	Tiliaceae	Tinnas grewia	Gedhime
19	Zingiberaceae	Zingiber officinale	Zengabil
	Zingiberaceae	Curcuma longa	Corkem
20	Ranunculaceae	Nigella Sativa	Haba saodaa
21	Globulariaceae	Globularia Alypum	Taselaa
22	Cupressaceae	Juniperus	Ar-are
23	Rutaceae	Ruta	Fidjel
24	Lauraceae	Cinnamomum zeilanicum Nees	Gerfa
25	Myrtaceae	Syzygium aromaticum	Grenfol
26	Caryophyllaceae	Silene vulgaris	Tichert
27	Orobanchaceae	Cistanche violacea	Danoune

1.2.2. Spectre des familles botaniques

L'existence de 27 familles montre que la population étudiée a une grande connaissance aux plantes médicinales. Les familles des *Lamiaceae* et *Apiaceae* sont les plus représentées dans la phytothérapie dans cette région avec un pourcentage de 16% (Figure 20).

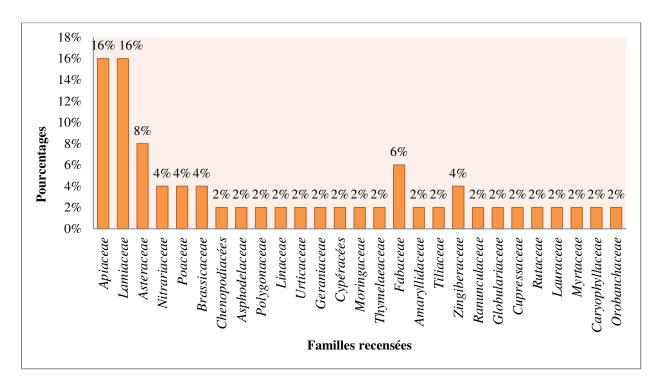


Figure 20: Représentation des pourcentages des familles recensées dans la région de Ghardaïa.

1.2.3. Partie utilisée

D'après les résultats obtenus, la plupart des personnes utilisant la plante entière avec pourcentage de 41%, suivi par les feuilles avec 18%, les graines avec 13%, les tiges avec 11%, les fleurs avec 10% et les fruits avec 5%, tandis que l'utilisation des racines et des rhizomes a un pourcentage très faible (1%) (Figure 21). Ces résultats indiquent que les organes d'une même plante médicinale n'étaient pas forcements actifs. Selon Limonier (2018), tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés médicinales.

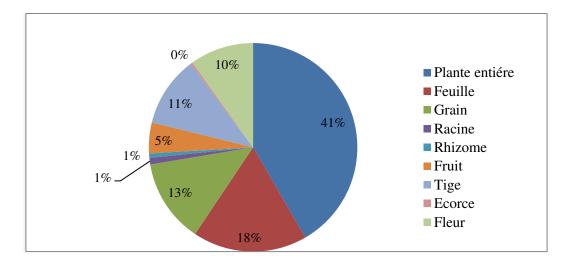


Figure 21: Pourcentage de différentes parties utilisées des plantes médicinales.

1.2.4. Modes de préparations

Il existe différentes modes de préparation des remèdes à partir des plantes médicinales. Nos résultats montrent que l'infusion est le mode le plus utilisé avec 44%, suivie par la poudre avec 28% et la décoction avec 23%. La préparation des traitements sous forme de pommade (2%), huile, gel ou cataplasme (1% pour chacun) représente un pourcentage très faible (Figure 22). L'infusion est la méthode la plus simple pour préparer les phytomédicaments, il permet de préserver toutes les propriétés des plantes avec l'extraction et l'assimilation des principes actifs et sans risque (Moatir *et al.*, 1983).

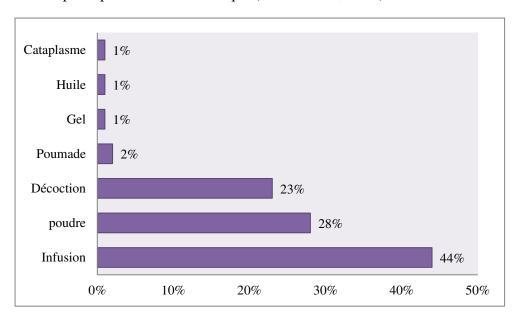


Figure 22: Pourcentage des différents modes de préparations des traitements.

1.2.5. Mode d'administration

Nos résultats montrent que la plupart des phyto-médicaments préparées à partir les plantes recensées dans la région de Ghardaïa sont prescrites par voie orale avec un très grand pourcentage de 76%, suivi par inhalation avec 13%, massage et lotion avec pourcentage de 5%, et finalement le lavement anorectal avec 1% seulement (Figure 23). La voie orale est considérée comme la voie d'administration la plus simple, et rapide.

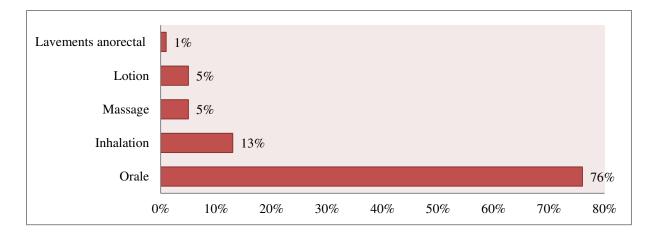


Figure 23: Pourcentage des différentes modes d'administration.

1.2.6. Les maladies traitées

Les résultats obtenus montrent que les maladies les plus traitées sont les affections digestives avec un grand pourcentage 60%, suivi par les affections respiratoires (20%) et le diabète (10%) (Figure 24). Il existe différentes affections citer par les enquêtées relèvent que des effets sur le système digestif par exemple ; l'affection sur l'appétit, diarrhée, le côlon...etc. La plupart des espèces sont utilisées dans les soins de l'appareil digestif à cause de la mauvaise nutrition, les plats traditionnels, le manque de connaissances sur l'alimentation utile et saine.

Des autres maladies sont signalées comme chronique surtout par les personnes âgées tels que diabète, l'anémie, cholestérol, rhumatisme, régulation de la tension, des traitements pour renforcement la mémoire ...etc.

Les femmes sont mentionnées des recettes pour traiter les douleurs des règles, les infections, les anti-chutes, les affections dermatologiques et la fièvre.

Les hommes du désert donnent des traitements contre les venins des scorpions et serpents. De plus, les jeunes signalent les traitements pour l'insomnie et des antidépresseurs.

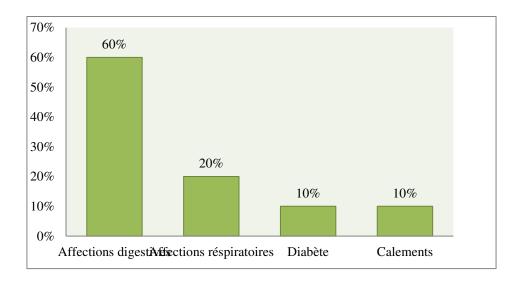


Figure 24: Répartition des affections traitées par les plantes.

2. Caractérisation phytochimique de Cistanche violacea

L'objectif est d'aborder une étude comparative de l'effet des différentes techniques d'extraction (extraction assistée par ultrasons, extraction assistée par soxhlet et macération) sur le rendement et le profil phénolique ainsi sur l'activité antioxydante.

2.1. Extraction des composés phénoliques

L'extrait éthanolique de *Cistanche violacea* (Desf.) Beck a été préparé à partir de la poudre de la plante entière dissoute dans l'éthanol en utilisant trois différentes méthodes d'extraction. Les extraits bruts issus de l'extraction par ultrason et macération ont une couleur jaune foncé. Tandis que l'extrait brut issu de l'extraction par soxhlet a une couleur marron foncé (Figure 25).

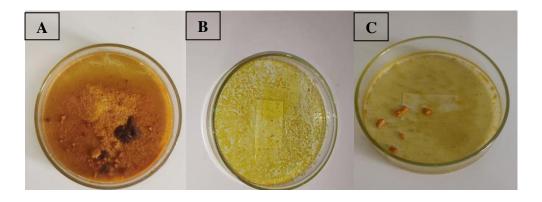


Figure 25: Les extraits éthanolique de *Cistanche violacea* issus de l'extraction par soxhlet (A), macération (B) et ultrason (C) (photo personnel, Mars 2022).

2.1.1. Calcule du rendement des composés phénoliques

La Figure 26 montre que l'extrait brut issu de l'extraction par soxhlet donne le meilleur rendement avec 33,65%. Tandis que les autres extraits bruts issus par ultrason et macération affichent des rendements plus faibles qui sont de 9,79% et 8,83% respectivement.

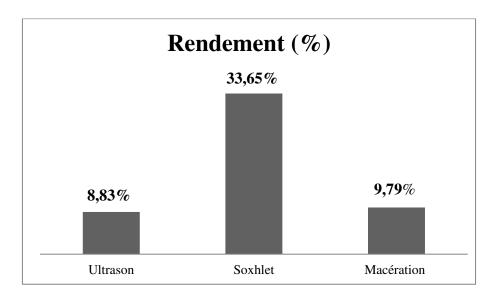


Figure 26: Rendements des extraits éthanoliques issus de trois types d'extraction (ultrason, macération et soxhlet).

2.2. Détermination les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés

Les phénols totaux des extraits éthanoliques sont dosés selon la méthode de Folin-Ciocalteau. Ces teneurs sont déterminées à partir l'équation de la régression linéaire (y=0,006x+0,02) de la courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations (Annexe 2). Les résultats obtenus exprimés en µg équivalent acide gallique/ mg d'extrait.

D'autre part, les teneurs totaux en flavonoïdes des extraits éthanoliques sont estimés par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Le contenu en flavonoïdes est déterminé à partir l'équation de la régression linéaire (y= 0,01x+0,12) de la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine à différentes concentrations (Annexe 3). Les résultats des teneurs en flavonoïdes totaux sont exprimés en µg équivalent quercétine/mg d'extrait.

D'après les résultats présentés dans le Tableau 05, les teneurs en flavonoïdes totaux sont négligeables par rapport aux teneurs en phénols totaux.

L'extrait éthanolique obtenu par ultrason renferme des teneurs en phénols et flavonoïdes totaux (149,18±5,7 µg EAG/mg et 2,10±0,9 µg EQ/mg respectivement) supérieurs à ceux préparés par soxhlet ou par macération. Ces résultats permettent d'établir cet ordre pour phénols et flavonoïdes totaux comme suivant: ultrason > soxhlet > macération.

Tableau 05: Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes totaux et en tannins condensés de l'extrait éthanolique de *Cistanche violacea* (Desf.) Beck obtenus par différentes méthodes d'extraction.

Evrtuait	Type	Phénols totaux	Flavonoïdes totaux	Tanins condensés
Extrait	d'extraction	(µg EAG/mg)	(µg EQ/mg)	(µg EC/mg)
Extrait	Macération	113,4±0,1 ^a	$0,46\pm0,4^{a}$	2,36±0,08 ^a
éthanolique	soxhlet	132,8±0,7 ^b	2,09±0,4 ^b	2,23±0,1 ^a
	Ultrason	149,18±0,5°	2,1±0,9 ^b	2,31±0,02 ^a

Les valeurs sont présentées : moyenne \pm ecartype, n=3, la moyenne entre les colonnes suivie par une lettre différente est significativement différente (p<0,05), μg EAG/mg: μg d'équivalent acide gallique/mg, μg EQ/mg: μg d'équivalent quercétine/mg, (μg EC/mg): μg d'équivalent catéchine/mg.

Le dosage des tannins condensés a été effectué selon la méthode à la vanilline avec l'HCl. Ces teneurs sont déterminées à partir l'équation de la régression linéaire (y=0,02x+0,04) de la courbe d'étalonnage réalisée avec catéchine à différentes concentrations (Annexe 4). D'après le Tableau 05, les résultats révèlent qu'il n'y a pas une différence significative (p>0,05) entre les extraits éthanoliques obtenus par trois différents types d'extraction par rapport aux teneurs des tanins condensés. Donc, on peut suggérer que la méthode d'extraction n'a pas d'influence sur les contenus en tanins condensés.

2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

2.3.1. Test de DPPH

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire a été réalisée par le test à DPPH. Le DPPH est un radical synthétique présente une coloration violette qui disparaît au contact d'une substance capable de saturer sa couche électronique (Figure 27), donc le degré du changement de couleur indique le potentiel de piégeage des extraits (Nabavi *et al.*, 2012).

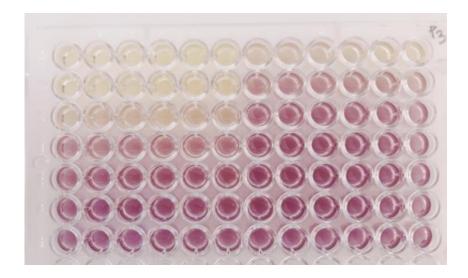


Figure 27: Test de DPPH en utilisant la microplaque (photo personnel, Mars 2022).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits (Tableau 06). Les résultats ont montré que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des fractions. En effet, l'extrait éthanolique obtenu par macération présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé (90,79±0,3%) à la concentration maximale (800 μg/ml). Le BHT utilisé comme antioxydant de référence a inhibé de 94,6±0,1% le radical DPPH à 800μg/ml. Pour mieux comparer les activités des différents extraits de la plante testée, les concentrations de l'extrait nécessaire pour piéger 50% de radical DPPH (IC₅₀) ont été déterminées. L'extrait avec de faible valeur IC₅₀ est considéré comme ayant une puissante activité antioxydante.

D'après nos résultats, l'extrait éthanolique obtenu par macération a montré une valeur IC_{50} la plus faible ($IC_{50} = <12,5 \ \mu g/ml$) qui se référant à une forte activité antioxydante. Le BHT a présenté une IC_{50} inférieur à $<12,5 \ \mu g/ml$.

Tableau 06: Activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique de *Cistanche violacea* obtenus par différentes méthodes d'extraction

Concentration (µg/ml)	Activité antiradiclaire de l'extrait éthanolique (%)			
	BHT (standard)	Méthodes d'extraction		
		Macération	Ultrason	Soxhlet
12.5	69,13±0,6	61,65±0,9	90,93±0,2	90,55±0,2
25	78,31±0,7	63,87±1,3	90,89±0,1	90,59±0,01
50	82,05±0,2	84,18±0,7	90,04±0,9	87,33±1,6
100	83,41±0,07	88,72±1,03	89,4±0,3	81,53±0,00
200	88,724±0,2	88,57±0,007	73,56±0,4	81,53±0,07
400	91,19±0,2	90,89±0,1	55,008±2,6	81,53±3,08
800	94,6±0,1	90,79±0,3	47,69±0,4	81,53±0,9
IC ₅₀ (μg/ml	<12,5ª	<12,5 ^a	16,61±1,06 ^b	15,40±1,7 ^b

Les valeurs sont présentées : moyenne \pm écart-type, n=3, la moyenne entre les colonnes suivie par une lettre différente est significativement différente (p<0.05), BHT: Butylhydroxytoluène.

2.3.2. Pouvoir réducteur

L'évaluation du pouvoir réducteur a été réalisée par le test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Selon Hamadou Habibou *et al.* (2019), le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant.

Le Tableau 07 montre que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à la concentration de différents extraits éthanoliques de *Cistanche violacea* obtenus par ultrason, macération, soxhlet).

Tableau 07: Pouvoir réducteur des extraits éthanoliques de *Cistanche violacea* (Desf.) et d'acide ascorbique par la méthode de FRAP.

Concentration	Absorbance			
(μg/ml)	Acide	Méthodes d'extraction		tion
	ascorbique	Macération	Ultrason	Soxhlet
3.125	0,24±0,005	0,13±0,01	0,06±0,003	0,084±0,002
6.25	0,48±0,001	0,12±0,001	0,1±0,006	0,107±0,001
12.5	0,94±0,01	0,27±0,06	0,11±0,001	0,14±0,003
25	0,97±0,008	0,34±0,02	0,33±0,02	0,24±0,01
50	1,05±0,01	0,44±0,2	0,46±0,1	0,37±0,004
100	1,24±0,005	0,6±0,05	0,707±0,05	0,41±0,008
200	1,29±0,001	0,65±0,01	0,72±0,02	0,68±0,0009
A0.5 (μg/ml)	$6,76\pm0,3^{a}$	109,67±0,5 ^b	61,70±15,3°	150±0,00 ^d

Les valeurs sont présentées : moyenne \pm écart-type, n=3, la moyenne entre les colonnes suivie par une lettre différente est significativement différente (p<0,05)

D'après ce tableau, le pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique obtenu par ultrason est le meilleur (61,70±15,3 µg/ml) comparé aux autres préparés par macération et soxhlet. Les résultats ont révélé que l'acide ascorbique en tant que contrôle positif était plus efficace que tous les extraits testés.

3. Discussion

Pour le but de tester l'effet de la méthode extraction sur le rendement, contenu en composés phénoliques et sur l'activité antioxydante le présent travail a été effectué. Pour cela, trois méthodes extraction ont été réalisées ; macération (24h), extraction assistée par ultrason (1h), et extraction par soxhlet (4h).

Le but de l'extraction est d'extraire la plus grande quantité possible des substances phénoliques à l'aide d'un volume de solvant extractif (100ml d'éthanol), c'est qui appelé le rendement d'extraction, qui est le rapport de la masse d'extrait sec récupéré et la masse de la

matière végétale initial. L'extraction par Soxhlet est une technique très efficace permet la répétition infiniment de cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première (Penchev, 2010). Ça peut expliquer notre résultat où l'extrait éthanolique a donné le meilleur rendement avec un pourcentage de (33,65%).

L'extraction par macération est considérée comme étant des méthodes conventionnelles d'extraction des composés phénoliques approuvées par divers auteurs pour leur efficacité (Liu et al., 2013). L'extrait éthanolique préparé par macération pendant 24h donne les meilleures teneurs en tannins condensés par rapport à celui obtenu par ultrason et soxhlet. La durée d'extraction par macération influence sur l'augmentation des teneurs des tannins condensés (Bourzeix et al., 2014).

L'extraction assistée par ultrasons est une technique d'extraction moderne. Elle augmente les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux, et diminuer les temps d'extraction (1 h) par apport aux autres méthodes d'extraction ; macération et soxhlet et en plus en gardant une température basse dans le milieu (Chemat, 2011). Les ondes ultrasoniques des ultrasons génèrent le phénomène de cavitation est la création de bulles de gaz et/ou de vapeur au sein du solvant. Les bulles de cavitation peuvent faciliter la libération de composés phénoliques par la perturbation des parois cellulaires de la matrice des cellules végétales.

Ces tests confirment la richesse de la plante *Cistanche violacea* (Desf.) Beck en substances bioactifs «phénols, flavonoïdes, tannins» principalement les phénols. La meilleure méthode pour extraire les composés phénoliques simples c'est l'extraction assistée par ultrason et la meilleure méthode pour extraire les tanins c'est la macération.

Une comparaison des activités antioxydantes des extraits obtenus par les trois méthodes d'extraction été réalisée. Une amélioration d'activité antiradicalaire de l'extrait obtenu par macération avec $IC_{50} = \langle 12,5 \mu g/ml$ comme celle du BHT utilisé comme standard. L'extrait obtenu par ultrason a le meilleur pouvoir réducteur. L'extraction assistée par ultrason et la macération sont les méthodes adéquates pour extraire les antioxydants de *Cistanche violacea* (Desf.) à partir de la plante entière. Donc l'activité antioxydante s'accompagne avec l'enrichissement en composés phénoliques. Comme conclusion, *Cistanche violacea* (Desf.) Beck a une activité antioxydante élevée mise en évidence via différents systèmes.

Conclusion générale

La phytothérapie représente l'un des domaines les plus importants et les plus utilisés de la médecine traditionnelle au monde. Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques, mais leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes et les stades physiologiques, Il existe une tendance croissante à corréler les composées phénoliques des plantes avec ses activités antioxydantes.

Notre étude est basée sur deux aspects, une enquête ethnobotanique et une évaluation de l'activité antioxydante avec la détermination des composés phénoliques de la plante *Cistanche violacea* (Desf.) Beck en fonction de différents types d'extractions.

Les résultats d'enquête ethnobotanique montrent une grande diversité de plantes 50 espèces identifiées appartenant à 27 familles différentes, dont les plus utilisées sont les *Apiaceae* et *Lamiaceae*.

En effet, les principaux résultats obtenus révèlent que la présence des activités antioxydantes des extraits éthnoliques de *Cistanche violacea* (Desf.) Beck reliées à la présence des composés phénoliques (phénols, flavonoïdes et tannins).

L'étude comparative entre les différents types d'extractions montre que l'extraction assistée par ultrasons UAE augmente les teneurs en phénols, et en flavonoïdes, et la meilleur pouvoir réducteur. Tandis que l'extraction assistée par macération améliorée l'activité antiradicalaire, et les teneurs en tannins condensés.

Enfin, considérant l'intérêt de la flore de la région de Ghardaïa, le screening d'autres espèces est nécessaire en vue de leur meilleure valorisation au profit de l'humanité.

Références bibliographiques

- **1.** Ahmed I.A., Mikail M.A., Bin Ibrahim M., Bin Hazali N., Rasad M.S.B.A., Ghani R. A., et al. (2015). Antioxidant activity and phenolic profile of various morphological parts of underutilised Baccaurea angulata fruit. Food Chemistry 172: 778-787.
- **2.** Alia, F., Chouikh, A., Djahra, A. B., Bousbia B, A., Nani, S., & Tliba, A. (2021). Comparative study of some physicochemical and biological properties of effect host species variation on the relationship Saharan parasitic plant Cistanche violacea (Desf.) Beck. Notulae Scientia Biologicae, 13(4), 11054.
- **3.** Amina Bougandoura, Brigida D., Souad A., Monica S., Ratiba M., Antonio F., Samir B., & Fadila B., Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of Cistanche violacea Desf. (Orobanchaceae) extract, Fitoterapia (2016).
- **4.** Anyinam C., 1995 Ecology and ethnomedicine. Exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. Social Science and Medicine, 4:321-329.
- **5.** Assami K., Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes du Carum carvi L. d'Algérie. Thése de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene USTHB. Alger, 2014, 139 p.
- **6.** Ataei, Najibeh., Systématique moléculaire et évolution du parasite non photosynthétique Cistanche (Orobanchaceae). Bonn, 2017. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- 7. Atta-ur-Rahman (Ed.) Studies in Natural Products Chemistry, Vol. Vol. 33 © 2006 Elsevier B.V. B.V. All rights rights reserved. ©
- **8. B**ECK in H. G.A., Engler, P., 96 [IV.261]: 26-44 (1930), J.A. GUIMARÃES in Brotéria 3: 189-192 (1904).
- **9.** Bendif, H., 2017. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva (L.)* Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thése de doctorat, Ecole normale supérieure de kouba-Alger, 154p.
- **10. B**ichi, H., et Ben tame, F., 2006. Contribution à l'étude de la variabilité climatique dans les régions Ouargla et Ghardaïa. Thèse Ing. Eco. Université de Kasdi Marbah, Ouargla. 115p.
- **11.** Bijalwan, V., Ali, U., Kesarwani A.K., Yadav K. & Mazumder K. (2016). Hydroxycinnamic acid bound arabinoxylans from millet brans-structural features and antioxidant activity. Int J Biol Macromol. 88:296-305.
- **12. B**ouchoukh, I., Hazmoune, T., Boudelaa, M., Bensouici, C., & Densouici, C., & Densouici, A. (2019). Anticholinesterase and antioxidant activities of foliar extract from a tropical species: Psidium guajava L. (Myrtaceae) grown in Algeria. Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, 32(3), 160-167.
- **13.** Bougandoura, Amina., Recherche et détermination structurale de métabolites Secondaires de trois espèces algériennes. Thèse de doctorat en chimie pharmaceutique. Université Frères Mentouri Costantine 1. 2018, 210 p.
- **14.** Bougandoura Amina., Brigida D'Abrosca., Souad Ameddah, Monica Scognamiglio, Ratiba Mekkiou, Antonio Fiorentino, Samir Benayache, Fadila Benayache, Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of Cistanche violacea Desf. (Orobanchaceae) extract, Fitoterapia (2016).
- **15.** Boumediou, A., Addoun, S., Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques en médecine traditionnelle dans la ville de Tlemcen (Algérie), Université Abou Beker Belk Aïd faculté de médecine, (2017), 130p.
- 16. Bourzeix, J., Mourges, S., Aubert. Influence de la durée de maceration sur la constittution en polyphénols et sur la degustation des vins rouges. Station d'Œnologie et

- de Technologie des Produits végétaux Institut national de la Recherche agronomique Narbonne, 2014.
- **17.** Călinoiu, L. F., & Vodnar, D, C., (2018). Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. Nutrients, 10(11), 1615.
- **18.** Chaouche, T., (2014). Etude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Analyse par HPLC-SM les extraits les plus actifs.
- **19.** Chemat, F., (2014). Éco-extraction du végétal. Procédés innovants et solvants alternatifs. Coll.Technique et ingénierie, Paris, 336 p.
- **20.** Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. Ultrasonics Sonochemistry, 18(4), 813–835.
- **21.** Cory H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M. & Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review. Front Nutr. 2018 (5): 87-97.
- **22. D**uraffourd, C., Lapraz, J., C. et Chemli, R. (1997). La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental –Tunis- de l'usage empirique à la phytothérapie clinique, Edition Granche, Paris, 222 p.
- 23. Faurie, C., Terra, M., P., Devaux, J., (1980). Ecologie. Ed. Ed. JB.Baillir. Paris. 168 P.
- **24.** Gourlay, G., & Constabel, C.P. (2019). Condensed tannins are inducible antioxidants and protect hybrid poplar against oxidative stress. Tree Physiol. 39(3): 345-355.
- **25.** Georges, Dillemann., (1961) Plantes médicinales et principes actifs. La notion de race chimique, Bulletin de la Société Botanique de France, 30-38.
- **26.** Grasel, F., Dos, S., Ferrão, M. F., Wolf, C. R. (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 153, 94-101. DOI: 10.1016/j.saa.2015.08.020.
- **27.** Greathead, H. (2003). Plant and Plant Extract for Improving Animal Productivity. Proceeding of the Nutrition Society, 62, 279-290.
- **28.** Hama, Hamadou Habibou., PhD. Moussa, Idrissa, MC. Ikhiri, K., P. Antioxidant Activity of Méthanolic Extracts from Various Organs of Detarium microcarpum Guill.& Perr European Scientific Journal April 2019 edition Vol.15.
- **29.** Harborne, J., B. (1980). Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology, Vol 8,Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, 1980,pp.329-402. In: Les composés phénoliques des végetaux : un exemple de metabolites secondaire d'importance économique. Macheix, J.J., Fleriet, A., Christian, A. 2005. PPTUR Lausane.
- **30.** Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D., J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of nutritional biochemistry, 13(10): 572-584.
- **31.** Hoffmann, Laurent. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT).
- **32.** Izzo, S., Naponelli, V., & Bettuzzi, S. (2020). Flavonoids as Epigenetic Modulators for Prostate Cancer Prevention. Nutrients, 12(4).
- **33.** Jean-Yves, Chabrier. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques.
- **34.** Jiang, Y., and TU, P, F,. (2009). Analysis of chemical constituents in Cistanche species. Journal of Chromatography A 1216: 1970-1979.
- **35.** Joel, R., Mcneal, Jonathan, R., Bennte, Andrea, Wolfe, D., & Sarah M. Phylogeny and origins of holoparasitisme orobanchacera. Department of Biology and Physics, Kennesaw State University, Kennensaw. American Journal of Botany 100(5): 971–983. 2013.

- **36.** Julkunen-Tiito, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: Methods for the analysis of certain phenols. J. Agric. Food. Chem., 33(2): 213-217.
- **37.** Kasprzak, M.M., Erxleben, A., & Ochocki, J. (2015). Properties and applications of flavonoid metal complexes. Advance RCV. 5(57): 45853-45877.
- **38.** Laginika, L. (2005). Étude photochimique et activé biologique de substances naturelle isolée de béninoise. Thèse de doctorat, Univ. Lonis Pasteur, Strasbourg, Bénin, 267 p.
- **39.** Lambert, C., (2011). Étude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois. Université Bordeaux Segalen. 202p.
- **40.** Laurent, Hoffmann., (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). Biologie cellulaire. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 288p.
- **41.** Legrand, G. (2015). Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée: approches biochimique et moléculaire (Doctoral dissertation, Université de Lille).
- **42.** Liu, JB., Chen, F., Chen, J., Xu, Q., Xia, D., Wang, Z., & Li,Y. (2013). Magnetic signature of environmental change reflected by lacustrine sediments from the Ningwu Gonghai Lake. Shanxi. China: a record of Humid Medieval Warm Period. Chinese Sci Bull 49:447–464.
- **43.** Lonut-Florin, b Palici., Valorisation des activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes nord-africaines. Biologie végétale. Université de Bordeaux, 2016.
- **44.** Losada-Barreiro, S., & Bravo-Diaz, C., (2017). Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. European Journal of Medicinal Chemistry, 133, 379-402.
- **45.** Limonier, Anne-Sophie., (2018) La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Marseille, 99p.
- **46.** Macheix, J.J., Fleuriet, A., & Billot, J.(1990). Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In: les polyphenols en agroalimentaire Sarni-Manchado P, Cheynier V.2006., Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- **47. M**andel, S.A., Amit, T., Weinreb, O., Youdim, M.B. (2011). Understanding the broad-spectrum neuroprotective action profile of green tea polyphenols in aging andneurodegenerative diseases. Journal of Alzheimer's disease 25, 187-208.
- **48.** Mamadou, Balde., Etude physico-chimique et valorisation de composés bioactifs de Parinari macrophylla Sabine (Chrysobalanaceae). Chimie théorique et/ou physique. Université de Strasbourg; Université Cheikh Anta Diop (Dakar), 2018.
- **49. M**oattir, Fauron, R., et Donadieu, Y. (1983). La phytothérapie .thérapeutique différente. Ed.Librairie Maloine S.A, Paris, 243 p.
- **50.** Moufida, Rira. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en mileu tropical. Agronomie. Unversité Clermont Auvergne, 2019.
- **51.** Nabavi, SF, Nabavi, SM., Mirzaei, M., & Moughadam, AH. (2012). Protective effect of quercetin against sodium fluoride induced oxidative stress in rat's heart. Food Funct 3(4): 437-441.
- **52.** Naumann, H., & Muir, J., & Lambert, B., & Tedeschi, L., & Kothmann, M.M.. (2013). Condensed tannins in the ruminant environment: A perspective on biological activity. J. Agric. Sci. 1. 8-20.
- **53.** Niki, E. (2018). Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress. Free Radic Biol Med. 124: 564.Nimse, S.B. & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. Advance RCV. 5(35): 27986-28006.

- **54.** Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. Molecules, 16(3), 2191-2217.
- **55.** Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44,307–315.
- **56.** Ozenda, & Michelle, Capdepon. (1977). Recherches sur les Phanérogames parasites V. Sur quelques particularités anatomiques du genre Cistanche (Orobanchacées), Bulletin de la Société Botanique de France, 124:7-8, 451-464.
- 57. Ozenda, P., (1991) Flore et végétation du sahara. CNRS 3em édition, Paris, 660 p.
- **58.** Penchev, Petko., Ivanov. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. PhD, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2010.
- **59.** Piwowarczyk, Renata, Ochmian, Ireneusz, Lachowicz, Sabina, Kapusta, Ireneusz et Sotek, Zofia. "Propriétés phytochimiques et bioactives dePhelypaea Tournefortii- Effet du mode de vie parasitaire et des facteurs environnementaux" Acta Universitatis Cibiniensis. Série E: Technologie alimentaire, vol.24, no.1, 2020, pp.113-128.
- **60. P.**Schofield, D.M., Mbugua, A.N., Pell. "Analysis of condensed tannins" a review. Anim. Feed Sci. Technol. 2001, Vol. (91), page: 21.
- **61.** Province de Ghardaïa, Consulté le : 10 Mars 2022 https://stringfixer.com/fr/Gharda%C3%AFa_Province
- **62. Q**uiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2013). Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. Pharmacological research, 68(1), 125-131.
- **63. Q**uezel, P., et Santa, S., (1962) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2 tomes. Éd. CNRS Paris, 1170 p.
- **64.** Sabrina, B., Pierre, C., Corine, G., Olivier, G., Thierry, H., Erwan, P., Elisabeth, S., La pharmacognosie est l'étude des substances médicamenteuses d'origine naturelle : végétale, animale ou microbienne, 2020, 504 p.
- **65.** Saidi, Imene. Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat en science biologique. Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbés. 2019, 188 p.
- **66.** Sarni-Manchado, P., et Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11.
- **67.** Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. International journal of molecular sciences, 19(6), 1573.
- **68.** Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Maria Varoni, E., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Valere Tsouh Fokou, P., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., El Beyrouthy, M., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Oana Docea, A., Setzer, WN, Calina, D., Cho, WC., & Sharifi-Rad, J.(2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases, Front Physiol, 2(11), 694. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694.
- **69.** Schofield, P., Mbugua, DM., et Pell, AN., (2001) Analyse des tanins condensés : un examen. Science et technologie de l'alimentation animale, 91, 21-40.
- **70.** Singla, R.K., Dubey, A.K., Garg, A., Sharma, R.K., Fiorino, M., Ameen, S.M., & Al-Hiary, M. (2019). Natural Polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. JAOAC Int. 102: 1-5.
- **71.** Singleton, V.L., Orthofer R. et Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidants substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods. Enzymol., 299: 152-178.

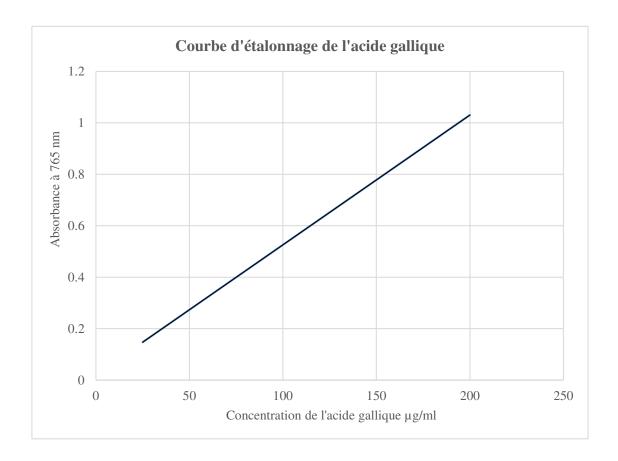
- **72.** Sunisa, Suchat. Dosage du polyisoprène et des résines de la biomasse de guayule (Parthenium argentatum) par spectroscopie proche infrarouge (SPIR) Méthodes d'extraction par solvant de référence. Thèse de doctorat en Génie des procédés. Université Montpellier II, 2012, 220p.
- **73.** Tu, W., Wang, H., Li S., Liu, Q. & Sha H. (2019). The anti-Inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. Aging Disease. 10(3): 637-648.
- **74.** Tuominen, A., & Salminen, J. P. (2017). Hydrolyzable tannins, flavonol glycosides, and phenolic acids show seasonal and ontogenic variation in *Geranium sylvaticum*. J Agric Food Chem. 65(31): 6387-6403.
- 75. Vial, Y., et Vial, M., (1974). Sahara milieu vivant. Ed Hatier, Paris, 223p.
- **76.** Wang, T.Y., Li, Q. & Bi, K.S. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. Asian J Pharm Sci. 13(1): 12-23.
- **77.** Watson, R. R. (2 Ed.). (2018). Polyphenols in plants: isolation, purification and extract preparation. Academic Press.
- **78. Z**hishen, J., Mengcheng, T. & Jianming, W. (1999). Research on antioxidant activity of flavonoids from natural materials. Food. Chem., 64: 555-559.
- **79.** Ziberna, L., Fornasaro, S., Čvorović, J., Tramer, F., Passamonti, S. (2014). Bioavailability of flavonoids: The role of cell membrane transporters. Polyphenols in Human Health and Disease 1, 489-511.
- **80.** Site internet 1. http://atlassahara.org/Orobanchaceae/Cistanche%20violacea/Cistanche%20violacea.html? cat%20=Orobanchaceae

Annexes

Annexe 1 : Fiche d'enquête ethnobotanique				
Université de Ghardaïa	Date :			
Faculté des sciences de la nature et la vie et des sciences de la terr	e N°:			
Département de biologie				
Fiche d'enquête ethno	<u>obotanique</u>			
Les plantes médicinales dans la région de	Ghardaïa (population locale)			
Questionnaire :				
Mettre une croix dans la case que vous estimez convenable.				
Répondre de façon précise et honnête et merci pour votre col	laboration.			
Profil de l'informateur :				
Nom et prénom : Sexe : Masculin Féminin ■ Age : 20 [20-30] [31-40] [41-50] [51-60] >60 ■ Niveau d'étude : Néant Primaire Secondaire Universitaire ■ Situation familiale Célibataire Marié				
Plante: Nom locale de la plante /nom vernaculaire :				
 Méthode de séchage et conservation : Plante seule : ☐ Oui ☐ Non (association possiple) : 				
Autres:	coction □Fumigation □ Macération □ Poudre illerée □ Dose précise			
■ Mode d'administration : □ Orale □ Inhalation □ Massage □ lavement anorectal Autres :				
Pour les enfants : ☐ 1fois/jour☐ 2fois/jour ☐ 3f Pour les adultes : ☐ 1fois/jour☐ 2fois/jour ☐ 3f Pour les femmes enceintes : ☐ 1fois/jour☐ 2fois/jour ☐ 3f	ois/jour Autres:			
■ <u>Durée d'utilisation</u> : ☐ Un jour ☐ Une semaine ☐ U	n moi 🔲 jusqu'a la guérison			

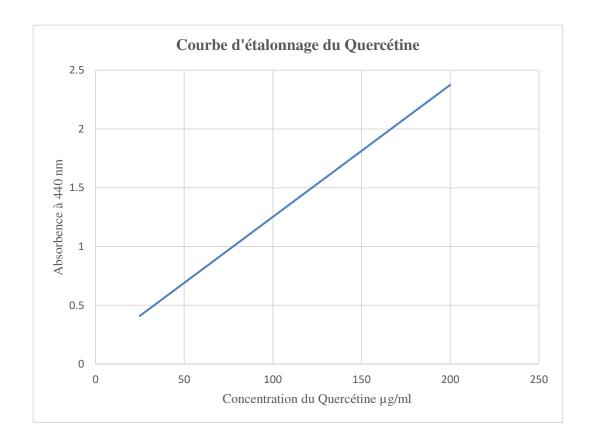
Utilisations:				
 <u>Types des maladies traitées</u> : 				
☐ Affections dermatologiques ☐ Affections respiratoires ☐ Affections cardio-vasculaires ☐ Affections génito-urinaires Autres:	☐ Affections rénales ☐ Affections digestives ☐ Affections hépatiques ☐ Diabète			
■ Precaution d'emploi:				
■ <u>Résultats</u> : ☐ Guérison ☐ A ■ <u>Effet secondaire</u> ! : ☐ Oui ☐ N	méliorer Inefficace			
<u>Autres informations</u> :				
<u>Indiquer la source des informations</u> :				

Annexe 2



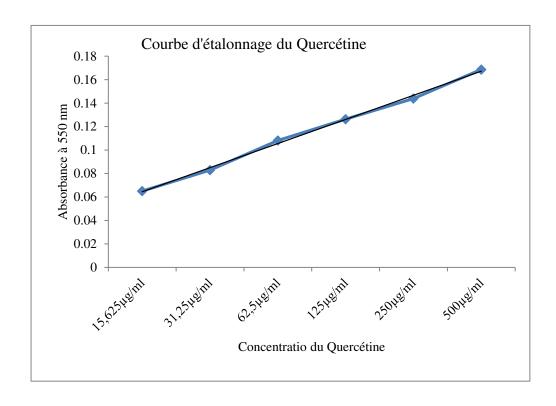
Courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations.

Annexe 3



Courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine à différentes concentrations.

Annexe 4



Courbe d'étalonnage réalisée avec catéchine à différentes concentrations.