

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 : Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : GHRIGA Alia

BOULGHITI Assma

Thème

**Étude phytochimique et activités biologiques de
la plante *Fagonia glutinosa***

Soutenu publiquement, le 12/06/2023, devant le jury composé de :

M. BENKHERARA Salah	MCA	Univ. Ghardaïa	Président
M. BELGUIDOUM Mahdi	MCB	Univ. Ghardaïa	Directeur
Mme. BOUTARFAIA Amira	MCB	Univ. Ghardaïa	Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout ; nous remercions ALLAH tout puissant qui nous avoir donné la santé, le courage et la patience d'atteindre à ce niveau.

Nous remercions particulièrement nos parents qu'ils étaient une grande incitation pour suivre notre étude avec leurs prières et leurs soutiens.

*Nous adressons nos plus sincères remerciement à notre promoteur Dr. **Belguidoum Mahdi** maître de conférences « B » à l'université de Ghardaïa, pour son aide, ses qualités humains, ses conseils et son assistance permanente tous au long de notre travail. Nous le remercions aussi à son confiance qu'il nous a accordée afin de réaliser ce mémoire.*

*Nous remercions monsieur **Benkherara Salah** maître de conférences « A » à l'université de Ghardaïa, d'avoir accepté de présider les membres du jury.*

*Nos remerciements s'adressent également à madame **Boutarfaia Amira** maître de conférences « B » à l'université de Ghardaïa, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à remercier les enseignantes **M^{elle} Baali Faiza** et **M^{elle} Djemouai Nadjette** pour leurs gentillesse et leurs efforts en acceptant de nous guider pour accomplir l'activité antibactérienne.*

*En fin, nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin, à la réussite de ce travail particulièrement les ingénieurs de laboratoires : **M. Bensaleh Bachir, Mme Khouloud et M. Abderrahmane.***

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère maman et mon cher père :

Pour leurs soutiens, leurs sacrifices, leurs prières et leurs présences à chaque instant tout au long de mes études. Si je suis arrivée là ces grâce à vous. Que dieu doive satisfait de vous et vous donne longue et heureuse vie.

A mes chères sœurs : Soumia, Imane, Amina et Nourhane pour leurs encouragements et leurs soutien moral.

A mes frères : Othmane, Boubaker et leur femme khansaa et ses chers enfants Yasmine et Yousef.

A ma tante et leurs filles : Hadjer, Malak, Mayar ; et le petit fils Mouaïne.

A toute ma famille pour leur appui et leur encouragement au long de parcours universitaire.

A mes chères amies : Massaouda, Khadidja, Souad, Ikram, Sendess et Fatima.

A tous mes proches et mes collègues de promotion.

Assma

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A mon merveilleux grand-père Saad qui n'a pas pu voir mon travail, décédé l'année dernière et qui là où il est, continue de veiller sur moi.

A ma chère mère, Fatima

La femme qui a tellement sacrifié pour moi et qui mérite toute ma reconnaissance, Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son Écoute permanent et son soutien.

A mon cher père, Mustapha

Pour sa confiance, ses encouragements et son soutien.

A mon cher frère : Abderaouf et mes sœurs Bouchra et Meriem Pour leur soutien et leur nombreux encouragement à mon égard.

À mes tantes et leurs enfants : Zohra, Souad, Imane, Marouane, Ali, Aïda, et a chère bébé Karima.

A toute ma famille pour leur encouragement

A mes meilleures amies : M'ebarka, Sirine source d'amour et d'encouragement.

A toutes celles et à tous ceux qui m'aiment...

Alia

Résumé

Les travaux actuels sont consacrés à l'étude phytochimique et biologique d'une espèce endémique saharienne *Fagonia glutinosa* (Zygophyllaceae), pour identifier les molécules bioactives et pour trouver l'utilité. La première partie de travail est consacrée à la préparation de cinq extraits par une macération suivie d'une extraction liquide-liquide avec des solvants de polarités croissantes. L'analyse quantitative de ces extraits est garantie par le dosage de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins totaux. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par trois méthodes à savoir la réduction du fer, DPPH et phosphomolybdate. Ensuite l'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de dépôt des disques contre deux souches *Escherichia coli*(ATCC8739) et *staphylococcus aureus*(ATCC6538). L'analyse qualitative a été réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM), puis nous avons essayé de séparer l'extrait butanolique sur une colonne de gel de silice. Les résultats obtenus montrent que cette plante contient des quantités élevées de composés phénoliques et de flavonoïdes, et pauvres en tanins. L'estimation quantitative a montré que l'extrait chloroformique a une forte teneur par rapport aux autres extraits. L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *F. glutinosa*, montrent que la plante peut-être une bonne source de composés bioactifs en raison de la richesse en polyphénols, flavonoïdes et tanins de ses extraits, par contre aucun extrait n'a enregistré une activité antibactérienne à 200 mg/ml.

Mots clés : *Fagonia glutinosa*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract:

The current work is devoted to the phytochemical and biological study of an endemic Saharan species *Fagonia glutinosa* (Zygophyllaceae), to identify the bioactive molecules and to find the utility. The first part of this work is devoted to the preparation of five extracts by a maceration followed by a liquid-liquid extraction with solvents of increasing polarities. The quantitative analysis of these extracts is guaranteed by the determination of the content of total polyphenols, total flavonoids and tannins. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by three methods namely iron reduction, DPPH and phosphomolybdate. Then the biological activity was evaluated using the disk deposit method against two strains of *Escherichia coli* (ATCC8739) and *Staphylococci aureus* (ATCC6538). The qualitative analysis was carried out by thin layer chromatography (TLC), then we tried to separate the butanol extract on a column of silica gel. The results obtained show that this plant contains high amounts of phenolic compounds, flavonoids, and low in tannins. The quantitative estimation showed that the chloroform extract has a high content compared to other extracts. The tests for the evaluation of the antioxidant activity and the antibacterial activity of all the extracts of *Fagonia glutinosa*, show on the one hand that all the extracts have a good source of antioxidant compounds due to the richness in polyphenols, flavonoids and tannins of its extract, on the other hand the antibacterial activity does not have an antibacterial effect in all the extracts to 200mg/ml.

Key words: *Fagonia glutinosa*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity.

المخلص

العمل الحالي مكرس للدراسة الكيميائية النباتية والبيولوجية لأنواع المتوطنة في الصحراء الكبرى (*Fagonia glutinosa* (Zygophyllaceae) ، لتحديد الجزيئات النشطة بيولوجيًا والعثور على استخداماتها. بداية العمل الأولى هي تحضير خمس مستخلصات بالنقع متبوعًا باستخلاص سائل-سائل بمذيبات ذات قطبية متزايدة. يتم ضمان التحليل الكمي لهذه المستخلصات من خلال تحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد والعفص. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات بثلاث طرق وهي ارجاع الحديد ، DPPH و فوسفوموليبيدات. ثم تم تقييم النشاط البيولوجي باستخدام طريقة الترسيب القرصي ضد سلالتين من الإشريكية القولونية (ATCC8739) والمكورات العنقودية الذهبية (ATCC6538). تم إجراء التحليل النوعي بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ، ثم حاولنا فصل مستخلص البيوتانول على عمود من هلام السيليكا. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن هذا النبات يحتوي على كميات عالية من المركبات الفينولية والفلافونويد ، وانخفاض في العفص. أظهر التقدير الكمي أن مستخلص الكلوروفورم يحتوي على نسبة عالية مقارنة بالمستخلصات الأخرى. أظهرت الاختبارات الخاصة بتقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا لجميع مستخلصات *Fagonia glutinosa* ، من ناحية أخرى ، أن جميع المستخلصات تحتوي على مصدر جيد لمركبات مضادات الأكسدة بسبب ثراء مادة البوليفينول والفلافونويد والعفص في مستخلصها. من ناحية أخرى ، لم يتم تسجيل أي نشاط مضاد للبكتيريا في جميع المستخلصات بتركيز 200 مغ/مل.

الكلمات الدالة : *Fagonia glutinosa* , البوليفينول , الفلافونويد , نشاط مضاد للأكسدة , النشاط المضاد للبكتيريا .

Liste des figures

Figure 1 : Figure représentative de la plante <i>Fagonia glutinosa</i>	7
Figure 2 : Filtration et concentration de l'extrait.	10
Figure 3 : Extraction liquide-liquide par les différents solvants.	10
Figure 4 : Protocole générale de la préparation des extraits.....	11
Figure 5 : La réaction de test DPPH.....	13
Figure 6 : Préparation des boîtes de Pétri.....	15
Figure 7 : Application des disques.	15
Figure 8 : Chromatographique sur colonne de l'extrait butanolique.....	17
Figure 9 : Les résultats de criblage phytochimique.....	19
Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	20
Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	22
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine	23
Figure 13 : Test DPPH de l'acide ascorbique	24
Figure 14 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait chloroforme.....	25
Figure 15 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait acétate d'éthyle	25
Figure 16 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait butanol	25
Figure 17 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait aqueux.....	26
Figure 18 : Courbe d'inhibition du DPPH par l'extrait brut	26
Figure 19 : Courbe d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.....	26
Figure 20 : Photo de l'activité réductrice de fer pour l'acide ascorbique	28
Figure 21 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour l'extrait chloroformique.....	28
Figure 22 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour extrait acétate d'éthyle.....	28
Figure 23 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour extrait butanol.....	29
Figure 24 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour extrait aqueux	29
Figure 25 : Courbe de l'activité réductrice de fer pour l'extrait brut	29
Figure 26 : Courbe standard de l'activité réductrice du fer pour l'acide ascorbique.....	30
Figure 27 : Courbe de l'activité antioxydante totale pour l'extrait de chloroforme	31
Figure 28 : Courbe de l'activité antioxydant totale pour l'extrait d'acétate d'éthyle.....	31
Figure 29 : Courbe de l'activité antioxydant totale pour l'extrait de butanol	31
Figure 30 : Courbe de l'activité antioxydant totale pour l'extrait aqueux résiduel	32
Figure 31 : Courbe de l'activité antioxydante totale pour l'extrait brut.....	32
Figure 32 : Courbe standard de l'activité antioxydante totale pour l'acide ascorbique	32
Figure 33 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (C=25 mg/ml).....	34
Figure 34 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (C=200 mg/ml).....	34
Figure 35 : Tests CCM des extraits (l'extrait butanolique, chloroformique, acétate d'éthyle et l'éther de pétrole) sous lampe UV (365 nm) et par révélateur chimique.	35
Figure 36 : Les fractions collectées de la colonne de l'extrait butanolique.....	36
Figure 37 : Test CCM des différentes fractions l'extrait butanolique, sous lampe UV (365 nm) et par le révélateur chimique.	37

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste de produits chimiques utilisé pendant la manipulation	8
Tableau 2 : Caractéristiques générales des souches bactériennes testées.....	14
Tableau 3 : Le système d'éluion des extraits	16
Tableau 4 : Résultats du criblage phytochimique	19
Tableau 5 : Rendements des extraits de <i>Fagonia glutinosa</i>	20
Tableau 6 : Quantité des phénols totaux dans différents extraits de <i>Fagonia glutinosa</i> en (Mg EAG/g extrait) .	21
Tableau 7 : Dosage des flavonoïdes des différents extraits de <i>Fagonia glutinosa</i>	22
Tableau 8 : Dosage des tanins des différents extraits de <i>Fagonia glutinosa</i>	23
Tableau 9 : CI ₅₀ des différents extraits de <i>Fagonia glutinosa</i>	27
Tableau 10 : Résultats de l'activité réductrice du fer des différents extraits de <i>Fagonia glutinosa</i>	30
Tableau 11 : Résultats de l'activité antioxydante totale des différents extraits de <i>Fagonia glutinosa</i>	33
Tableau 12 : Résultats de l'activité des extraits contre <i>Escherichia coli</i>	35
Tableau 13 : Résultats de l'activité des extraits contre <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Tableau 14 : Systèmes d'éluion utilisés pour la séparation de l'extrait butanolique sur colonne en gel de silice	36

Liste des abréviations

FeCl₃ : Trichlorure de fer

HCL : Chlorure d'hydrogène

DPPH : diphényl picryl-hydrazyl

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

MeOH : méthanol

H₂O : eau distillée

CHCl₃ : chloroforme

AcOEt : Acétate d'éthyle

TCA : Acide Trichloracétique

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

Mg EAG/g extrait : milligramme Equivalent Acide Gallique par gramme d'extrait

Mg EQ/g : milligrammes Equivalent de quercétine par gramme d'extrait

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice Médiane

UV : Ultra-Violet

DMSO : Diméthylsulfoxyde

Table des matières

Remerciements	I
Dédicaces	II
Résumé	IV
Abstract:	V
المخلص	VI
Liste des figures	VII
Liste des tableaux	VIII
Liste des abréviations	IX
I. Introduction	1
II. Matériels et méthodes.....	7
II.1. Matériels.....	7
II.1.1. La matière végétale	7
II.1.2. Les produits chimiques	8
II.2. Méthodes	8
II.2.1. Criblage phytochimique.....	8
II.2.2. Préparation des extraits	9
II.2.3. Analyse quantitative.....	12
II.2.3.1. Dosage des phénols totaux :	12
II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes :	12
II.2.3.3. Dosage des tanins :	12
II.2.4. Activité biologique.....	13
II.2.4.1. Le pouvoir anti-radicalaire :	13
II.2.4.2. Le pouvoir réducteur de fer :	13
II.2.4.3. L'activité antioxydante totale :	14
II.2.4.4. L'activité antibactérienne :	14
II.2.4.4.1. Préparation de l'inoculum :.....	15
II.2.4.4.2. Préparation des boîtes pétri :	15
II.2.4.4.3. Dépôt des disques :	15
II.2.5. Analyse chromatographique	16

III.	Résultats et discussions	19
III.1.	Résultats.....	19
III.1.1.	Criblage phytochimique.....	19
III.1.2.	Rendement d'extraction :	Error! Bookmark not defined.
III.1.3.	Dosage de polyphénol :.....	20
III.1.4.	Dosage de flavonoïde :.....	22
III.1.5.	Dosage des tanins :.....	23
III.1.6.	Activité anti-radicalaire :	24
III.1.7.	Activité de réduction de fer :.....	28
III.1.8.	Activité anti oxydante totale :	31
III.1.9.	Activité biologique.....	33
III.1.10.	Analyse chromatographique :.....	35
III.2.	Discussion.....	37
	Conclusion.....	40
	Références	42

Introduction

I. Introduction

Les plantes sont à la base des systèmes médicaux traditionnels qui existent depuis des siècles. Ils ont continué à fournir de nouveaux traitements pour les humains pendant des milliers d'années. Ces dernières années, l'intérêt de la recherche pour les médecines naturelles a augmenté, et les plantes médicinales sont devenues une alternative aux produits de synthèse (**Kumar et al., 2012 ; Braithwaite et al., 2014 ; Materska et al., 2014**). En effet, les statistiques montrent que les produits naturels et leurs dérivés représentent plus de 50% des médicaments utilisés dans le monde, et un quart des formulations des recettes sont basées sur des substances extraites de plantes ou des analogues synthétiques dérivés de plantes (**Kumar et al., 2012**).

En Algérie, se soigner avec les plantes médicinales fait partie intégrante de la culture locale (**Nouara et al., 2016**), elle est la plus importante et parfois la seule source de traitement chez près de 50% des patients. Les populations autochtones ont des connaissances acquises par l'expérience au fil des générations vis-à-vis l'utilisation des plantes médicinales (**Nouara et al., 2016**).

En raison de ses circonstances géographiquement et climatiquement diversifiée de l'Algérie, elle est l'un des pays africains les plus riches avec 3164 espèces végétales (**Nouara et al., 2016 ; Vasisht et al., 2004**). Cette énorme diversité végétale encourage la recherche scientifique en Algérie, dans divers domaines tels que : ethnomédecine, pharmacopée traditionnelle et valorisation des substances naturelles.

La famille Zygophyllaceae comprend environ 25 genres et 500 espèces, principalement localisée dans les régions arides comme au Sahara on observe 7 genres et 27 espèces, dont 3 % de la flore désertique de l'Algérie est représenté par la famille Zygophyllaceae (**Ozanda, 1977**). Les plantes appartenant à cette famille ont des feuilles stipulées et très polymorphes. Elles ont des fleurs constituées par 4 à 5 mères, parfois solitaires ou en inflorescences, avec aussi une corolle constituée de 4 à 5 mères. Typiquement, ces plantes contiennent 10 étamines et le fruit est généralement capsulé, chambré ou décomposé, dissocié en coque, parfois en forme de bâtonnet ou en forme de drupe (**Quezel et Santa, 1963**). Plus le tiers des espèces de Zygophyllaceae sahariennes sont endémiques, ce qui en fait le groupe le plus intéressant de toute la flore nord-africaine en termes d'endémisme. (**Ozanda, 1977**).

De nombreuses espèces appartenant à la famille Zygophyllaceae sont utilisées en médecine traditionnelles et possèdent une variété de propriétés biologiques, notamment : antidiabétique (**Kamel, 1998**) anti- rhumatismal (**Kasture, 2014**), anti-tumoral (**Hammiche et Maiza, 2006**), anti-thrombotique, diurétique (**Aghili, 2009 ; Tonkaboni, 2007 ; Ibn Sina, 2005**), antipyrétique (**Goleniowski et al., 2006**), et pour le traitement des maladies rénales, de l'estomac et de la peau (**Hammiche et Maiza, 2006**).

Le genre *Fagonia* contient environ 34 sortes de plantes herbacées, et peuvent atteindre jusqu'à 60 cm de hauteur, avec des tiges glabres, pubescentes ou glanduleuses. Les feuilles sont opposées, simples ou composé de 1,2 ou 3 lobules, rarement jusqu'à 7. Les folioles sont généralement épineuses. Le fruit est une capsule déchirée (**Ourzeddine, 2018**).

L'espèce *Fagonia glutinosa* appartient à la famille des Zygophyllaceae, l'ordre des Sapindales, la sous classe des Rosidae, la classe des Magnoliopsida (**Arthur, 1981**). *F. glutinosa* est une plante vivace, rampante, ramifiée et épineuse. Les tiges atteignent 10 à 15 cm de long. Les feuilles sont trilobées, plus ou moins charnues, mais non incrustées, comme toute la plante, elle est recouverte de poils glandulaires qui maintiennent le sable ensemble. Les stipules sont épineuses, petit et trapu, très court et discret. Les rameaux sont poilus et glanduleux, plus ou moins attachés au sable. Les fleurs sont roses violette dont les sépales vivaces s'ouvrent en forme d'étoile et libèrent de petites capsules (**Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1977**). La plante fleuris d'avril à mai (**Chehma, 2006**). Le fruit est une capsule sphérique à cinq côtés avec de longs poils dressés atteignant 3,5 à 5 millimètres de diamètre. Les graines sont sphériques et gonflées en forme de capsule d'une taille de 0.5 cm. Ils sont pointus et étroits aux extrémités et la couleur varie du vert clair au légèrement plus foncé (**Barry et Celles, 1975 ; Quézel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991**).

Les feuilles de *Fagonia glutinosa* ont un intérêt médical, il peut être utilisé pour traiter des maladies telles que les maladies de la peau, problèmes de bouche, faiblesse et spasmes musculaire chez les bébés (**teklehaymanot, 2017**). Cette plante est très appétissante par les chameaux, surtout en porter des fruits (**kherraze et al, 2014**).

Des études menées sur le genre *Fagonia* ont démontré que l'extrait de feuille a des propriétés antibactériennes, tandis que l'extrait alcoolique de la plante a une activité anti-

inflammatoire et anticancéreuse (**Ourzeddine, 2018**). L'aptitude coagulant de *F. glutinosa* a été démontré par **Kheloufi et Meddah (2020)**.

La plante *F. indica* est également utilisée pour le traitement de la fièvre, la soif, les vomissements, l'asthme, les pertes urinaires, les troubles digestifs, hépatiques et gastriques, les maux de dents, la typhoïde et les maladies de la peau (**Rahman et al., 2017**). La plante *F. arabica* est utilisée pour soigner diverses affections, à savoir les troubles hématologiques, neurologiques, endocrinologiques et inflammatoires. Elle est utilisée aussi comme agent de refroidissement dans la stomatite, pour les maladies de la peau, la variole et pour la réaction endothermique dans le corps, remède contre les morsures de serpent, les tumeurs et pour les gonflements du cou (**Satpute et al., 2012**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ceux-ci sont généralement en faibles concentrations dans les tissus végétaux (**Newman et Cragg, 2012**). Les métabolites secondaires sont biosynthétisés et fonctionnent à partir des métabolites primaires. Un facteur majeur dans l'interaction des plantes avec leur environnement, contribuant ainsi à leur survie (**Peeking et al., 1987**). Plus de 8 500 personnes en 1987 Les métabolites secondaires sont connus. Le groupe le plus important est celui des alcaloïdes, Terpénoïdes, stéroïdes et phénoliques. Ils sont d'une grande valeur économique (notamment pour les industries pharmaceutiques et cosmétiques) (**Peeking et al., 1987**).

Les composés phénoliques : Près de 8 000 composés naturels appartiennent à cette famille, ils ont un point commun le benzène porte au moins un groupe hydroxyle. Sur la base du nombre d'unités phénoliques présentes, ils sont classés comme composés phénoliques. Simple et polyphénolique. Par abus, ils sont appelés indifféremment composés phénoliques ou Les polyphénols comprennent principalement les phénols simples, les acides phénoliques, Stilbènes, flavonoïdes, tanins hydrolysables et condensés, coumarines, lignanes, lignine et xanthonnes (**Stalikas, 2007**).

Les flavonoïdes : Les flavonoïdes tirent leur nom du terme flavedo, signifiant la couche externe de l'écorce orange (**Braz et Mohamed hanchour, 2018**), mais d'autres auteurs considèrent que le terme flavonoïde a Il a plutôt été emprunté à flavus qui veut dire jaune (**Malešev, D. et V. Kuntić 2007**). Près de 4000 flavonoïdes ont été décrites (**Ghedira, 2005**).

Les flavonoïdes sont la classe des métabolites secondaire la plus dominante dans le genre *Fagonia*, les études ont montré la présence de la quercétine 3-rhamnogalactoside dans *Fagonia glutinosa*, une autre étude a montré la présence de la quercétine-3-gentiobioside pour la première fois dans le genre *F. glutinosa*, aussi bien que la quercétine-3-gentiobioside-7-O-glucoside qui a été reportée pour la première fois dans cette espèce. Le kaempférol et ses dérivés O-glycosylés sont également très répandus dans les espèces de *Fagonia*. Les dérivés du kaempférol détecté dans *F. glutinosa* kaempférol-7-O-glucoside et kaempferol-3-gentiobioside-7-O-glucoside. (Al-wakeel, 1992).

Les tanins : les tanins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, Gymnospermes (tanins concentrés) et dicotylédones (tanins hydrolysables). Ces composés ont la capacité de se lier et de précipiter les protéines (Harborne, 1997). Le mot tanin vient de la source du tanin utilisé pour le tannage des peaux d'animaux.

Triterpènes et saponines : c'est l'une des classes de métabolites secondaires les plus caractérisées du *Fagonia*. Plus 40 nouveaux triterpénoides et saponines ont été isolés des espèces de ce genre. La plupart d'entre eux sont des saponines des monodermosides ou bisdesmoside caractérisé par un α -L-arabinopyranosyl en position 3 attaché à des structures de type oléanane, ursane et taraxastane. Les études ont montré un seul nouveau triterpénoides saponine oléanane a été identifié dans *F. glutinosa*, il s'agit de 3-O- [β -Dglucopyranosyl (1 \rightarrow 2)] [β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)] - α -L-arabinopyranosyl-acide 27-hydroxy oléanolique-28-O- β -D-glucopyranosyl ester (Melek *et al.*, 2000). Les études sur ce genre ont également montré la présence des saponines de type ursane, ils s'agit de ursolique 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl, 3-O- α -L arabinopyranosyl ursolique-28-O- β -D-glucopyranosyl ester, ursolique 3-O- β -D xylopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl et 3-O- $[\beta$ -D glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)][β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl ursolique-28-O- β -D glucopyranosyl ester, l'acide 3-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)] [β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- α -L-arabinopyranosyl -27-hydroxyursolique 28-O- β -D glucopyranosyl ester (Melek *et al.*, 2000).

Les espèces de la famille des Zygothylaceae et du genre *Fagonia* dévoilent une abondance de ces derniers en divers métabolites secondaires, en plus de leur large variété d'activités

biologiques ainsi que l'endémisme et la distribution limitée à la zone désertique, tout cela nous a incitées à sélectionner une espèce appartenant au genre *Fagonia*.

Notre but est de mener une étude phytochimique sur l'espèce *Fagonia glutinosa* en quantifiant la teneur de quelques métabolites secondaires dans un premier lieu puis d'essayer de séparer un ou plusieurs familles de composés biochimiques en utilisant les techniques chromatographiques. La deuxième partie de notre travail est de valoriser la plante par la voie des activités biologiques à savoir l'activité antioxydante et antibactérienne.

Matériels

et

Méthodes

II. Matériels et méthodes

Notre travail a porté sur l'étude phytochimique des parties aériennes (feuilles, tiges, fleurs, fruits) de l'espèce *Fagonia glutinosa*, ainsi que l'évaluation de l'activité biologiques. Cette étude a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche et laboratoire de microbiologie de la faculté de science de la nature et de la vie, Université de Ghardaïa.

II.1. Matériels

II.1.1. La matière végétale

La matière végétale de notre étude a été récoltée en Mars 2022 dans la région de Noumerate (20 km de Ghardaïa). L'identification de la plante a été effectuée par M. Youcef BENSEMAOUNE, enseignant au département de Biologie, Université de Ghardaïa. Après le séchage dans un endroit sec et aéré à l'abri de lumière, la partie supérieure (les tiges, les feuilles, les fruits et les fleurs) a été coupée à des petits morceaux et pesés (250 g).



Figure 1 : Figure représentative de la plante *Fagonia glutinosa*.

II.1.2. Produits chimiques

L'ensemble de produits utilisés au cours de la réalisation de l'étude est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Liste de produits chimiques utilisé pendant la manipulation

Les solvants	Les réactifs	Les souches bactériennes
Éther de pétrole, Méthanol	Foulin-ciocalteu, Acide	<i>Escherichia coli</i>
Eau distillée, Chloroforme	gallique, Carbonate de sodium,	<i>Staphylococcus aureus</i>
Acétate d'éthyle, n-Butanol	Chlorure d'aluminium (AlCl ₃)	
Éthanol	Quercétine, Vanilline, HCl,	
	Catéchine, K ₃ Fe,	
	Trichloracétique (TCA), FeCl ₃	

II.2. Méthodes

II.2.1. Criblage phytochimique

C'est l'ensemble des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques dans une plante par des réactions chimiques.

Une quantité de 5 g de la plante séchée et broyée a été introduire dans 100 ml de l'eau distillée bouillante pendant 30 minute, la solution obtenue a été filtré.

Test des tanins : ce test consiste à ajouter 5 ml de l'infusé, additionner 1 ml de FeCl₃ (1%). La réaction donne un couleur vert foncé en présence des tanins. **(Bentab et Lasгаа, 2015)**.

Test des flavonoïdes : on ajoute 5 ml de l'infusé avec quelques gouttes de HCl et 3 à 4 copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est indiquée par l'apparition de la couleur rouge orangé **(Bruneton, 1999)**.

Test des alcaloïdes : avant 24h ; on prépare une macération de 10 g de la plante dans 50 ml d'acide sulfurique dilué 10 fois. 5 gouttes de réactif Dragendorff a été ajouté au filtrat obtenu. L'apparition d'une précipitation orange indique la présence des alcaloïdes. **(Azzi, 2013)**.

Test de l'huile essentielle : 0,5 g de plante a été introduit dans 5 ml de chloroforme puis l'extrait a été évaporé à sec. Le résidu a été ensuite dissous dans 1,5 ml d'éthanol puis la solution a été évaporée à sec. La sensation d'une odeur parfumée indique la présence d'huiles essentielles. (**Ilboudo et al., 2009**).

Test des composés réducteurs : 2 ml de l'infusé a été ajouté à 2 ml de liqueur de Fehling dans un bain marie durant 8 minute. La formation de précipitation rouge brique indique la présence des sucres réducteurs. (**Bentabet Lasгаа, 2015**).

Test des terpènes : 0,5 g de plante a été introduit dans 2 ml de chloroforme. Le filtrat a été ajouté à 3 ml d'acide sulfurique. La formation d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert a indiqué la présence des terpènes.

Test des phénols : quelques gouttes de FeCl_3 (5%) ont été ajoutées à 2 ml de l'extrait alcoolique de la plante. L'apparition d'un couleur vert foncé indique la présence des phénols.

Test des saponines : 2 ml de l'infusé et un peu d'eau ont été agité pendant 15 secondes dans un tube à essai. Après 15 min de repos l'apparition d'une mousse indique la présence des saponines.

II.2.2. Préparation des extraits

La matière végétale préparée a été trempée dans des différents solvants pour l'extraction des principes actifs en utilisant 250 g de l'échantillon. Cette extraction solide-liquide a été effectuée par macération à froid ; une fois dans l'éther de pétrole puis deux fois dans un mélange hydroalcoolique (méthanol /eau distillée ; 8/2 ; V/V) avec un renouvellement de solvant chaque 24 heures. Le macérât obtenus a été filtré à l'aide du papier Wattman puis il a été concentré en utilisant un évaporateur rotatif.

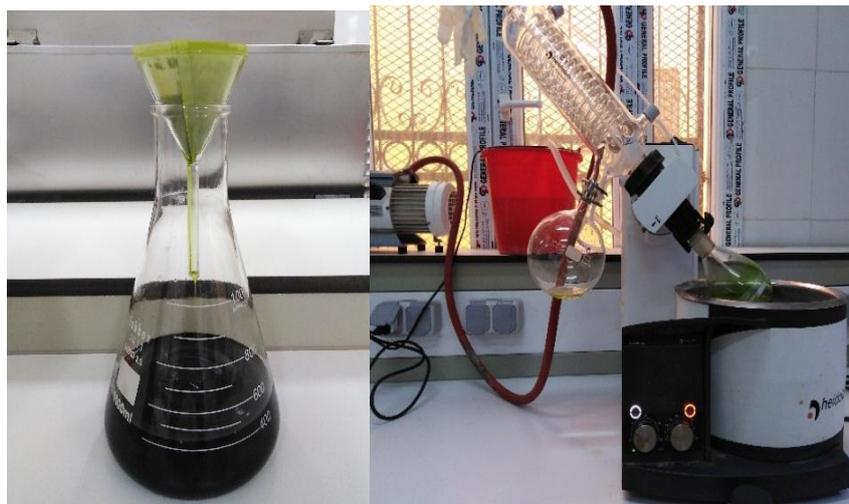


Figure 2 : Filtration et concentration de l'extrait.

L'extrait brut obtenu a subi une extraction liquide-liquide par des solvants de polarité croissante, premièrement par le chloroforme puis par l'acétate d'éthyle et dernièrement par le n-butanol. Chaque phase organique obtenue a été concentrée à sec par l'évaporateur rotatif, puis pesé et dissoute dans un volume de méthanol. Les extraits obtenus sont : l'extrait de chloroforme, l'extrait d'acétate d'éthyle, l'extrait de butanol et l'extrait aqueux résiduel.

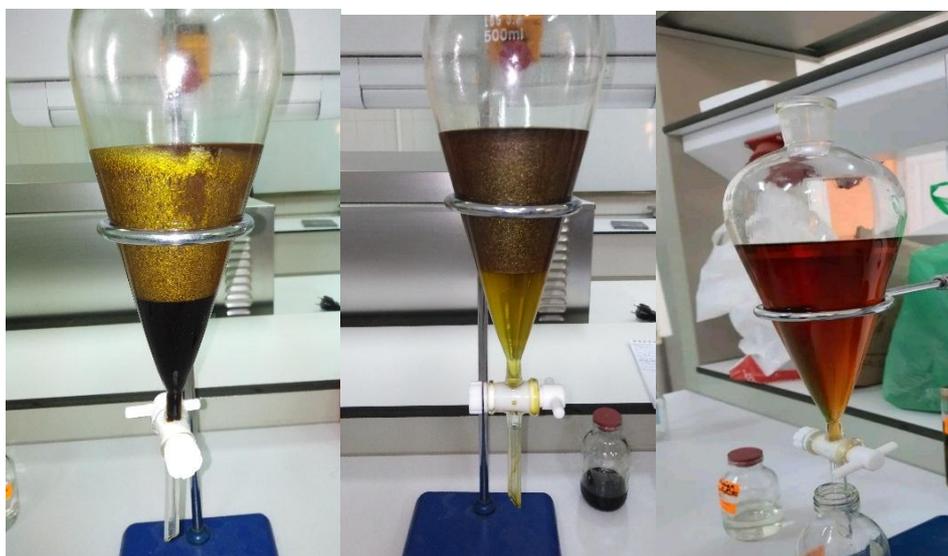


Figure 3 : Extraction liquide-liquide par les différents solvants.

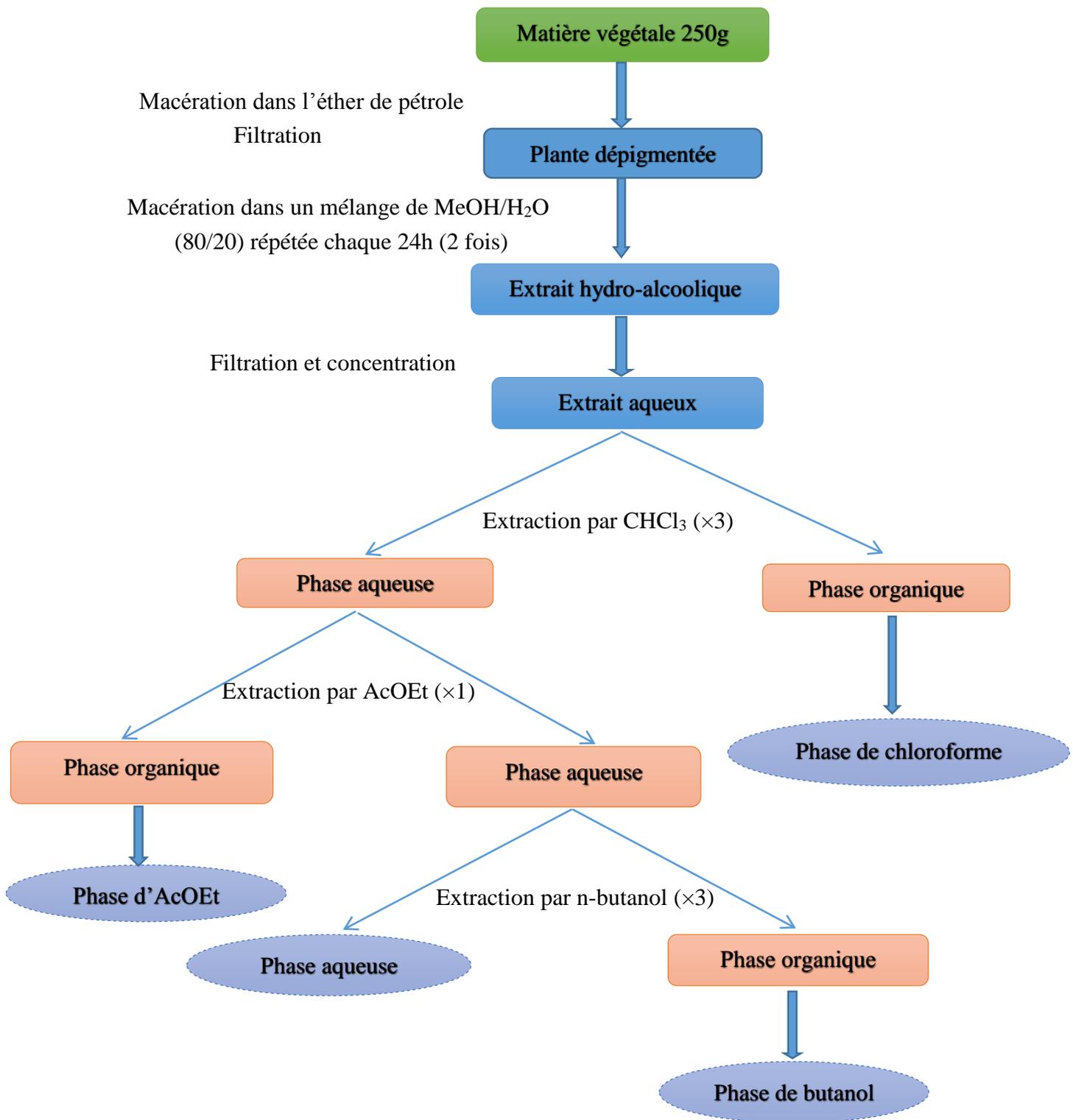


Figure 4 : Protocole générale de la préparation des extraits.

II.2.3. Analyse quantitative

La quantification des métabolites secondaires a été effectuée par la technique spectrophotométrique, cette méthode consiste à mesurer l'absorbance d'une substance chimique donnée en solution pour déterminer la concentration de l'espèce coloré.

II.2.3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage a été réalisé selon la méthode de Singleton et Rossi, par l'utilisation de foulincicalteu (**Chang *et al.*, 2001**). 0,5 ml de foulincicalteu (dilué 10 fois) a été ajouté à 0,1 ml de l'extrait, laissé 5 min. 2 ml d'une solution de carbonate de sodium 20% a été ajoutée au milieu réactionnel. Le mélange a été agité et incubé pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance des solutions a été mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 760$ nm. Une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique comme un étalon.

II.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage a été réalisé par l'utilisation de la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (**Wang *et al.*, 2008**). 0,5 ml d'une solution méthanoïque d' AlCl_3 2% a été ajoutée à 0,5 ml de l'extrait. Le mélange a été agité et incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance a été mesuré à une longueur d'onde $\lambda = 415$ nm. Une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant le quercétine comme un étalon.

II.2.3.3. Dosage des tanins

Le dosage a été réalisé en utilisant la vanilline en milieu acide. 1,5 ml de solution de vanilline 2% (préparé dans l'éthanol) et 0,75 ml de HCl a été ajoutée à 0,2 ml de l'extrait. Le mélange est laissé pendant 15 min à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance a été mesuré à 500 nm. Une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant la catéchine comme un étalon (**Mariem *et al.*, 2014**).

II.2.4. Activité biologique

II.2.4.1. Le pouvoir anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire a été mesurée par la méthode qui utilise le DPPH comme radical libre. La réaction est basée sur la réduction de diphényl picryl-hydrazyl (DPPH) qui caractérise par une couleur violette, à la forme non radicalaire DPPH-H de couleur jaune (Rahmani, 2015).

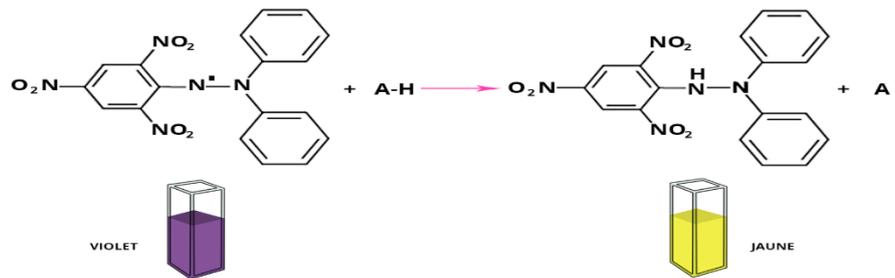


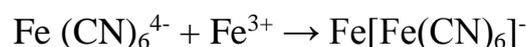
Figure 5 : La réaction de test DPPH

On prépare une série de dilution pour chaque extrait méthanolique. 1 ml de solution de DPPH 0,250 mmol/l (préparé dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de l'extrait. Le mélange a été placé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. La lecture spectrophotométrique est réalisée à 517 nm. Le contrôle négatif de la réaction consiste à 1 ml de méthanol et 1 ml de solution de DPPH. L'acide ascorbique est utilisé comme un antioxydant standard (Hsu et Coupar, 2006). Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition\%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

II.2.4.2. Le pouvoir réducteur de fer

La capacité de réduction de fer a été déterminée par la méthode qui découverte par Oyaizu en 1986. Ce test est basé sur la réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) qui est présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{2+}) de couleur bleu vert. Les réactions de ce test sont (Rahmani, 2015) :



Une série de dilution de chaque extrait est préparée. 1 ml de l'extrait a été mélangé avec 2,5 ml de solution de $K_3Fe(CN)_6$ (1%) et 2,5 ml de solution tampon phosphaté (PH=6,6). Les mélanges ont été agités puis placés dans un bain-marie pendant 30 min à température de 50 °C. Puis, on ajoute 2,5 ml acide Trichloracétique (TCA 10%) et 2,5 ml eau distillée et 0,5 ml de solution de $FeCl_3$ (0,1%) (Sagbo et al., 2017). L'absorbance a été mesuré à 700 nm. L'acide ascorbique a été réalisé comme un standard dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits.

II.2.4.3. L'activité antioxydante totale

Le pouvoir antioxydant total (TAC) est évalué selon la méthode de phosphomolybdate. Cette technique est basée sur la réduction de l'ion de molybdate MoO_4^{2-} à molybdène sous forme de MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ MoO^{2+} à un PH acide.

Une série de dilution pour chaque extrait est préparée. 0,1 ml de chaque dilution a été mélangé avec 1 ml d'une préparation réactionnelle constituée de : 0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium. Les solutions ont été incubées dans un bain-marie à température de 95 °C pendant 90 min. l'absorbance a été lu à 695 nm. L'acide ascorbique a été réalisé dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits (Falleh et al., 2012).

II.2.4.4. L'activité antibactérienne

Le nombre des souches bactériennes testées lors de notre étude est de 2 souches qui sont fournies par M^{elle} DJEMOUAI N. Quelques caractéristiques générales de ces bactéries sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Caractéristiques générales des souches bactériennes testées.

Nom de la souche	Référence	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	Positif	<i>Micrococcaceae</i>

II.2.4.4.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur milieu gélosé non sélectif. Quelques colonies bien isolées ont été pris avec une anse de platine. Ces colonies sont ajoutées dans un tube de solution d'eau physiologique stérile (0,9%). La suspension bactérienne est homogénéisée avec un vortex afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de 0,5 Mcfarland.

II.2.4.4.2. Préparation des boîtes de Pétri

Dans un milieu de culture Mueller Hinton (MH) préparé, 0,3 ml de la suspension bactérienne (0,5 Mcfarland) a été ajoutée dans 150 ml de MH liquide, puis on a homogénéisé et coulé le mélange dans des boîtes de pétri à raison de 25 ml par boîte.

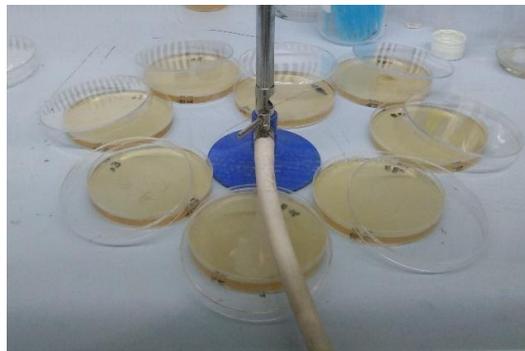


Figure 6 : Préparation des boîtes de Pétri.

II.2.4.4.3. Dépôt des disques

Des disques de papier Wattman stérile sont imprégnés par 10 μ l des solutions des extraits dissous dans diméthylsulfoxyde (DMSO). À l'aide d'une pince stérile, les disques sont déposés à la surface de milieu contenant la suspension bactérienne.



Figure 7 : Application des disques.

La même méthode de dépôt des disques a été réalisée pour nos cinq extraits (extrait de chloroforme, d'acétate d'éthyle, de butanol, éther de pétrole et extrait brut) dans les deux souches bactériennes. Après l'application des disques, les boîtes sont incubées pendant 18 à 24 h à 37 °C (Shakeri *et al.*, 2012). Des disques imprégnés de DMSO ont été utilisés comme contrôle négatif et l'antibiotique gentamicine comme un contrôle positif de l'activité.

II.2.5. Analyse chromatographique

Les extraits obtenus ainsi que l'extrait de l'éther de pétrole ont été analysés sur des plaques de chromatographie sur couche mince (CCM). Le développement des plaques a été réalisé dans les systèmes de solvants illustrés dans le tableau suivants :

Tableau 3 : Système d'éluion des extraits.

Les extraits	Système d'éluion (ml)	
	Chloroforme	méthanol
Extrait de chloroforme	7	1
Extrait d'acétate d'éthyle	5	1
Extrait de n-butanol	3	1
	Éther de pétrole	acétate d'éthyle
Extrait d'éther de pétrole	5	1

Les plaques sont examinées sous lampe UV (365 nm), puis révélées par un révélateur chimique et chauffées quelques minutes à 100 °C.

Ensuite, on a essayé de réaliser une séparation primaire de l'extrait butanolique sur colonne chromatographique en utilisant le gel de silice comme une phase stationnaire et un système d'éluion (dichlorométhane/méthanol) en mode gradient.



Figure 8 : Chromatographie sur colonne de l'extrait butanolique.

Cette séparation est suivie par une chromatographie sur couche mince (CCM) pour chaque fraction après l'évaporation des solvants à l'air libre.

Résultats

et

Discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique sont illustrés à la figure 09 et sont présentés dans le tableau 04 :

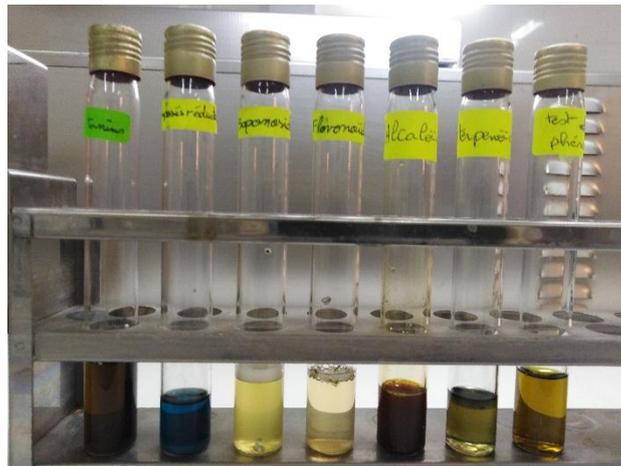


Figure 9 : Les résultats de criblage phytochimique.

Disposé de droite à gauche : test des détections des polyphénols, tes des détections des terpénoïdes, test des détections des alcaloïdes, test des détections flavonoïdes, test des détections des saponosides, test des détections de composés réducteurs, test des détections des tanins.

Tableau 4 : Résultats du criblage phytochimique.

Métabolites secondaire	Résultats
Polyphénols	+
Terpenoïdes	+
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Saponosides	+
Composés réducteurs	-
Tanins	+
Huiles essentiels	-

III.1.2. Rendement

Les rendements d'extraction sont triés comme suit :

Tableau 5 : Rendements des extraits de *Fagonia glutinosa*.

Extrait	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Butanol	Aqueux	Brut
Poids (g)	1,67	0,4	7,91	11,5	30,98
Rendement (%)	0,67	0,16	3,16	4,6	13,4

Nous avons observé à partir des résultats du tableau 05 que le meilleur rendement d'extraction est enregistré au niveau de l'extrait de butanol, puis l'extrait aqueux, et après extrait chloroforme, et enfin de l'extrait d'acétate d'éthyle.

III.1.3. Dosage de polyphénols

Les phénols totaux ont été déterminés selon la méthode de **Chang *et al.* (2001)**. Une série de dilution a été préparée de 0,03 à 0,3 mg/ml de l'acide gallique pour tracer la courbe d'étalonnage, cette dernière est illustrée à la figure 10 :

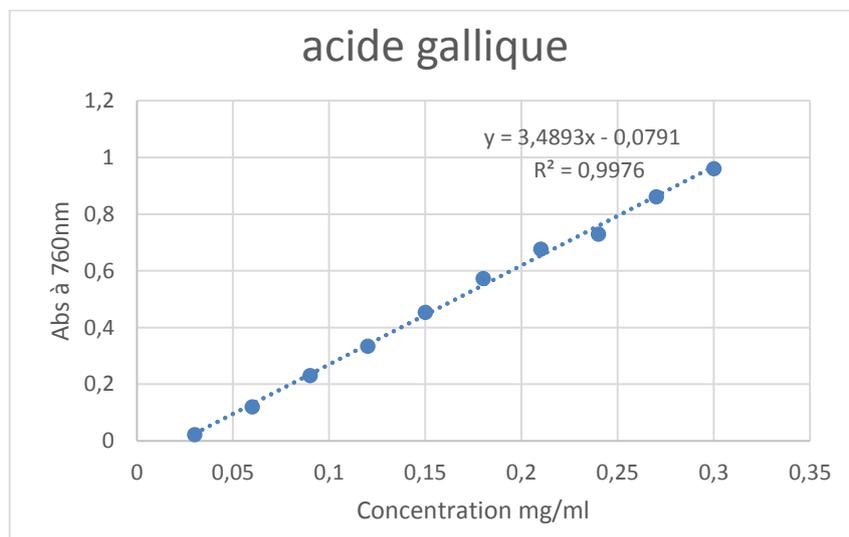


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Nous avons suivi le même protocole pour mesurer l'absorbance des extraits en remplaçant l'acide gallique par nos cinq extraits. Pour calculer la teneur en polyphénols totaux, nous utilisons l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique dessinée. La corrélation linéaire obtenue est de $R^2 = 0,9976$ et la formule mathématique utilisée pour quantifier le contenu en phénols totaux est la suivante :

$$\text{Teneur en phénols totaux} = \frac{\text{absorbance} \times \text{nombre de dilution} \times \text{volume de l'extrait}}{\text{pente de la courbe d'étalonnage} \times \text{masse de l'extrait}}$$

La quantité de phénols totaux dans l'extrait est exprimée en équivalent milligrammes d'acide gallique pour 1 g d'extrait sec (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Quantité des phénols totaux dans différents extraits de *Fagonia glutinosa* en (Mg EAG/g extrait).

Extrait	Moyenne ± erreur
Extrait chloroforme	63,141 ± 15,959
Extrait acétate d'éthyle	72,290 ± 10,082
Extrait n-butanol	37,233 ± 7,548
Extrait brut	5,040 ± 1,766
Extrait aqueux résiduel	17,499 ± 2,859

En comparant les résultats de la teneur en polyphénols des extraits (Tableau 6) on constate que l'extrait d'acétate d'éthyle est le plus riche en phénols totaux suivie par le chloroforme puis le butanol et en dernière place l'extrait aqueux résiduel.

III.1.4. Dosage de flavonoïde

Le dosage des flavonoïdes a été déterminé selon la méthode de **Wang et al. (2008)**. Une série de dilution de la quercétine a été préparée de 0.03 à 0.3 g/l. La courbe d'étalonnage obtenue est illustrée à la Figure 11.

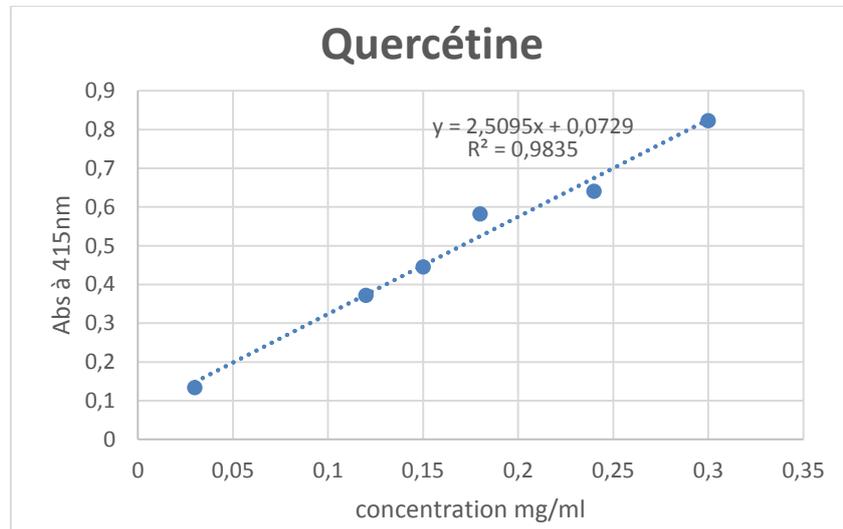


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

La teneur en flavonoïdes a été mesurée en remplaçant la quercétine par nos quatre extraits. On utilise l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercétine avec une corrélation linéaire $R^2 = 0,9835$. Les résultats sont exprimés en équivalent quercétine en milligramme par 1 g de l'extrait sec (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Dosage des flavonoïdes des différents extraits de *Fagonia glutinosa*.

Extrait	Moyenne \pm erreur
Extrait chloroforme	130,124 \pm 9,016
Extrait acétate d'éthyle	59,299 \pm 3,391
Extrait n- butanol	34,257 \pm 2,820
Extrait brut	27,691 \pm 0,696
Extrait aqueux résiduel	19,318 \pm 2,201

En observant la teneur en flavonoïdes dans les différents extraits (Tableau 7) on constate que l'extrait chloroformique est le plus riche en flavonoïdes suivie par l'acétate d'éthyle puis celui du butanol et en dernière position l'extrait aqueux résiduel.

III.1.5. Dosage des tanins

La teneur en tanin des extraits a été estimée en utilisant la méthode de la vanilline en milieu acide, une série de dilutions de catéchine de 0,02 à 0,2 g/l a été préparée. La courbe standard de la catéchine est représentée dans la figure 12 :

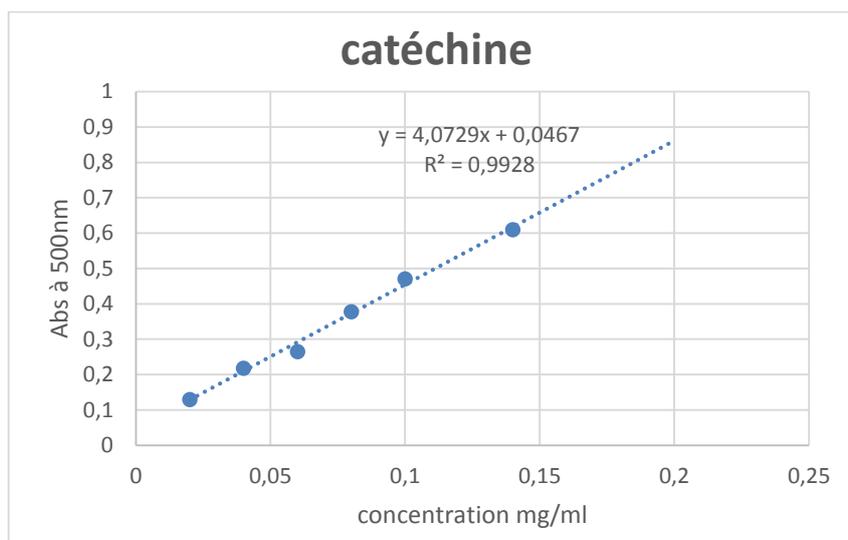


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

La teneur en tanin des extraits a été estimée en utilisant la même procédure qui a été utilisée pour établir la courbe d'étalonnage, avec le remplacement de la catéchine par une dilution de l'extrait. La teneur en tanin de chaque extrait a été calculée et exprimée en équivalent catéchine en milligramme pour 1 g d'extrait sec (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Dosage des tanins des différents extraits de *Fagonia glutinosa*.

Les extraits	Moyenne ± erreur
Extrait chloroforme	11,310 ± 2,482
Extrait acétate d'éthyle	6,004 ± 0,343
Extrait n-butanol	2,905 ± 0,851
Extrait brut	0,660 ± 0,098
Extrait aqueux résiduel	1,010 ± 0,064

D'après les résultats du tableau 8, on remarque que l'extrait chloroformique a le contenu le plus important en tanins suivie de l'acétate d'éthyle puis le butanol et dernièrement la phase aqueuse résiduelle.

III.1.6. Activité anti-radicalaire

L'activité inhibitrice des radicaux libres a été estimée par le radical stable DPPH en mesurant l'absorbance de chaque série de dilution (Figure 13) pour chaque extrait versus un contrôle.

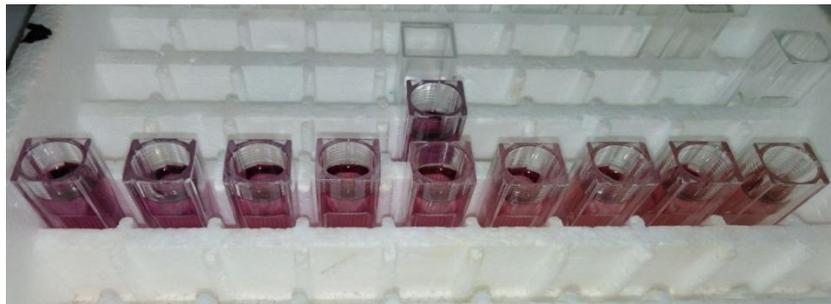


Figure 13 : Test DPPH de l'acide ascorbique.

Les valeurs d'absorbance enregistrées nous permettent de calculer le pourcentage d'inhibition pour chaque extraire en utilisant la formule mathématique suivante :

$$I\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

Où :

A_0 : est l'absorbance du control

A : est l'absorbance de l'échantillon

Les résultats obtenus nous permettent de tracer les courbes des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations pour chaque extrait, comme le montrent les figures 14 -19 :

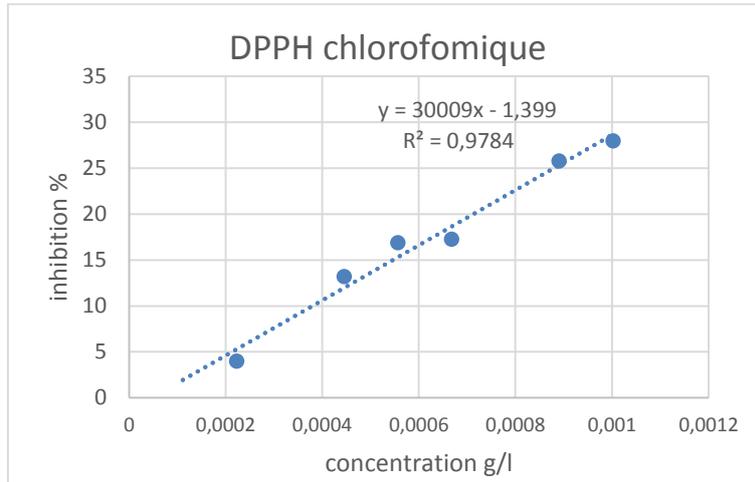


Figure 14 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait chloroforme.

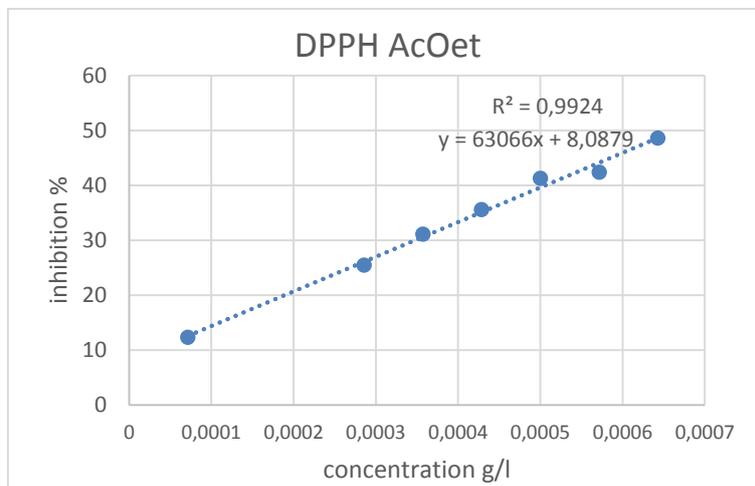


Figure 15 : courbe d'inhibition du DPPH par extrait acétate d'éthyle.

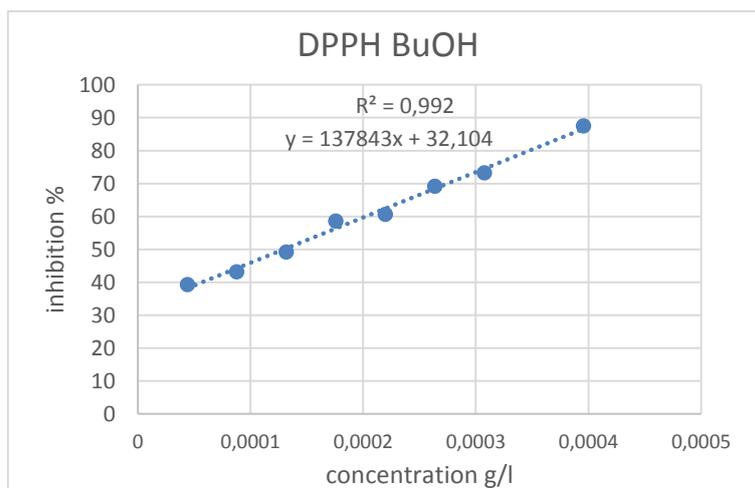


Figure 16 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait butanol.

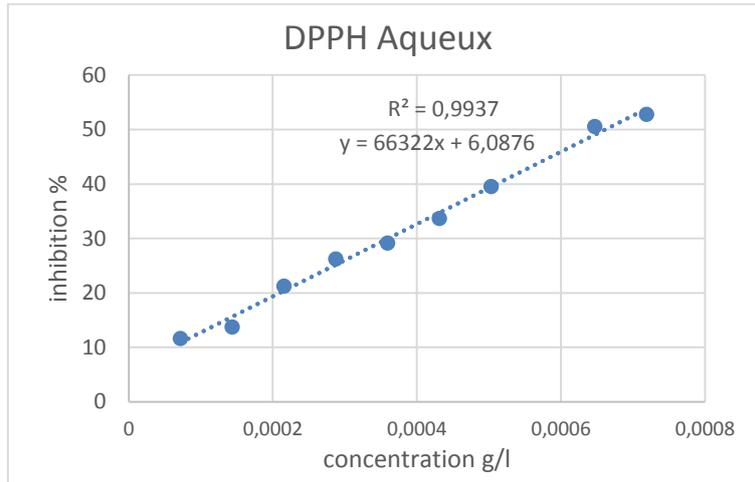


Figure 17 : Courbe d'inhibition du DPPH par extrait aqueux.

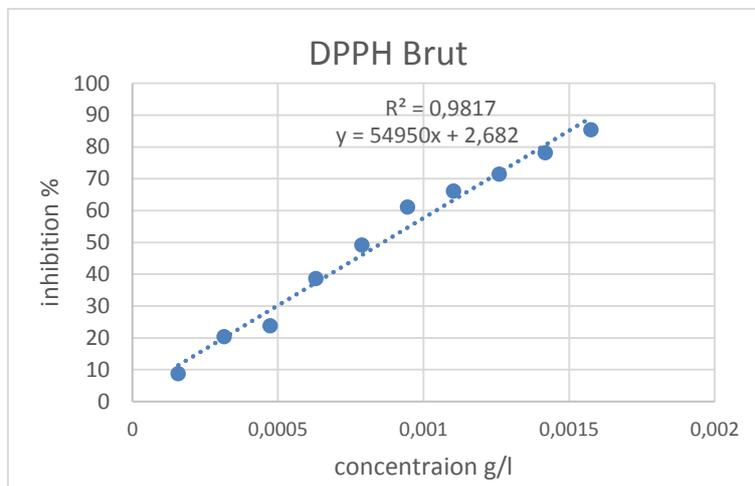


Figure 18 : Courbe d'inhibition du DPPH par l'extrait brut.

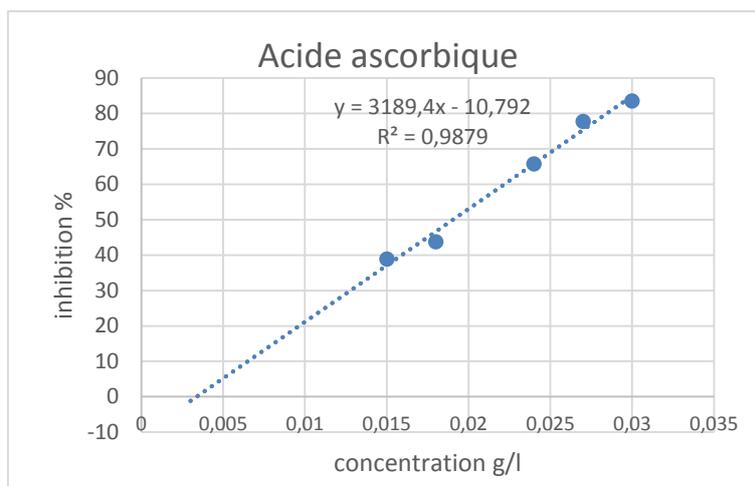


Figure 19 : Courbe d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.

A partir de ces courbes, nous avons pu déduire l'équation mathématique pour chaque extrait, cette dernière s'écrit : $I\% = k C$

Afin de pouvoir comparer les activités des extraits, nous avons calculé la valeur IC_{50} , qui est la concentration inhibitrice de neutralisation de 50 % des radicaux libres, en utilisant la formule suivante : $50\% = k IC_{50}$

Les valeurs IC_{50} de nos extraits et normes de vitamine C sont résumées dans Tableau 9 :

Tableau 9 : IC_{50} des différents extraits de *Fagonia glutinosa*.

Extrait	IC_{50} g/l
Extrait chloroforme	0,0017
Extrait acétate d'éthyle	0,0007
Extrait n-butanol	0,0001
Extrait aqueux résiduel	0,0007
Extrait brut	0,0008
Acide ascorbique	0,02

D'après les résultats du tableau 9, Nous constatons que tous nos extraits ont enregistré une activité plus importante que le standard acide ascorbique. On remarque que l'extrait butanolique est le plus actif suivie par l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux résiduel, puis l'extrait brut et finalement l'extrait chloroformique. On observe que l'extrait butanolique est sept fois plus actif que l'extrait d'acétate d'éthyle ainsi que l'extrait aqueux résiduel, huit fois plus actif que l'extrait brut et dix-sept fois plus actif que l'extrait chloroformique. On rappelle qu'il y a une relation inverse entre la valeur de IC_{50} et l'activité antioxydante, plus la valeur de IC_{50} est petite plus l'activité est importante.

III.1.7. Activité de réduction de fer

La capacité de nos extraits de réduire le fer a été estimée en mesurant l'absorbance de chaque série de dilution pour chaque extrait.



Figure 20 : Photo de l'activité réductrice de fer pour l'acide ascorbique.

Les absorbances enregistrées sont ensuite tracées sous forme de courbes d'absorbance en fonction de la concentration, comme le montrent les figures 21 – 26.

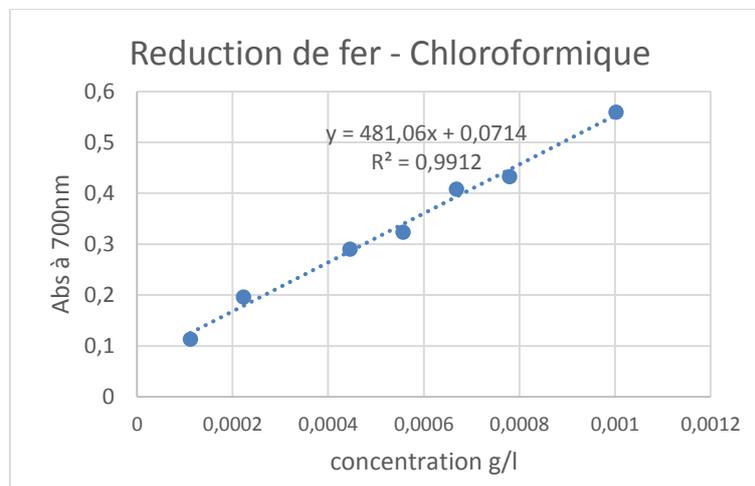


Figure 21 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour l'extrait chloroformique.

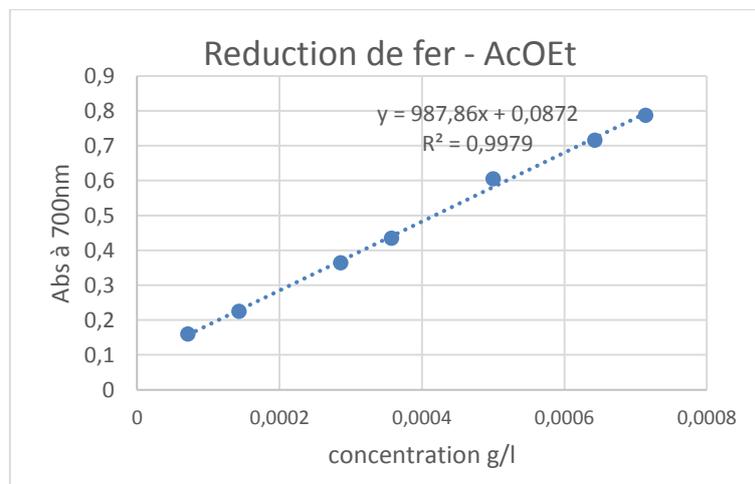


Figure 22 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour extrait acétate d'éthyle.

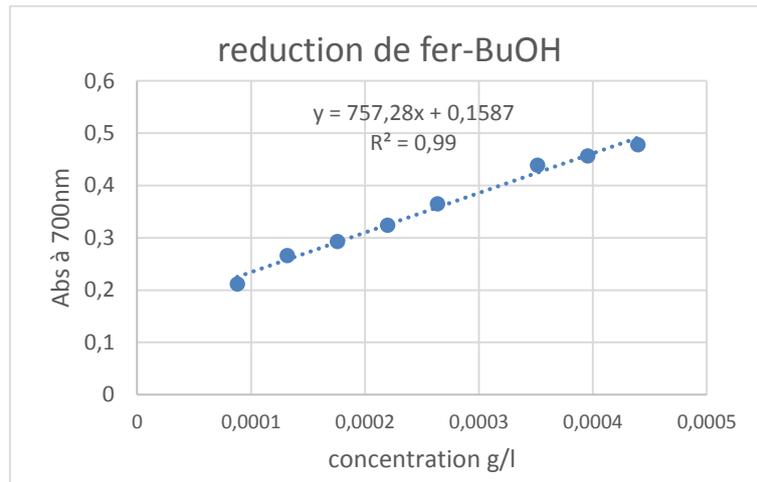


Figure 23 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour extrait butanol.

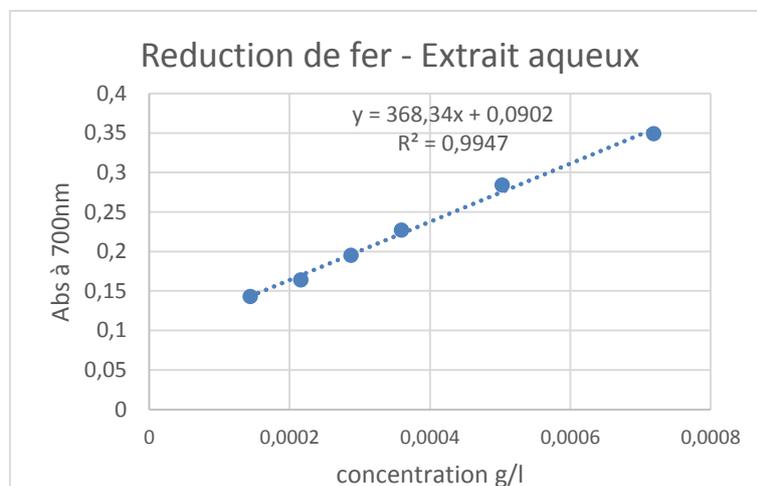


Figure 24 : Courbe de l'activité réductrice du fer pour extrait aqueux.

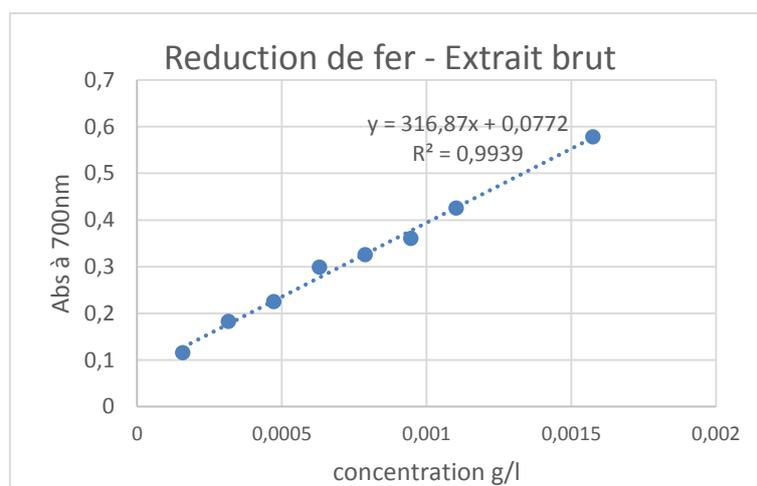


Figure 25 : Courbe de l'activité réductrice de fer pour l'extrait brut.

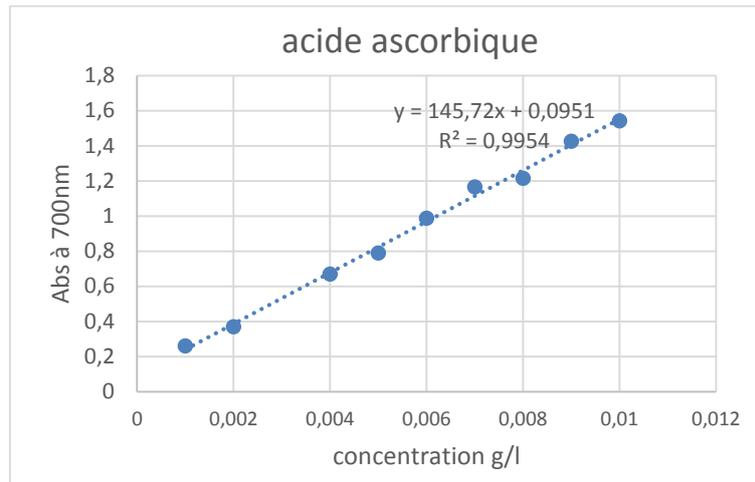


Figure 26 : Courbe standard de l'activité réductrice du fer pour l'acide ascorbique.

Afin de comparer nos résultats, nous avons choisi de calculer les valeurs IC₅₀ en admettant que IC₅₀ est la concentration responsable d'une absorbance égale à A=0.500. Les valeurs calculées des quatre extraits et le standard vitamine C sont indiquées dans le tableau 10 :

Tableau 10 : Résultats de l'activité réductrice du fer des différents extraits de *Fagonia glutinosa*.

Extrait	IC ₅₀ g/l
Extrait chloroforme	0,0008
Extrait acétate d'éthyle	0,0004
Extrait n-butanol	0,0004
Extrait aqueux résiduel	0,001
Extrait brut	0,001
Acide ascorbique	0,027

Selon les résultats résumés dans le tableau 10, on observe que tous les extraits ont démontré une très bonne activité antioxydante meilleure que le standard acide ascorbique. L'activité des deux extraits butanolique et acétate d'éthyle est similaire, et elle est deux fois plus active que l'extrait chloroformique. Les deux extraits butanolique et d'acétate d'éthyle sont 67 fois plus actifs que l'antioxydant naturel la vitamine C.

III.1.8. Activité anti oxydante totale

Le pouvoir antioxydant total a été estimé en traçant les courbes d'absorption en fonction de la concentration pour chaque extrait, comme le montrent les figures 27-32 :

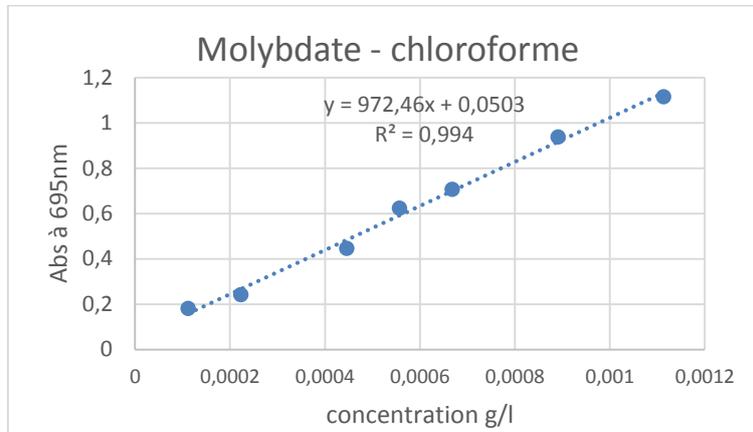


Figure 27 : Courbe de l'activité antioxydante totale pour l'extrait de chloroforme.

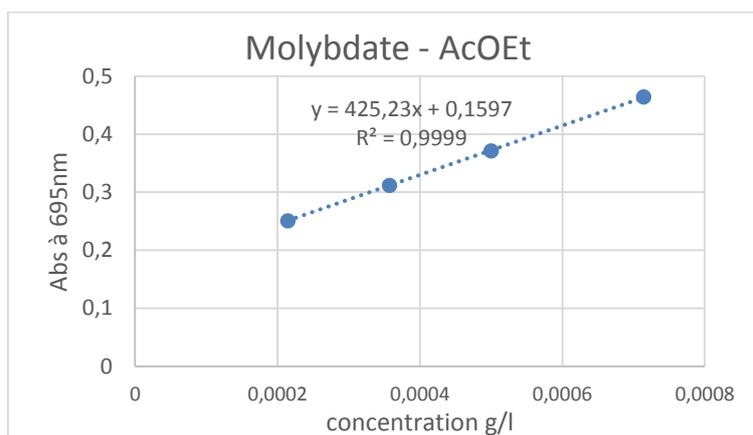


Figure 28 : Courbe de l'activité antioxydante totale pour l'extrait d'acétate d'éthyle.

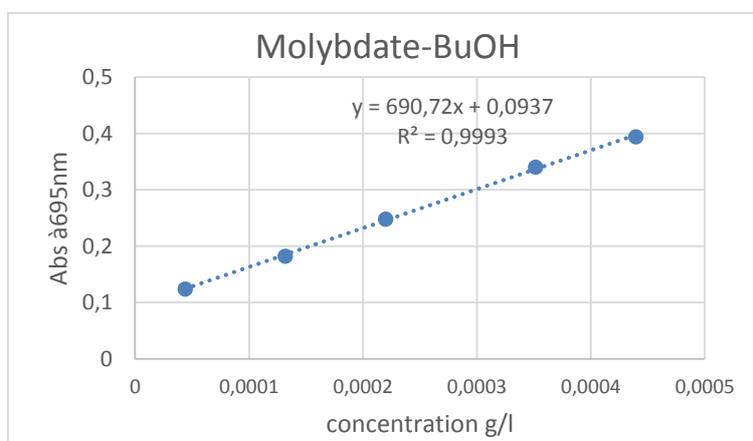


Figure 29 : Courbe de l'activité antioxydante totale pour l'extrait de butanol.

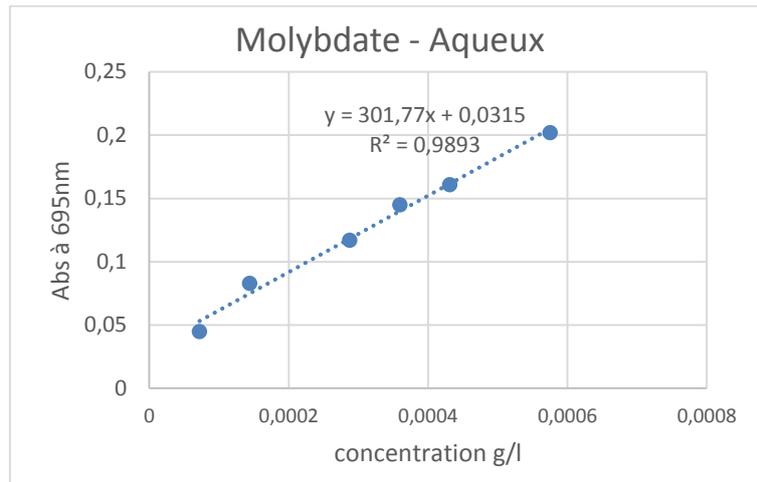


Figure 30 : Courbe de l'activité antioxydant totale pour l'extrait aqueux résiduel.

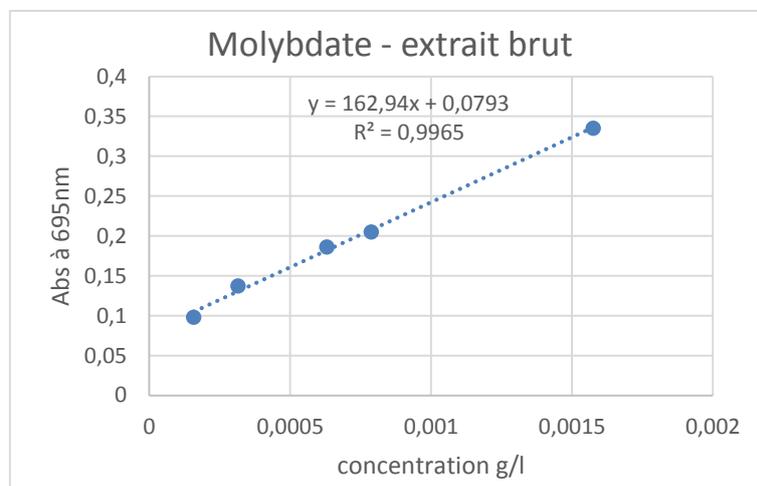


Figure 31 : Courbe de l'activité antioxydante totale pour l'extrait brut.

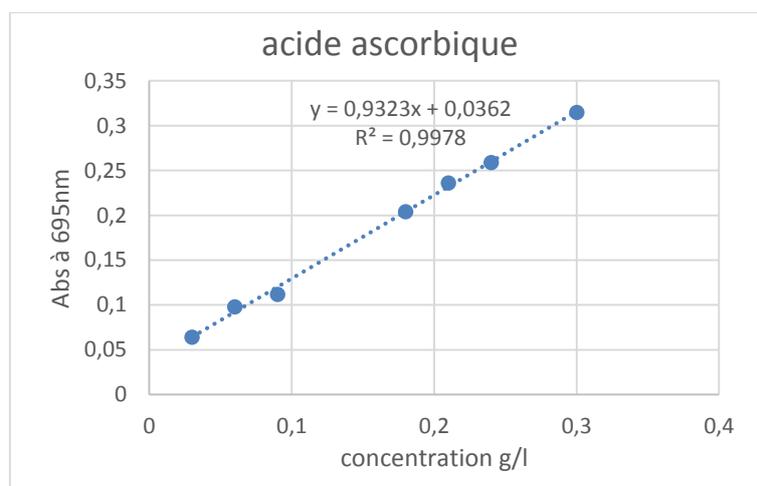


Figure 32 : Courbe standard de l'activité antioxydante totale pour l'acide ascorbique.

Nous avons choisi de calculer les valeurs IC_{50} en admettant que IC_{50} est la concentration responsable d'une absorbance égale à $A=0.500$. Les valeurs IC_{50} pour les quatre extraits et le standard vitamine C sont indiquées dans le tableau 11 :

Tableau 11 : Résultats de l'activité antioxydante totale des différents extraits de *Fagonia glutinosa*.

Extrait	IC_{50} g/l
Extrait de chloroforme	0,0004
Extrait d'acétate d'éthyle	0,008
Extrait de n-butanol	0,0005
Extrait aqueux résiduel	0,001
Extrait brut	0,002
Acide ascorbique	0,497

D'après les résultats du tableau 11, On constate que tous les extraits ont démontré une activité remarquable et bien plus importante que le standard acide ascorbique. On remarque que l'extrait chloroformique et l'extrait butanolique ont une activité similaire et très importante par rapport aux autres extraits. On observe aussi que l'extrait chloroformique est mille fois plus actif que l'antioxydant naturel vitamine C.

III.1.9. Activité biologique

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des deux souches bactériennes (Gram positif et négatif) sont illustrés dans les Figure 33 et 34 :

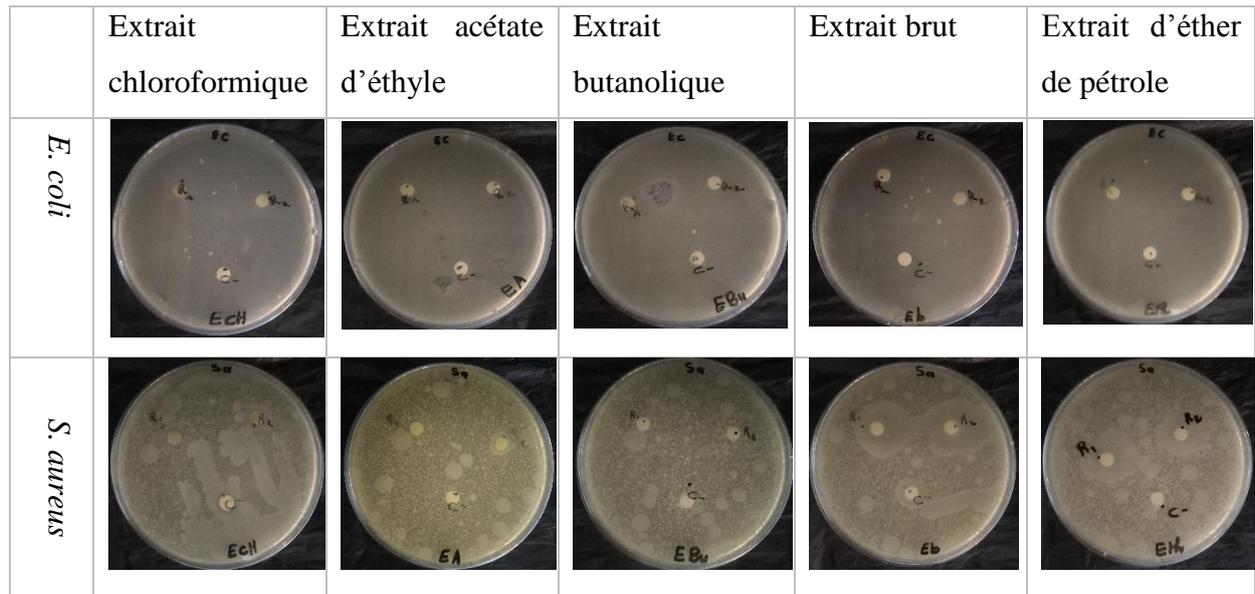


Figure 33 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (C=25 mg/ml).

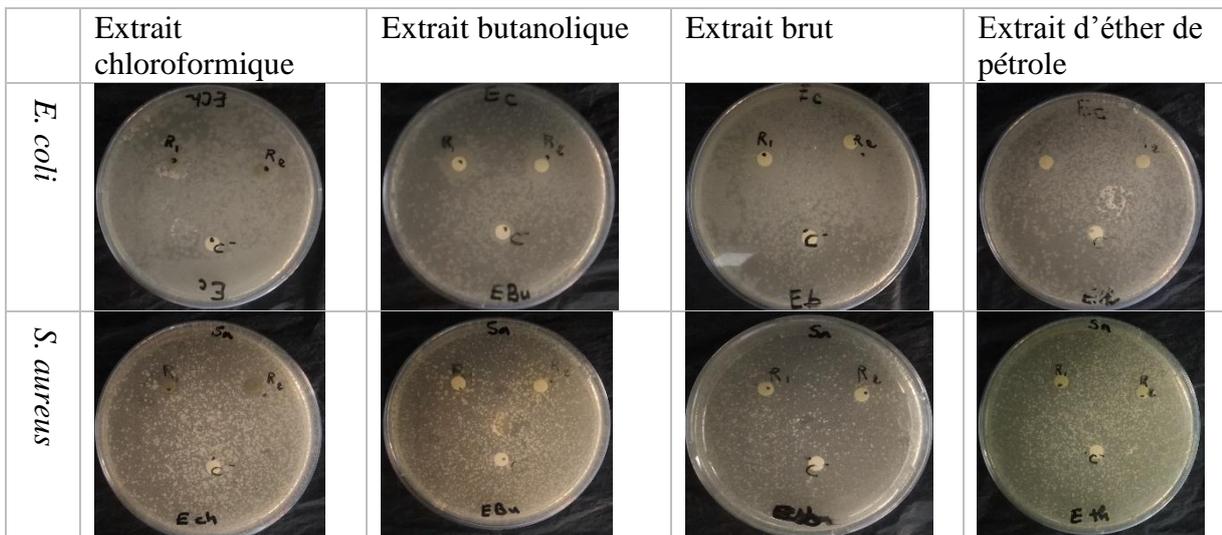


Figure 34 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits (C=200 mg/ml).

La mesure des diamètres d'inhibition des différents extraits testés contre les deux souches bactériennes est résumée dans les tableaux 12 et 13 :

Tableau 12 : Résultats de l'activité des extraits contre *Escherichia coli*.

Extrait	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Butanol	Extrait brut	Éther de pétrole
25 mg/ml	-	-	-	-	-
200 mg/ml	-	-	-	-	-

Tableau 13 : Résultats de l'activité des extraits contre *Staphylococcus aureus*.

Extrait	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Butanol	Extrait brut	Ether de pétrole
25 mg/ml	-	-	-	-	-
200 mg/ml	-	-	-	-	-

Selon les résultats des tableaux, on a constaté que les extraits de la plante *Fagonia glutinosa* n'ont pas un effet inhibiteur sur les espèces bactériennes étudiées avec les concentrations 25 et 200 mg/ml.

III.1.10. Analyse chromatographique

Les tests CCM ont montré que nos extraits (chloroformique, butanolique, acétate d'éthyle) ainsi que la phase d'éther de pétrole ont des compositions chimiques différentes.

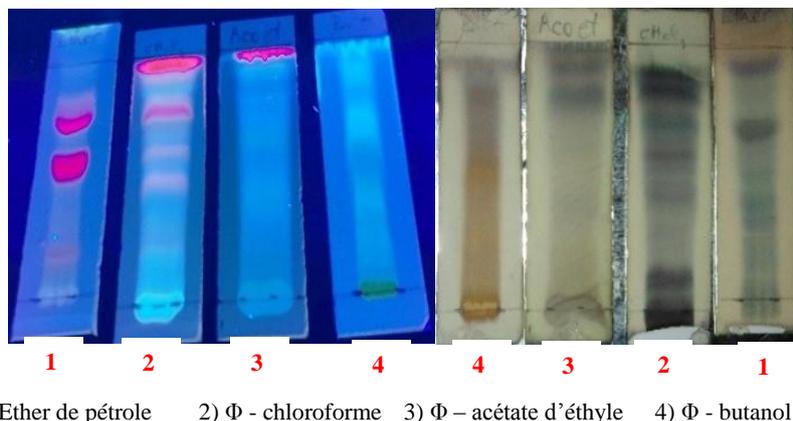


Figure 35 : Tests CCM des extraits (l'extrait butanolique, chloroformique, acétate d'éthyle et l'éther de pétrole) sous lampe UV (365 nm) et par révélateur chimique.

L'essai de séparation de l'extrait butanolique sur une colonne remplie par gel de silice et en utilisant une phase mobile constituée de dichlorométhane et le méthanol en mode graduant (tableau 14).

Tableau 14 : Systèmes d'élution utilisés pour la séparation de l'extrait butanolique sur colonne en gel de silice.

Tube	Système d'élution	
	Dichlorométhane	méthanol
1-3	10	1
4-6	8	1
7-9	6	1
10-12	4	1
13-15	2	1
16-18	1	1
19-21	1	1
22-23	1	2
24-25	1	4

25 fractions ont été collectées (figure 39) dont chaque tube contient 20 ml.



Figure 36 : Les fractions collectées de la colonne de l'extrait butanolique.

Le test CCM des différentes fractions collectées de la colonne de l'extrait butanolique séparé sur colonne chromatographique en silica gel est résumé dans la figure 37.

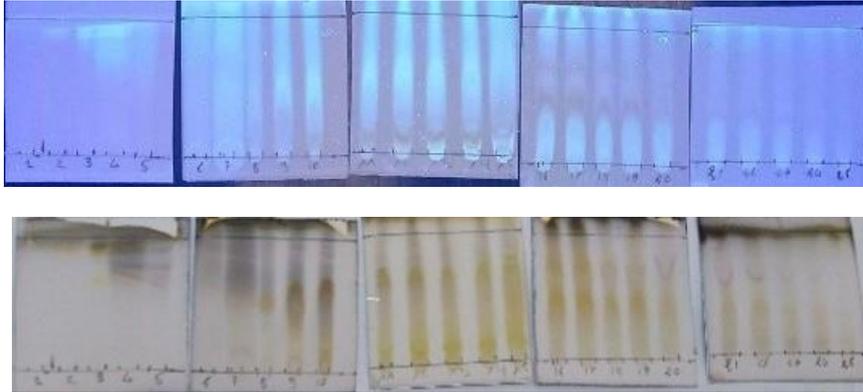


Figure 37 : Test CCM des différentes fractions l'extrait butanolique, sous lampe UV (365 nm) et par le révélateur chimique.

D'après les résultats des tests CCM des différents extraits (Figure 35), nous apercevons que les quatre extraits ont montré un profil chimique différents. Cette différence est caractérisée par le nombre de spots, le Rf (facteur de rétention), la couleur sous lampe UV et après révélation chimique.

Le fractionnement de l'extrait butanolique était très efficace comme le montre la figure 37. L'étape suivante était de prendre une fraction est d'essayer de la purifier par une autre méthode chromatographique afin d'obtenir un composé pur. Malheureusement le temps n'était pas suffisant pour terminer cette partie du travail.

III.2. Discussion

Le criblage phytochimique sur l'espèce *F. glutinosa* affirme la présence des saponines, flavonoïdes, phénol et tanins. Cela est en total accordance avec les résultats des criblages effectués sur le genre *Fagonia* (Iqbal *et al.*, 2014).

L'idée principale de ce travail est de fractionner l'extrait brut de la plante *F. glutinosa* en procédant à une extraction de type liquide-liquide afin d'obtenir des extraits avec des composés différents. Cette différence est due à l'utilisation de solvants avec des polarités croissantes en provoquant une migration des composés biochimique selon leurs affinités chimiques.

Les rendements d'extraction des différents extraits varient entre 0,16 et 13,4 %. Le rendement des phases aqueuse résiduelle et butanolique sont les plus importants. Cela peut être interpréter par la richesse de cette plante en composés polaires avec des masses molaires plus importantes.

Le contenu en phénols totaux varie entre 5, 040 et 72,290 mg EAG/g extrait, le contenu en flavonoïdes varie entre 19,318 et 130,124 mg EQ/g extrait et le contenu en tanins varie entre 0,660 et 11,310 mg EC/g extrait. Des résultats similaires ont été enregistrés pour l'espèce *F. olivieri* (Rashid *et al.*, 2016). En revanche, nos valeurs étaient trop élevées par rapport à celles rapportées pour l'espèces *F. cretica* (Iqbal *et al.*, 2014).

Pour l'activité antiradicalaire par la méthode du radical stable DPPH, La meilleure activité est observée avec l'extrait butanolique avec une valeur d'IC₅₀ égal à 100 µg/ml. Des résultats similaires trouvés pour l'extrait butanolique de *F. olivieri* (IC₅₀= 132 µg/ml), mais notre espèce étudiée a montré une activité très importante par rapport à celle de l'espèce *F. cretica* (Iqbal *et al.*, 2014). Dans une étude menée sur trois espèces du genre *Fagonia* à savoir *F. arabica*, *F. criticus* et *F. albicans* ou les trois extraits bruts ont manifesté une activité similaire à notre espèce *F. glutinosa* (El-Amier *et al.*, 2019).

Pour l'activité antibactérienne nos extrait n'ont montré aucune activité considérable alors que les extraits bruts de trois espèces *F. arabica*, *F. criticus* et *F. albicans* ont démontré une inhibition remarquable qui peut atteindre 28 mm avec une dose égal à 50 mg/ml (El-Amier *et al.*, 2019).

La richesse de l'espèce *F. glutinosa* et le genre *Fagonia* en composés bioactifs est la principale cause des activités enregistrées. Les métabolites secondaires déjà identifiés dans le genre comme les diterpènes (Abdel-Kader, 1994), les triterpènes et la flavonoïdes (Al-Wakeel *et al.*, 1992) sont connus de produire une forte activité antioxydante et biologique (González, 2015).

Conclusion

Conclusion

Le présent travail est principalement consacré à la détermination des molécules bioactives de l'espèce endémique *Fagonia glutinosa* (Zygophyllaceae), récoltée de la région de Ghardaïa, L'étude phytochimique et biologique a été réalisée sur les extraits de *F. glutinosa*.

Notre étude est consacrée en premier lieu par l'extraction des molécules où elle a été réalisée par extraction liquide-liquide à l'aide de plusieurs solvants de polarité croissante (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol). Ce qui a permis la séparation des différents types de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes. Les extraits obtenus ont été analysés quantitativement envers leurs propos en polyphénols, flavonoïdes et tanins, où l'extrait chloroformique a montré le meilleur contenu en flavonoïdes et en composés phénoliques pour *F. glutinosa*.

Tous les extraits de *F. glutinosa* ont montrés une bonne activité antioxydante, la phase butanolique possède la meilleure activité par rapport aux autres extraits, et cela peut être dû à la nature chimique des composés contenus dans cet extrait qui sont de nature fortement polaire.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur deux souches bactériennes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, selon la méthode de dépôt des disques. Les résultats indiquent que les extraits ne possèdent aucune activité antimicrobienne sur les souches testées.

Dernièrement, une analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM) a été menée. Cette technique a permis de visualiser les molécules des extraits puis on a tenté de séparer ces molécules.

À partir de ces résultats, on peut Suggérer que la plante *F. glutinosa* représente une source naturelle de molécules biochimiques prometteuses aux activités biologiques très importantes, ces propriétés importantes font de cette plante un patrimoine à préserver et à valoriser.

*Références
bibliographiques*

Référence

- Aghili, M. (2009). "Makhzan-al-advia." Tehran: Tehran University of Medical Sciences 328.
- Al-Wakeel, S. A. (1992). "Significance of flavonoid chemistry in the Egyptian *Fagonia glutinosa* and *F. isotricha* complexes." *Biochemical systematics and ecology* 20(3) : 259-264.
- Azzi, R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar.
- Abdel-Kader, M. S., Omar, A. A., Abdel-Salam, N. A., & Stermitz, F. R. (1994). Erythrooxan diterpenes from *Fagonia* species. *Phytochemistry*, 36(6), 1431-1433.
- Arthur, C. (1981). An Intergrated System of classification of Flowering Plants. colombia university press.
- Barry, J.-P., J. C.Celles. (1975). Notice de la carte internationale du tapis végétal et des conditions écologiques : feuille d'Alger au 1/1000.000, Société d'Histoire naturelles de l'Afrique du Nord.
- Bentabet Lasgaa, N. (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredoliaaaretioides* et *echiumvulgare* de l'ouest algérien, Thèse de doctorat 2015, P 20-21. Available on : www.Phytojournal.Com
- Boudjouref M. (2011). "Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L*". Thèse Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99p.
- Bruneton J. (1999). *Phytochimie et plante médicinale. J. pharmacognosie. 3eme Ed Lavoisier, Paris, 1120p.*
- Braithwaite, M. C., Tyagi, C., Tomar, L. K., Kumar, P., Choonara, Y. E., Pillay, V. (2014). "Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine: An overview." *Journal of Functional Foods* 6: 82-99.
- Braz, I and F. Mohamed hanchour. (2018). "Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*artemisa herba helba*, *haloxylon scoparium*, *peganum harmala* et *zygophyllum album*". Master académique en pharmacognosie et phytothérapie. Université Abdelhamid ibn badis de Mostaganem.
- Chang, S. T., Wu, J. H., Wang, S. Y., Kang, P. L., Yang, N. S., & Shyur, L. F. (2001). "Antioxidant activity of extracts from *Acacia confuse* bark and heartwood." *Journal of Agricultural and Food chemistry* 49(7): 3420-3424.

- Chehma, A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien.
- El-Amier, Y.A., Abo Aisha, I.A. (2019). phytochemical constituents of common growing fagonia species (zygophyllaceae) in egyptian deserts and its biological activities. Plant Archives. 19 (2): 2213-2219.
- Falleh, H., Jalleli, I., Ksouri, R., Boulaaba, M., Guyot, S., Magné, C., & Abdelly, C. (2012). Effect of salt treatment on phenolic compounds and antioxidant activity of two Mesembryanthemum edule provenances. Plant Physiology and Biochemistry, 52, 1-8.
- Ghedira, K. (2005). "Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique." Phytothérapie 3(4) : 162-169.
- Goleniowski, M. E., Bongiovanni, G., Palacio, L., Nuñez, C., Cantero, J. (2006). "Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina." Journal of ethnopharmacology 107(3): 324-341.
- González, M. A. (2015). Aromatic abietane diterpenoids: their biological activity and synthesis. Natural Product Reports. 32 (5), 684-704
- Hammiche, V. and K. Maiza (2006). "Traditional medicine in Gupta Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer." Journal of ethnopharmacology 105(3): 358-367.
- Harborne, J. B. (1997). "Recent advances in chemical ecology. Natural product reports 14(2) : 83-98.
- Hsu, B., Coupar, I. M., & Ng, K. (2006). Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, Hyphaene thebaica. Food chemistry, 98(2), 317-328.
- Ilboudo S., Ouedraogo M., Some N., et Guissou PI. (2009). Criblage phytochimique et evaluation de la toxicite aigue de pisolithus tinctorius (basidiomycète). J Sci Pharm Biol 10: 6-13.
- Iqbal, P., Ahmed, D., Asghar, M.N. (2014). A comparative in vitro antioxidant potential profile of extracts from different parts of *Fagonia cretica*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 7(Suppl 1): 473-480
- Kamel, M. (1998). "A furostanol saponin from fruits of *Balanites aegyptiaca*. Phytochemistry. 48(4): 755-757.
- Kasture, S. B., Gupta, S. C., Kotecha., M. (2014). "Anticonvulsant activity of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. Stem bark." Oriental Pharmacy and Experimental Medicine 14: 25-29.
- Kheloufi, M. and M. Meddah. (2020). "Contribution à l'étude de l'aptitude coagulant de certaines plantes utilisées traditionnellement dans la coagulation du lait dans la région de Ghardaïa." Mémoire master : Biochimie appliquée, université de Ghardaïa, Ghardaïa.

- Kherraze, M., Lakhdari, K., Kherfi, Y., Benzaoui, T., Berroussi, S., Bouhanna, M. (2014). Atlas floristique de la vallée de l'oued righ par écosystème (éd. Deuxième édition). touggourt: C.R.S.T.R.A.
- Kumar, S., Saini, M., Kumar, V., Prakash, O., Arya, R., Rana, M., Kumar, D. (2012). "Traditional medicinal plants curing diabetes: A promise for today and tomorrow." Asian J Tradit Med 7(4): 178-188.
- Malešev, D. and V. Kuntić (2007). "Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions." Journal of the Serbian chemical society 72(10): 921-939.
- Mariem, S., Hanen, F., Inès, J., Mejdi, S., & Riadh, K. (2014). Phenolic profile, biological activities and fraction analysis of the medicinal halophyte *Retama raetam*. South African Journal of Botany, 94, 114-121.
- Materska, M. (2014). "Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annum* L.)." Journal of Functional Foods 7: 269-277.
- Melek, F., Miyase, T., El-Gindy, M., Abdel-Khalik, S., Ghaly, N., El-Kady, M, et al. (2000). "Saponins from *Fagonia glutinosa*." Die Pharmazie 55(10): 772-776.
- Newman D.J., CRAGG G.M. (2012). "Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010 ". J. Nat. Prod. Vol. (75): 311-335.
- Nouara, B., Mourad, B., Lakhdar, K., Madjda, K.-S. (2016). "Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala* L. dans la région de M'sila." Revue Agriculture 1 : 38-42.
- Ourzeddine, W. (2018). Etude Chimique et Biologique de Plantes Médicinales Algériennes, cas des espèces *Zizyphus lotus* et *Fagonia longispina*, Thèse de doctorat : Chimie Organique. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese journal of nutrition and dietetics, 44(6), 307-315.
- Ozenda, P. (1977) Flore du Sahara. 2e édition, center national de la recherche scientifique, Paris
- Ozenda, P. (1991). "Flore et végétation du Sahara (3ème édition mise à jour et augmentée)." Centre National de la Recherche Scientifique, Paris : 250-278.
- Peeking A., PICAND B., HACENE K., LOKIEC F., GUERIN P. (1987). "Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique". Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. (6) : 512-513.

- Quezel, P. and S. Santa (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
- Rashid, U., Khan, M. R., Sajid, M. (2016). Hepatoprotective potential of *Fagonia olivieri* DC. against acetaminophen induced toxicity in rat. BMC Complementary and Alternative Medicine. 16:449
- Rahman, L., Shinwari, Z. K., Iqar, I., Rahman, L., Tanveer, F. (2017). An assessment on the role of endophytic microbes in the therapeutic potential of *Fagonia indica*. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 16,5 :
- Rahmani, Z. (2015). "Etude de la relation structure-activité antioxydante et antihémolyse des érythrocytes humains par quelques dithiolethiones et composés phénoliques." Doctorat. Université Kasdi Merbah.
- Sagbo, I. J., Afolayan, A. J., & Bradley, G. (2017). Antioxidant, antibacterial and phytochemical properties of two medicinal plants against the wound infecting bacteria. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 7(9), 817-825.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of separation science, 30(18), 3268-3295.
- Satpute, R., Bhattacharya, R., Kashyap, R. S., Purohit, H. J., Deopujari, J.Y., Taori, G.M., Daginawalac, H.F. (2012). Antioxidant Potential of *Fagonia arabica* against the Chemical Ischemia-Induced in PC12 Cells. Iran J Pharm Res. 11(1): 303–313.
- Shakeri, A., Hazeri, N., Vlizabeth, J., Ghasemi, A., & Tavallaei, F. Z. (2012). Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts. Kragujevac Journal of Science, 34(34), 71-78.
- Teklehaymanot, T., (2017). "Une étude ethnobotanique des plantes médicinales et comestibles de YaloWoreda dans l'état régional Afar, en Ethiopie." Journal d'ethnobiologie et d'ethnomédecine 13(1) : 40p.
- Tonkaboni, M. (2007). "Tohfeh al-momenin." Tehran: Shahid Beheshti University of Medical Sciences.
- Vasisht, K. and V. Kumar (2004). "Compendium of medicinal and aromatic plants, Vol. 1." Africa. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology (ICS-UNIDO), Trieste.
- Wang, H., Gao, X. D., Zhou, G. C., Cai, L., & Yao, W. B. (2008). In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. Food chemistry, 106(3), 888-895.