

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 : M^{lle} BOUMEHRAS Asmaa

M^{me} ABDELALI Dalal

Thème

Evaluation *In Vitro* du pouvoir antioxydant de deux plantes de la famille des Asclépiadacées dans la région de Ghardaïa

Soutenu publiquement, le : 12/06/ 2023.

Devant le jury composé de :

M. BELGUIDOUM M.	Maître de Conférences B	Univ. Ghardaia	Président
M. BENKHERARA S.	Maître de Conférences A	Univ. Ghardaia	Encadreur
M ^{lle} . HEROUINI A.	Docteur	Univ. Ghardaia	Co-Encadreur
M. BELHACHEMI MH.	Maître de conférences B	Univ. Ghardaia	Examineur

Année universitaire : 2022 2023

Remerciements

Nos remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à ALLAH le tout puissant, de nous avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur, Mr **BENKHERARA Salah**, pour avoir proposé et dirigé ce travail.*

*Nous remercions Mlle **HEROUINI Amel**, pour l'avoir dirigé et aidée dans ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mr **BELGUIDOUM Mahdi**, pour l'honneur qu'il nous a fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que nous fait Mr **BELHACHEMI Mohammed Habib**, en acceptant d'examiner ce travail et de faire partie du jury.*

Nous remercions les ingénieurs de laboratoire de biologie de l'université de Ghardaïa : M.BENSALLEH Bachir, M.BENHAMMOUDA Hichem, M.MOULAI ABDELLAH Bachir et M.BELHADJ AISSA Djelloul.

Merci également à tous les enseignants du département de biologie ainsi que le personnel du laboratoire de l'université de Ghardaïa.

Ainsi nous remercions notre amies et tous les membres de la famille pour leur soutien moral et leur encouragement Constant et leur prières qui Grâce à eux, nous avons pu surmonter tous les obstacles.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

En premier, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail :

A ma mère Fadila , ma raison de réussite, l'exemple parfait de la femme idéale, le symbole de l'amour, la tendresse, la sympathie et le sacrifice, qui m'a toujours orienté pour acquérir le bonheur dans cette vie.

A mon père Ahmed, qui ma donnée toujours le courage, l'espoir et la chance d'atteindre mes butes, qui m'a toujours et d'un grand secours par son soutien et son encouragement pendant les moments difficiles.

« Je vous aime mes parents »

A mes frères : Taha, Abdelhadi et Yasser

A ma sœur : Basmala

« Que j'aime de tout mon cœur »

À mon binôme « Dalal» pour son aide au cours de la préparation de ce travail.

A MES TRES CHERES AMIEES

BELDJOUZI. Fatima, MECHRI. Saliha, ROUMILI. Maroua, DAHMANI. Kaouthar, MIRAKCHI. Zeineb, BOURDJEM. Bouthaiena,

Au être cher : ELKARCHI. Aouar Abdeallah Debouan.

A mes chères proches amies qui ont vécu avec moi les meilleurs moments ainsi que les mauvais durant ma vie et surtout qui sont près de moi

A mes collègues en Master Biochimie Appliquée

À tous ceux qui me sont chers.

ASMAA.



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À mes chers parents «Keltoum et Belkacem» pour leurs sacrifices et leur soutien moral, financier et affectif tout au long de mon parcours scolaire. Merci d'avoir toujours été là pour moi sans vous je ne serai pas qui je suis, que dieu vous protège et vous garde pour nous le plus longtemps possible.

À mes sœurs «Nadjwa et Sabrina et Romissa» et mes frères «Mohamed et Riad» qui ont toujours été à mes côtés. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et plein de succès dans votre vie, que dieu vous garde et vous protège.

À ma copine et mon binôme « Asmaa » pour son aide au cours des dernières années de nos études.

Ainsi que mes copines « Asma et Alia et Hayat », je vous souhaite plus de succès dans vos vies que dieu vous garde. Et toute la promo de Biochimie Appliquée de 2022/2023 pour leur participation et gentillesse.

Dalal.

Résumé

Les médications traditionnelles et l'utilisation des plantes médicinales dans la médecine empirique ou moderne ont été communément à l'origine de recherches scientifiques de base et de haut niveau. Dans ce travail, nous avons procédé à l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits bruts aqueux de la partie aérienne (feuilles et tiges) et souterraine (racines) de deux espèces végétales de la famille des Asclépiadacées selon trois modes de préparation ; infusion décoction et macération. Ces espèces sont : *Pergularia Tomentosa* (Zelfana) et *Calotropis procera* (Metlili) dans la région de Ghardaïa.

Des tests de criblage phytochimique sont effectués pour mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaires des deux plantes. Des extractions par macération aqueuse sont réalisées. Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits bruts obtenus sont ensuite déterminées. Le potentiel antioxydant des extraits obtenus face aux radicaux libres DPPH et ABTS est par la suite évalué.

De la plupart des résultats obtenus, les tests de criblage phytochimique nous ont révélé la présence des composés du métabolisme secondaire dans la partie aérienne plus que la partie souterraine. L'espèce *Calotropis procera* s'est montrée plus riches en polyphénols totaux avec une teneur maximale de l'ordre de 501,96 mg EAG/g MVS dans l'extrait brut obtenu par décoction.

Les tests du pouvoir antioxydant ont permis d'évaluer la puissance des extraits bruts aqueux dans la réduction et le piégeage des radicaux libres. Les résultats obtenus du pouvoir inhibiteur du radical DPPH révèlent que les extraits préparés par macération sont très actifs et présentent des forts pouvoirs antioxydants avec une priorité pour l'extrait brut aqueux de l'espèce *Calotropis procera* (IC₅₀ = 49.691 µg/ mL). Quant aux radicaux libres ABTS, les extraits bruts aqueux de la même espèce ont présenté le meilleur pouvoir antioxydant (IC₅₀ = 0.278 mg/ mL).

Mots clés : *Pergularia Tomentosa*, *Calotropis procera*, Ghardaïa, Phytochimie, Pouvoir antioxydant.

Abstract

Traditional medicines and the use of medicinal plants in empirical or modern medicine have commonly been the source of basic and high-level scientific research. In this work, we assessed the antioxidant power of crude aqueous extracts of the aerial and underground parts of two plant species of the Asclepiadaceae family, using three preparation methods: infusion, decoction and maceration. These species are: *Pergularia Tomentosa* (from Zelfana) and *Calotropis procera* (from Metlili) in the Ghardaia region.

Phytochemical screening tests were carried out to identify the presence or absence of the main secondary metabolites of the two plants. Extractions were carried out by aqueous maceration. The total polyphenol content of the crude extracts obtained was then determined. The antioxidant potential of the extracts obtained against DPPH and ABTS free radicals was then assessed.

From most of the results obtained, the phytochemical screening tests revealed the presence of secondary metabolism compounds in the aerial part more than in the underground part. The *Calotropis procera* species was found to be richer in total polyphenols, with a maximum content of around 501.96 mg EAG/g MVS in the crude extract obtained by decoction.

Antioxidant potency tests were used to assess the potency of crude aqueous extracts in reducing and trapping free radicals. The results obtained for DPPH radical inhibiting power show that the extracts isolated much more by maceration are very active and have strong antioxidant powers, with priority given to the crude aqueous extract of the *Calotropis procera* species (IC₅₀ = 49.691 µg/ mL). As for ABTS free radicals, the aqueous crude extracts of the same species showed the best antioxidant power (IC₅₀ = 0.278 mg/ mL).

Key words: *Pergularia Tomentosa*, *Calotropis procera*, Ghardaia, Phytochemistry, Antioxidant power.

الملخص

كانت الأدوية التقليدية واستخدام النباتات الطبية في الطب التجريبي أو الحديث مصادر شائعة للبحث العلمي الأساسي ورفيع المستوى في هذا العمل، قمنا بتقييم القوة المضادة للأوكسدة للمستخلصات الخام المائية للجزء الجوي (الأوراق والسيقان) وتحت الأرض (جذور) لنوعين نباتيين من عائلة Asclépiadacées وفقاً لثلاث طرق للتحضير سواء بالنقع في الماء الساخن أو الغليان أو النقع في الماء البارد. هذه الأنواع هي : *Calotropis procera* و *Pergularia tomentosa* من (زلفانة) و (متليلي) في منطقة غرداية لتحضير هذه المستخلصات.

يتم إجراء اختبارات الفحص الكيميائي النباتي لإبراز وجود أو عدم وجود المستقبلات الثانوية الرئيسية للنباتين. يتم الاستخلاص بالنقع المائي. ثم يتم تحديد محتويات البوليفينول الكلي في المستخلصات الخام التي تم الحصول عليها. ثم يتم تقييم إمكانات مضادات الأوكسدة للمستخلصات التي تم الحصول عليها ضد الجذور الحرة DPPH و ABTS. معظم النتائج التي تم الحصول عليها، كشفت لنا اختبارات الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات مستقبلات الايض الثانوي في الجزء الجوي أكثر من الجزء الموجود تحت الأرض. تم العثور على أنواع *Calotropis procera* لتكون أكثر ثراءً في إجمالي البوليفينول مع أقصى محتوى يبلغ حوالي 501,96 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ مادة نباتية جافة في المستخلص الخام الذي تم الحصول عليه عن طريق الغليان. تم استخدام اختبارات القدرة المضادة للأوكسدة لتقييم قوة المستخلصات الخام المائي في تقليل والحد من الجذور الحرة. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها من القوة المثبطة لجذر DPPH أن المستخلصات المعزولة أكثر بكثير عن طريق النقع نشطة للغاية ولها قوى مضادة للأوكسدة قوية مع أولوية للمستخلص الخام المائي من النوع (ميكروغرام / مل *Calotropis procera* (IC₅₀ = 49,691) بالنسبة للجذور الحرة ABTS، أظهرت المستخلصات الخام المائية من نفس النوع أفضل قوة مضادة للأوكسدة (IC₅₀ = 0.278 مجم / مل).

الكلمات الدالة:

Calotropis procera، *Pergularia tomentosa*، غرداية، الكيمياء النباتية، القوة المضادة للأوكسدة.

Liste des abréviations

PH : Potentiel hydrogène.

R² : coefficient de corrélation.

% : pourcentage.

°C : Degré Celsius.

R : rendement.

AAT : activité antioxydante totale.

HCL : acide chlorhydrique.

EBA : extrait brute aqueux.

MVS : matière végétale sèche.

EAG : équivalent acide gallique.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

ABTS: 2, 2'-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid.

IC50 : médian inhibition concentration.

FeCl₃ : Le chlorure de fer(III).

NH₄OH : Ammoniaque.

PMV : poids de matière végétale.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

% I : Pourcentage d'Inhibition.

PEB : poids de l'extrait brut.

PA : Partie aérienne

PS : Partie souterraine (racinaire)

D : Décoction

I : Infusion

M : Macération

PT : *Pergularia tomentosa*

CP : *Calotropis procera*

Liste des figures

Figure n°	Titre	Page
Figure 01	Limites administratives de la région de Ghardaïa et différents sites de prélèvements (Copyright France, 2009).	4
Figure 02	Vue générale des espèces <i>Pergularia tomentosa</i> (1) et <i>Calotropis procera</i> (2) de la région de Ghardaïa (Originale, 2023).	6
Figure 03	Vue générale de différentes parties avant et après séchage des deux espèces étudiées (Originale, 2023) (A : Partie aérienne / B : partie souterraine) (1 : <i>Pergularia tomentosa</i> après le séchage / 2 : <i>Calotropis procera</i> avant le séchage).	7
Figure 04	Protocole expérimentale de préparation des extraits bruts aqueux de la partie aérienne (feuilles et tiges) et souterraine (racines) des espèces étudiées.	11
Figure 05	Exemple de résultats de réactions de mise en évidence de quelques composés du métabolisme secondaire de <i>Pergularia tomentosa</i> (1) et <i>Calotropis procera</i> (2).	18
Figure 06	Rendement en extraits (%) de la partie aérienne et souterraine des espèces étudiées. (PT : <i>Pergularia tomentosa</i> , CP : <i>Calotropis procera</i> , PA : Partie aérienne, PS : Partie souterraine).	19
Figure 07	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	21
Figure 08	Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse Trolox, Acide gallique, Acide ascorbique (pour DPPH).	23
Figure 09	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, PA : Partie aérienne, PT : <i>Pergularia tomentosa</i> , CP : <i>Calotropis procera</i>).	24
Figure 10	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, , PR : Partie racinaire (souterraine), PT : <i>Pergularia tomentosa</i> , CP : <i>Calotropis procera</i>).	25
Figure 11	Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse Trolox, Acide gallique, Acide ascorbique (pour ABTS).	27
Figure 12	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test d'ABTS) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, PA : Partie aérienne, PT : <i>Pergularia tomentosa</i> , CP : <i>Calotropis procera</i>).	28
Figure 13	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test d'ABTS) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, , PR : Partie racinaire (souterraine), PT : <i>Pergularia tomentosa</i> , CP : <i>Calotropis procera</i>).	29

Liste des tableaux

Table n°	Titre	Page
Tableau 01	Criblage phytochimique des différents phytoconstituants chimiques de la partie aérienne des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa.	17
Tableau 02	Teneur (mg EGA/ g MVS) en polyphénols totaux des extraits bruts aqueux.	21
Tableau 03	Résultats globaux des IC50 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) du pouvoir antioxydant (test de DPPH) des extraits des espèces étudiées.	26
Tableau 04	Résultats globaux des IC50 (mg/mL) du pouvoir antioxydant (test de ABTS) des extraits des espèces étudiées.	30

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	I
Abstract	II
المخلص	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Table des matières	VII
Introduction générale.....	1
1. Matériels et méthodes	3
1.1. Matériel végétal	3
1.1.1. Site de prélèvement	3
1.1.1.1. Facteurs climatiques et hydro-géographie	5
1.1.1.2. Cortège floristique	5
1.1.2. Echantillonnage et séchage	6
1.2. Méthodes d'analyses	7
1.2.1. Tests biochimiques préliminaires	7
1.1.1.1. Recherche des Tanins	7
1.1.1.2. Recherche des Flavonoïdes	7
1.1.1.3. Recherche des Saponosides.....	8
1.1.1.4. Recherche des Anthocyanes.....	8
1.1.1.5. Recherche des Leuco anthocyanes	9
1.1.1.6. Recherche des Alcaloïdes	9
1.1.1.7. Recherche des Terpènes.....	9
1.1.1.8. Recherche des Stérols	9
1.2.2. Préparation des extraits bruts aqueux des espèces étudiées.....	9
1.3. Dosage des polyphénols totaux.....	12

1.4. Activité antioxydante	13
1.4.1. Test de DPPH : Piégeage du radical libre stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	13
1.4.2. Test de l'ABTS : Capacité antioxydant en équivalent trolox ou activité antioxydant totale AAT	14
2. Résultats et discussion	17
2.1. Criblage phytochimique	17
2.2. Rendement des extraits bruts	18
2.3. Teneur en polyphénols totaux	20
2.4. Pouvoir antioxydant	22
2.4.1. Test de DPPH : Effet inhibiteur du radical libre stable DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)	22
2.4.2. Test de l'ABTS :	26
Conclusion générale et perspectives	32
Référence bibliographique	33

Introduction

générale

Introduction générale

Depuis la découverte des composés naturels, l'humanité a manifesté un vif intérêt pour les plantes, en particulier celles utilisées en pharmacie. La pharmacognosie, une discipline scientifique dédiée à l'étude des toxines et des remèdes naturels, se concentre principalement sur les substances bioactives présentes dans ces plantes. (Mohammedi, 2013).

Grâce à sa richesse patrimoniale et à sa diversité de plantes, l'Algérie renferme une vaste réserve phylogénétique comprenant plus de 3000 espèces appartenant à diverses familles botaniques. Cette abondance végétale incite l'homme à exploiter ces ressources à travers la médecine traditionnelle (Bouzaïd et *al.*, 2016). Plusieurs espèces sont connues par leurs caractéristiques thérapeutiques remarquables (Fellous, 2003).

Les extraits végétaux ont été massivement étudiés pour identifier les propriétés antioxydantes. Les déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes qui sont provoquées dans le corps humain par le stress oxydatif, est lié avec l'apparition de graves maladies comme le cancer, l'Alzheimer et l'artériosclérose (Mohammedi, 2013). Pour cette raison, l'aide des plantes médicinales qui ont des capacités thérapeutiques, sont utilisées pour traiter ces maladies (Svoboda et *al.*, 2000). Ainsi, ces plantes possèdent un apport important de substances bioactives liées aux produits du métabolisme secondaire, qui sont également riches en composés antioxydants tels que les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes et les flavonoïdes (Mohr, 1982 ; Juan, 1984; Raghav et *al.*, 2006).

Les alcaloïdes sont parmi les principales substances bioactives de la pharmacologie et de la médecine (Guignard, 2000). Ils possèdent des structures variées et proviennent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques (Judd et *al.*, 2002). Les alcaloïdes se présentent le plus souvent sous l'aspect de cristaux soluble dans les solvants organiques, mais insolubles dans l'eau (Dih et Belguendouz, 2017).

Notre étude contribue à l'enrichissement du patrimoine local en explorant l'utilisation des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle. Après avoir examiné des travaux antérieurs, nous avons choisi d'analyser deux espèces végétales appartenant à la même famille. Soit *Pergularia tomentosa* de la région de Zelfana (Ghardaïa) et *Calotropis procera* de la région de Metlili (Ghardaïa) qui appartiennent à la famille des *Asclepiadaceae*. Même si elles sont plus ou moins toxiques à fortes doses, elles sont couramment utilisées en

médecine traditionnelle contre les spasmes et les diarrhées ainsi que le diabète (Kemassi et *al.*, 2014), et ont des activités antimicrobienne, anti-inflammatoire, immunomodulatrice, antipyrétique, protectrice, analgésique, acaricide, anti-ulcère et anti-fertilité (Kumar et *al.*, 2013).

Plusieurs études scientifiques ont été pratiquées pour découvrir les activités biologiques de composés d'origine végétale, antioxydants ou autres, qui pourraient être efficaces pour la santé (Tumbas et *al.*, 2010). Chez toutes ces espèces, *Pergularia tomentosa* est reconnue pour sa richesse en métabolites primaires et surtout en métabolites secondaires qui procurent des capacités thérapeutiques importantes et des activités biologiques très intéressantes.

A travers l'espèce *Calptropis procera* qui est une plante médicinale plus que toxique, Plusieurs enquêtes ethnobotaniques ont été menées au Sahara Algérien (Hammiche, V., & Maiza, K. 2006) (Maiza et *al.*, 2006). Différents usages de cette drogue a été démontrés par les chercheurs que toutes les parties de la plante ; feuille, fleur, racine, écorce de racine, latex sont utilisées à l'état frais ou sec et pulvérisé. Diverses atteintes cutanées, tels que l'eczéma ou la gale, sont traitées par des applications de décoction ou de cendres de fleurs. La plante est aussi très utilisée en usage interne: la décoction de racine et la macération de feuille sont absorbées afin de traiter de nombreux troubles comme les refroidissements...etc.

Ce mémoire porte sur l'étude phytochimique de ces deux plantes spontanées ainsi que sur l'évaluation des activités antioxydantes de ses extraits préparés par les trois modes. Activités antioxydantes par le piégeage du radical libre DPPH et l'activité antioxydante totale AAT, ABTS ;

Dans la deuxième partie, nous montrons les résultats obtenus et leur discussion.

Partie expérimentale

1. Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est présenté par deux espèces végétales qui poussent spontanément dans la région de Ghardaïa : *Pergularia tomentosa* (Kalga) et *Calotropis procera* (Karanka). Ces espèces appartiennent à la famille des Asclépiadacées (Fig. 1).

Quant à la description botanique, La famille Asclépiadacée comporte environ 200 genres et 2500 espèces, essentielles herbacées ou buissonnantes propres aux régions tempérées et subtropicales (François, 2008). Cette famille est connue par sa richesse en cardénolides, notamment les genres : Asclépias, Pergularia, Gomphocarpus et Calotropis (Gohar *et al.*, 2000).

Le *Pergularia tomentosa* est une plante herbacée ou semi-ligneuse, arbrisseau vivace pouvant dépasser 1 m d'hauteur (Fig. 2). Les jeunes rameaux volubiles de cette plante s'enroulent fréquemment autour les plus anciens lui donnant un aspect touffu (Ozenda, 2004), Floraison en printemps (Chehma, 2006).

Le *Calotropis procera* espèce ligneuse polymorphe (buisson, arbuste, voire même petit arbre) et largement répandue de la Côte d'Ivoire au Maroc. Feuilles ovales, opposées, sans pétiole, grandes (parfois plus de 15 centimètres de large) (Fig. 2), rigides et cireuses. Avec l'âge, le bois reste très léger (bois d'emballage amortissant les chocs et très facile à travailler), de couleur claire. L'écorce est blanc jaunâtre, subéreuse en plaque, crevassée sur les vieux individus. Les divers organes de la plante laissent exsuder un abondant latex blanc (toxique et irritant) à la moindre blessure (Duranton *et al.*, 2012).

Les parties aérienne (mélange tige et feuilles) et souterraine (racine) sont utilisées pour la réalisation des expérimentations de cette étude qui porte en principe sur l'évaluation *in vitro* du pouvoir thérapeutique antioxydant des extraits bruts aqueux obtenus par différents modes de préparation.

1.1.1. Site de prélèvement :

Les échantillons des deux espèces étudiées sont prélevés durant les mois de février et mars et à partir de deux sites différents de la région de Ghardaïa au Sahara septentrional algérien. Les parties aériennes et souterraines de l'espèce *Pergularia tomentosa* sont prélevées à partir de Zelfana à 65 km de la région de Ghardaïa alors que celles de l'espèce

Calotropis procera sont obtenues à partir de la zone scientifique de Metlili qui se trouve à 40 km de Ghardaïa. Ces échantillons sont déposés, séchés et broyés au sein du Laboratoire de recherche du département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre de l'Université de Ghardaïa.

La région de Ghardaïa au sens large est située au centre de la partie nord du Sahara Algérien et au sud de la ville d'Alger, à une distance d'environ 620 km. Elle occupe une superficie de 84.660 km² et compte environ 363598 habitants en 2008.

Géographiquement, ce site est limité ; au Nord par la wilaya de Laghouat, au Sud par la wilaya de Meniaa, à l'Est par la wilaya d'Ouargla et à l'Ouest par la wilaya d'El Bayadh (Anirf, 2011a ; Andi, 2013a).

Les coordonnées de cette région sont : 32 ° 26 ' de latitude Nord et 3 ° 46' de longitude Est (Adouane *et al.*, 2014).

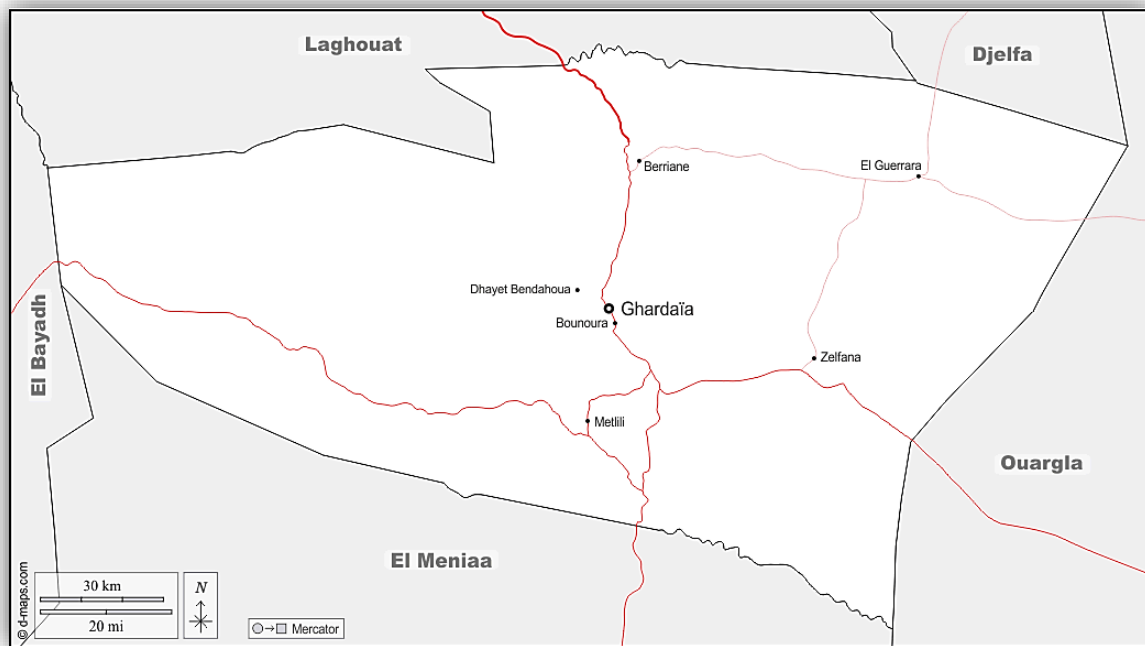


Figure 01: Limites Administratives de la région de Ghardaïa et différents sites de prélèvements (Copyright France, 2009).

1.1.1.1. Facteurs climatiques et hydro-géographie :

Le climat de la région de Ghardaïa est typiquement Saharien, se caractérise par deux saisons : une saison chaude et sèche (du mois d'avril au mois de septembre) et une autre saison tempérée (du mois d'octobre au mois de mars) avec une grande différence entre les températures estivales et hivernales. Nous enregistrons une moyenne annuelle de 25°C avec une moyenne de précipitations de 60 mm/an (Chenini et Chabou, 2012).

Le relief de la wilaya est un sous ensemble de composants géographiques dont les principaux sont les suivants :

- Le grand Erg oriental : véritable mer de sable où les dunes pouvant atteindre une hauteur de 200 m.

- La hamada : qui est un plateau caillouteux.

- Les vallées : sont représentées par la vallée du M'ZAB.

La wilaya a une série de couches aquifères exploitée par pompage à des profondeurs importantes, dépassant parfois les 120 m selon la région (Chenini et Chabou, 2012 ; Andi, 2013a).

1.1.1.2. Cortège floristique :

La flore saharienne apparait comme très pauvre si l'on compare le petit nombre des espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre, et la région de Ghardaïa fait partie du Sahara septentrional mais elle n'est pas dépourvue de végétation car elle se caractérise par la présence des oasis sur ses principaux oueds, y compris la vallée du M'Zab, qui comprend en elle-même un groupe de cinq oasis. Bien que la culture du palmier dattier soit dominante, l'agriculture à Ghardaïa est relativement diversifiée. Il y a la culture des légumes, arbres fruitiers, céréales (orge et blé dur), en plus de la culture de l'arachide. Ce site contient également des plantes spontanées à caractère médicinal appartenant à diverses familles telles que les Lamiaceae, *Asteraceae*, Fabaceae, Chenopodiaceae, etc... (Ozenda, 1977 ; Kemassi *et al.*, 2014 ; Bensaha et Arbouch, 2016).

1.1.2. Echantillonnage et séchage :

La méthode d'échantillonnage que nous avons adopté pour la réalisation de ce travail c'était celle basée sur le *hasard* qui consiste à prélever d'une manière aléatoire et simple de divers points du même pied de la plante considérée des feuilles, des tiges et des racines ne présentant aucune lésion de même forme et de tailles différentes en fonction bien sûr de leurs âges, autrement dit ; nous avons réalisé une cueillette des feuilles, des tiges et des racines adultes des *Pergularia tomentosa* et *Calotropis procera* afin d'éviter les risques de disparition de l'espèce végétale.

Une vue générale de nos échantillons des deux espèces sont présentées dans la figure 02.



Figure 02 : Vue générale des espèces *Pergularia tomentosa* (1) et *Calotropis procera* (2) de la région de Ghardaïa (Originale, 2023).

Les prélèvements sont réalisés tôt le matin, au début de mois de février et mars et par temps sec pour éviter toutes altérations des huiles ou tout autre produit du métabolisme secondaire. Le matériel végétal est placé dans des étuis en papier stérile puis transporté immédiatement au laboratoire en vue de l'analyse. Les parties prélevées sont mises à sécher pour servir aux analyses biochimiques et la préparation des extraits bruts. Sécher une plante n'est en fait rien d'autre que lui retirer progressivement son humidité. Il sera souvent nécessaire, avant de procéder à ce séchage, de passer les parties récoltées rapidement sous un filet d'eau, pour éliminer la poussière, les impuretés, les particules de terre, etc. Les parties feuilles, tiges et racines récoltées sont étendues en couches minces, à bonne aération, en courant d'air, sur une toile blanche pendant trois semaines et en les retournant de temps à autre. Le séchage doit se prolonger jusqu'à l'obtention d'une consistance tout à fait friable, facile à briser lorsqu'on les courbe. Une dessiccation excessive fait cependant tomber les plantes ou les organes en poussière et entraîne la perte de leurs matières actives. Dans le cas contraire, si l'humidité résiduelle reste élevée, on court toujours le risque de les voir pourrir ou moisir lors de la conservation.



Figure 03 : Vue générale de différentes parties avant et après séchage des deux espèces étudiées (Originale, 2023) (A : Partie aérienne / B : partie souterraine) (1 : *Pergularia tomentosa* après le séchage / 2 : *Calotropis procera* avant le séchage).

1.2. Méthodes d'analyses

1.2.1. Tests biochimiques préliminaires :

Nous avons réalisé un criblage phytochimique dans le but de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaires des espèces végétales étudiées. Ces tests sont réalisés sur les parties aériennes.

1.2.1.1. Recherche des Tanins :

Selon (Solfo, 1973) on prend 5 mL de l'infusé auxquels on ajoute 1 mL de la solution de Chlorure ferrique (FeCl_3) à 1% par goutte à goutte. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques et bleu noirâtre pour les tanins galliques.

1.2.1.2. Recherche des Flavonoïdes :

La mise en évidence de la présence des flavonoïdes est effectuée en suivant la méthode de (Harborne, 1973) par la réaction à la cyanidine avec légères modifications à propos des volumes des solutions de révélation ajoutées. 10 g de drogue pulvérisée sont macérés dans

150 mL d'HCl à 1 % pendant 24 Heures, après filtration de la solution obtenue ; 3mL d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée, acide chlorhydrique concentré (V/V/V)) sont mis dans un tube à essai avec 1mL d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.

1.2.1.3. Recherche des Saponosides :

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Deux grammes de matériel végétal sec et broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 mL d'eau. On porte à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 mL. A partir de cette solution, on prépare dix tubes dans lesquels on met 1, 2, 3, ... 10 mL. Le volume final étant de nouveau réajusté à 10 mL avec de l'eau distillée. Les tubes sont agités fortement en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le X^e tube, alors l'indice de mousse est calculé selon la formule suivante :

$$I = \frac{\text{Hauteur de mousse (en cm) dans le X}^{\text{e}} \text{ tube} \times 5}{X/100}$$

X : C'est l'ordre de tube qui présente une mousse de l'ordre de 1 cm de hauteur.

La présence des saponosides dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (Dohou *et al.*, 2003).

1.2.1.4. Recherche des Anthocyanes :

D'après (Solfo, 1973) la recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH : on ajoute quelques gouttes d'HCl puis quelques gouttes de NH₄OH, le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.

1.2.1.5. Recherche des Leuco anthocyanes :

A 5 mL de l'infusé, sont mélangés 4 mL d'alcool chlorhydrique (éthanol/ HCl pur 3/1 V/V). Après chauffage au bain marie à 50° C pendant quelques minutes, l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des leuco anthocyanes (Solfo, 1973).

1.2.1.6. Recherche des Alcaloïdes :

Après une macération de 5 g de la partie aérienne séchées et broyées dans 50 mL d'HCl à 1%, le mélange est filtré puis soumis à l'action du réactif de Mayer ou Dragendorff (quelques gouttes). L'apparition d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes (Bouquet, 1972).

1.2.1.7. Recherche des Terpènes :

La recherche des terpènes est effectuée par le test Salkowski : A 5 mL d'infusé, 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré sont soigneusement ajoutés. L'apparition d'un anneau brun rougeâtre à l'interphase indique la présence des terpènes (Rimjhim *et al.*, 2014).

1.2.1.8. Recherche des Stérols :

Les stérols sont mis en évidence par le test Liebermann-Burchard : un volume de 2 mL de l'infusé est mélangé avec 2 mL de chloroforme et 1 mL d'anhydride acétique. Ensuite, 2 gouttes d'acide sulfurique H₂SO₄ concentré sont ajoutées. L'apparition d'une coloration rouge, qui vire en bleue et qui devient par la suite verte indique la présence des stérols (Rimjhim *et al.*, 2014).

1.2.2. Préparation des extraits bruts aqueux des espèces étudiées

L'extrait brut aqueux EBA est préparé selon la méthode de (Majhenic *et al.*, 2007) avec légères modifications concernant le volume du solvant utilisé. 05 g de poudre végétale sont dissous dans 50 mL au lieu de 75 mL d'eau distillée, sous agitation magnétique pendant 2 à 3 heures à une température ambiante. Après filtration et pour un meilleur épuisement de la plante, quatre autres extractions sont faite avec le même marc en utilisant le même volume d'eau distillée. Les filtrats ainsi obtenus sont évaporés à sec sous pression réduite à 65°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est récupéré avec du méthanol et la solution de l'extrait est ensuite conservée à 4°C.

Les extraits bruts aqueux des espèces végétale étudiées sont préparés selon les trois modes différents suivants : infusion, décoction et macération et cela dans le but de comparer et déterminer le meilleur mode de préparation du point de vue activité biologique.

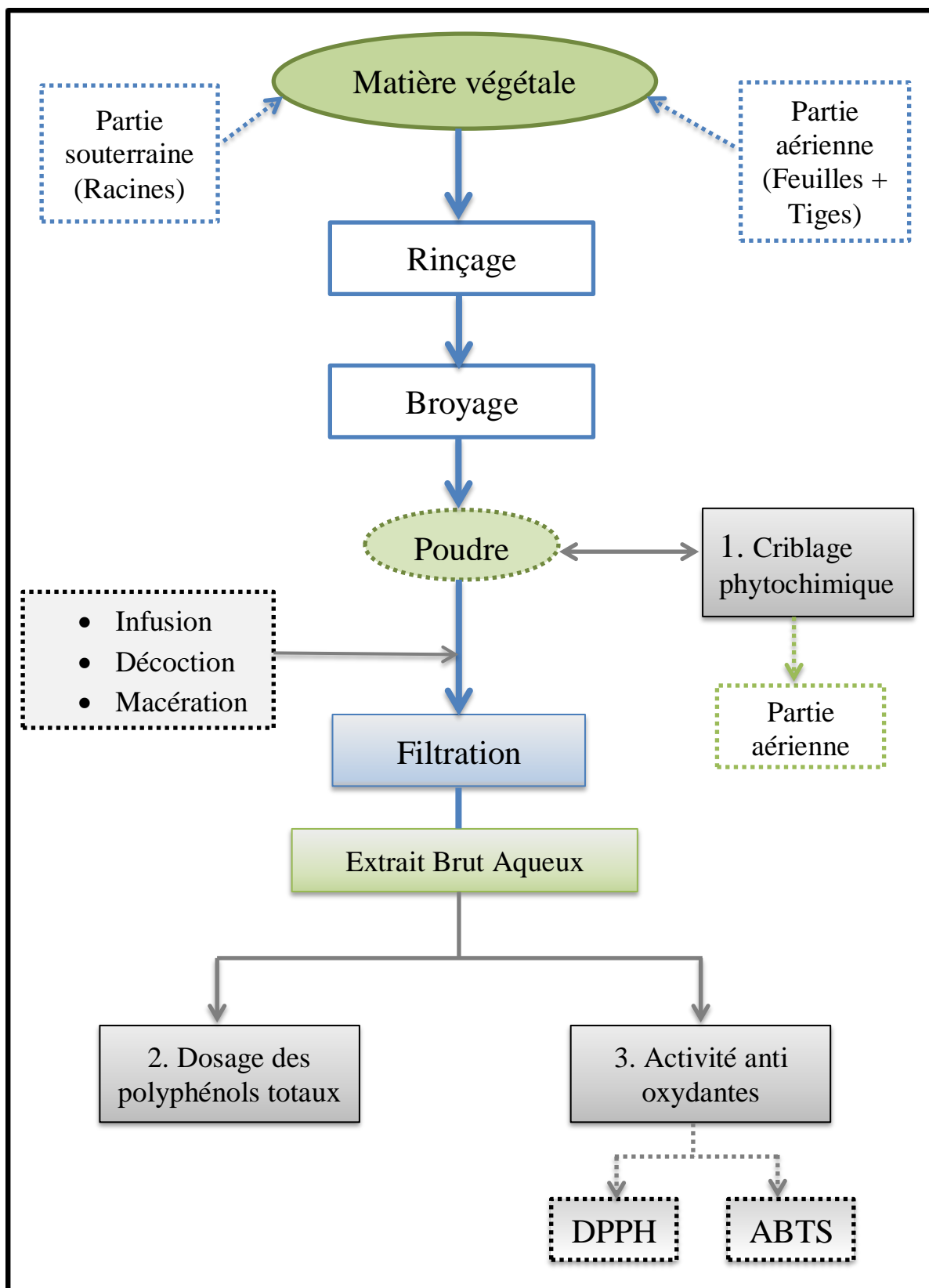


Figure 04 : Protocole expérimentale de préparation des extraits bruts aqueux de la partie aérienne (feuilles et tiges) et souterraine (racines) des espèces étudiées.

1.3. Dosage des polyphénols totaux

Le test de dosage des polyphénols totaux de la partie aérienne et souterraine des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa au Sahara septentrional Algérien est résumé ci-dessous. Ce test est fait en triplicata.

La teneur en polyphénols totaux est déterminée par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) qui est réduit, lors de l'oxydation des composés phénoliques en mélange d'oxydes bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_3).

L'absorption maximale est comprise entre 700 et 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006). Le dosage de ces polyphénols est effectué selon la méthode décrite par (Singleton et Rossi, 1965) avec légère modification concernant les volumes : Un volume de 100 μ l de l'extrait végétal est mélangé avec 400 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après agitation puis incubation de 05 min, 500 μ l de solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5 %) est ajouté. Le mélange est laissé au repos à l'obscurité et à température ambiante pendant 90 min avec agitation intermittente. L'absorbance de la solution résultante est mesurée à 760 nm contre un blanc.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG / g MVS).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique comme étalon ou contrôle positif (Li *et al.*, 2007).

1.4. Activité antioxydante

La capacité antioxydante des substances ou principes actifs des extraits de plantes peut être évaluée soit *in vivo*, sur des organismes vivants, soit *in vitro* en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité antioxydant des extraits naturels *in vitro*, différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux libres. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs : soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron (Prior *et al.*, 2005).

Dans notre cas, les tests d'évaluation du pouvoir antioxydant ont porté sur le piégeage du radical libre stable DPPH ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydant totale AAT ou piégeage des radicaux libres ABTS.

1.4.1. Test de DPPH : Piégeage du radical libre stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Parejo *et al.*, 2003).

De point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant des groupements SH, NH et OH (Salah *et al.*, 1995). Il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits hydrophiles très riches en composés phénoliques (Yi-Zhong *et al.*, 2006 ; Hatzidimitriou *et al.*, 2007).

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical libre DPPH.

Le pouvoir de piégeage ou d'inhibition des extraits obtenus de nos espèces végétales sur le radical libre DPPH est mesuré selon la méthode de (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998 et de Anton *et al.*, 2008) : Un volume de 50 µl de différentes concentrations de la solution de chaque extrait est ajouté à 950 µl de la solution méthanolique du DPPH 60 µM (0,025 g/L) fraîchement préparée. Des solutions d'un antioxydant de référence Trolox sont également préparées dans les mêmes conditions pour servir de témoin positif. Après incubation à

l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes, la lecture des absorbances (DO) est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 515 nm contre un blanc (50 µl du méthanol avec 950 µl d'une solution méthanolique du DPPH).

Le pourcentage du piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

A1 : Absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait végétal).

A2 : Absorbance en présence de l'extrait végétal.

1.4.2. Test de l'ABTS : Capacité antioxydant en équivalent trolox ou activité antioxydant totale AAT

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) ou ABTS est un composé chimique utilisé notamment en biochimie dans l'étude de la cinétique de certaines enzymes. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu verdâtre. Ce radical cationique est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le phosphate de potassium (KH₂PO₄). Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes :

Au cours de la première étape, le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron (e⁻) à un atome d'azote de l'ABTS. La deuxième se déroule en présence d'un antioxydant donneur de H[•], le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTS-H⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution.

L'activité antioxydant totale (AAT) des extraits obtenus est évaluée selon la méthode de (Re *et al.*, 1999) avec de légères modifications à propos des volumes. Cette activité est exprimée par la Capacité Antioxydante en Equivalent Trolox (CAET) qui correspond à la capacité antioxydante d'une solution en unités d'équivalent Trolox. Ainsi, plus la valeur de CAET est grande, plus l'activité antioxydante est forte (Schlesier *et al.*, 2002).

Le cation radical ABTS (ABTS^{•+}) a été produit en réagissant une solution mère d'ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium (2,45 mM). Le mélange est laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 12 à 16 heures avant utilisation. Le radical était stable sous cette forme pendant plus de 2 jours lorsqu'il était protégé de la lumière et stocké à une température ambiante.

Pour l'évaluation de la CAET, la solution stock de l'ABTS^{•+} a été diluée avec de l'éthanol à une absorbance de 0.70 (±0.02) à une longueur d'onde de 734 nm et équilibré à 30°C. Ensuite, un volume de 10 µl des différentes concentrations des solutions à tester (extraits de la plante) a été mélangé avec 990 µl de la solution mère de l'ABTS^{•+} diluée. Le blanc

est obtenu en mélangeant 10 µl d'éthanol absolu avec 990 µl de la solution stock de l'ABTS^{•+}. Le pouvoir inhibiteur ou de piégeage du radical ABTS^{•+} (% Inhibition) est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A734 \text{ blanc} - A734 \text{ extrait}) / A734 \text{ blanc}] \times 100$$

Où A734 blanc et A734 extrait sont les absorbances de la solution ABTS^{•+} à 734 nm avant et après addition des échantillons ou extraits de plante. L'étalonnage a été effectué avec des solutions mères de Trolox.

Pour les deux tests du pouvoir antioxydant, les valeurs enregistrées des concentrations inhibitrices (IC50), qui correspondent à la concentration de l'extrait végétal nécessaire pour piéger ou neutraliser 50% des radicaux libres DPPH ou ABTS existants dans le milieu réactionnel, sont exprimées en mg ou en µg/ mL.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2. Résultats et discussion

2.1. Criblage phytochimique

Les résultats de criblage phytochimique de la partie aérienne séchée des espèces végétales *Pergularia tomentosa* et *Calotropis procera* sont représentés dans le tableau (1) :

Tableau 01 : Criblage phytochimique des différents phytoconstituants chimiques de la partie aérienne des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa.

Métabolites Secondaires	Plante	<i>Pergularia tomentosa</i>	<i>Calotropis procera</i>
Tanins		+	+
Flavonoïdes		+	+
Saponosides		-	-
Anthocyanes		+	+
Leucoanthocyanes		+	-
Alcaloïdes		+	+
Terpènes		+	-
Stérols		+	+

(+) présence, (-) absence

Les tests biochimiques préliminaires des différents composés du métabolisme secondaire de la partie aérienne, nous ont permis d'apprécier la qualité biochimique des deux espèces végétales étudiées. Autrement dit, ces tests ont mis en évidence la présence des tanins, flavonoïdes, anthocyanes, alcaloïdes, et des stérols. Quant aux terpènes, seulement l'espèce *Pergularia tomentosa* qui s'avère plus ou moins aromatique et ce à cause de la présence de ces composés dans sa partie aérienne.

Les composés du métabolisme secondaire ont été mis en évidence par des réactifs spécifiques dans la figure (05) :

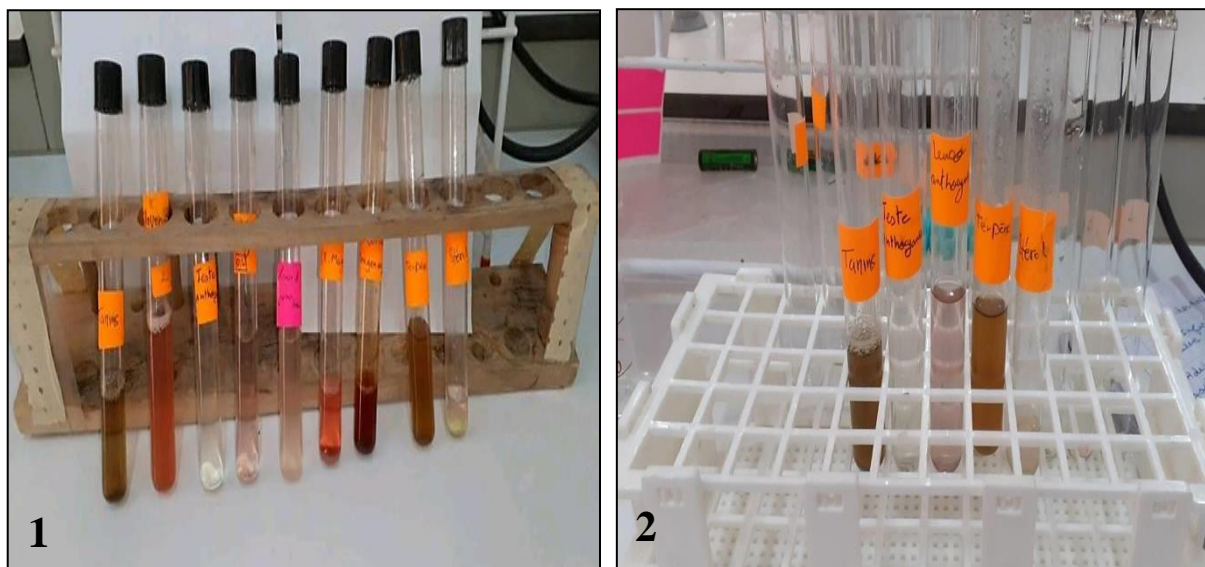


Figure 05: Exemples de résultats de réactions de mise en évidence de quelques composés du métabolisme secondaire de *Pergularia tomentosa* (1) et *Calotropis procera* (2).

Cette richesse en familles de composés polyphénoliques tels que les Tanins, Flavonoïdes, Anthocyanes, et aussi les Alcaloïdes et les Stérols nous montre la qualité biochimique supérieure des espèces végétales étudiées et par conséquent nous justifie l'usage traditionnel massif de ces espèces par la population de la région de Ghardaïa.

Les résultats obtenus sont plus ou moins comparables avec ceux obtenus dans les travaux de Belloum, Nani (2020) et Boulenouar (2011) pour la partie aérienne de *Pergularia tomentosa* dont la présence des flavonoïdes, les tannins et les alcaloïdes, et pour *Calotropis precera* par la présence de ces derniers métabolites, ainsi les stérols (Batool, H *et al*, 2020).

2.2. Rendement des extraits bruts

Les extractions brutes aqueuses des parties aériennes et souterraines des plantes étudiées par trois modes différents ; infusion, macération et décoction. Nous ont permis de calculer le rendement de chaque extrait. Le rendement, qui a été déterminé en mg/g de matière végétale sèche, est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R (\%) = (PEB / PMV) \times 100$$

Où :

R (%) : rendement en %.

PEB : poids de l'extrait.

PMV : poids de matière végétale.

Les valeurs obtenues sont indiquées dans la figure suivante (06):

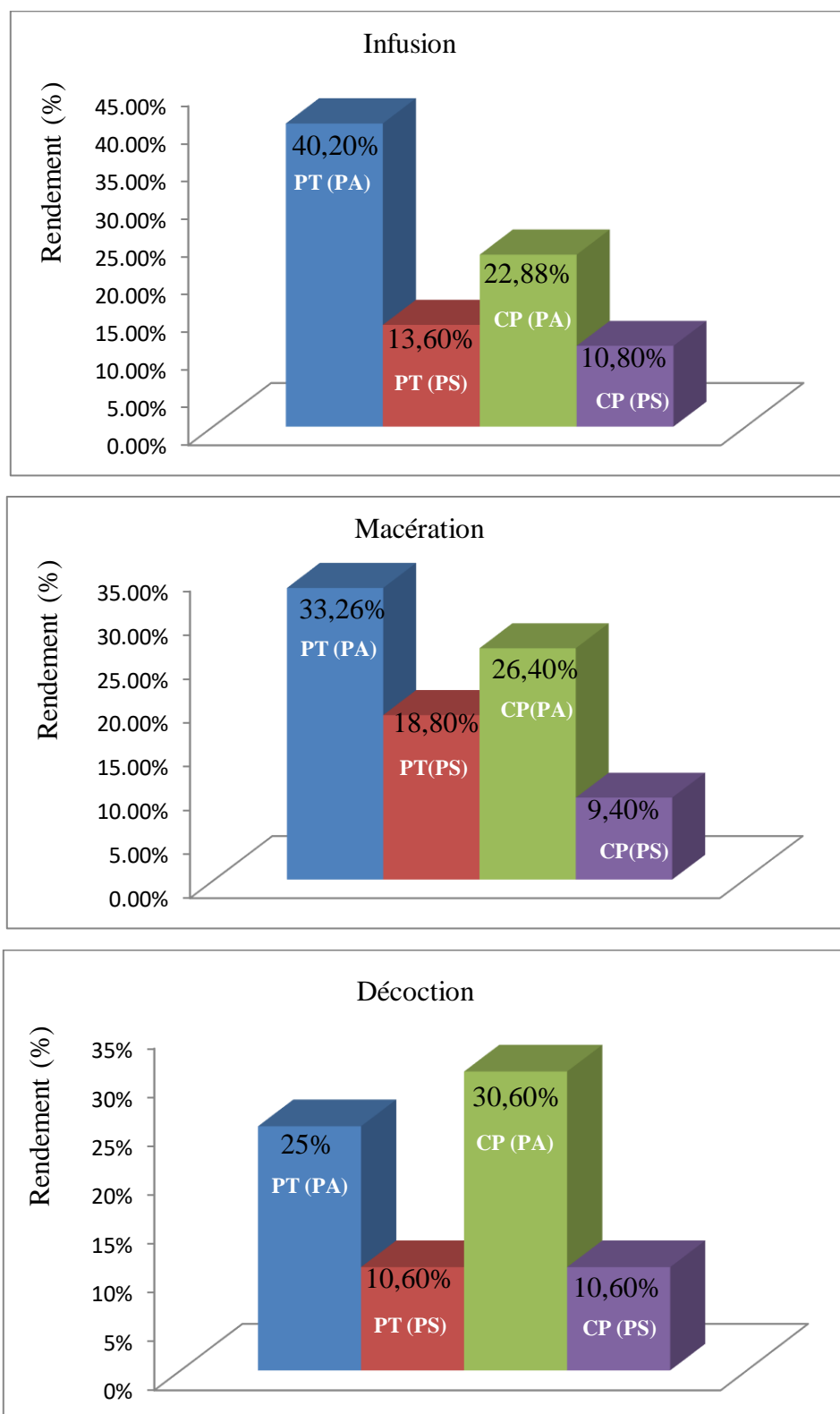


Figure 06 : Rendement en extraits (%) de la partie aérienne et souterraine des espèces étudiées. (PT : *Pergularia tomentosa*, CP : *Calotropis procera*, PA : Partie aérienne, PS : Partie souterraine).

A partir des résultats de la figure (06), les modes infusion et macération s'avèrent les meilleurs et cela est enregistré plus particulièrement pour la partie aérienne de l'espèce *Pergularia tomentosa* avec un grand rendement de l'ordre de 40.2 %. D'autre part, le mode décoction s'est montré bon qu'avec l'espèce *Calotropis procera* dont le rendement enregistré est supérieur à 30 %.

Les résultats obtenus avec l'espèce *Pergularia tomentosa* semblent être meilleurs par rapport à ceux obtenus dans les travaux de Lahmar *et al.*, (2017) et Tlili, (2021) dont le rendement enregistré était de l'ordre de 28,6 et 20,73 % respectivement. Cependant, Mohammedi (2013) a publié des résultats meilleurs que ceux obtenus dans notre étude où un rendement de plus de 60 % a été enregistré avec l'espèce *Calotropis procera*.

En se référant aux travaux de Ghedadba *et al.* (2014) et aussi avec un large panel de résultats publiés dans ce même contexte, les rendements en extraits bruts varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction de l'organe ou la partie végétale utilisée, les conditions environnementaux de la région, les conditions de séchage, le lieu de récolte, le mode utilisé, la nature du solvant choisi pour l'extraction et sa polarité (Do *et al.*, 2014), et également en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant ou mélange de solvants d'extraction (Bekro *et al.*, 2007 ; Mohammedi *et Atik*, 2011).

2.3. Teneur en polyphénols totaux

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits bruts aqueux de la partie aérienne et souterraine des espèces végétales *Pergularia tomentosa* et *Calotropis procera* qui ont fait l'objet de cette étude, sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MVS). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9943$ (fig. 07).

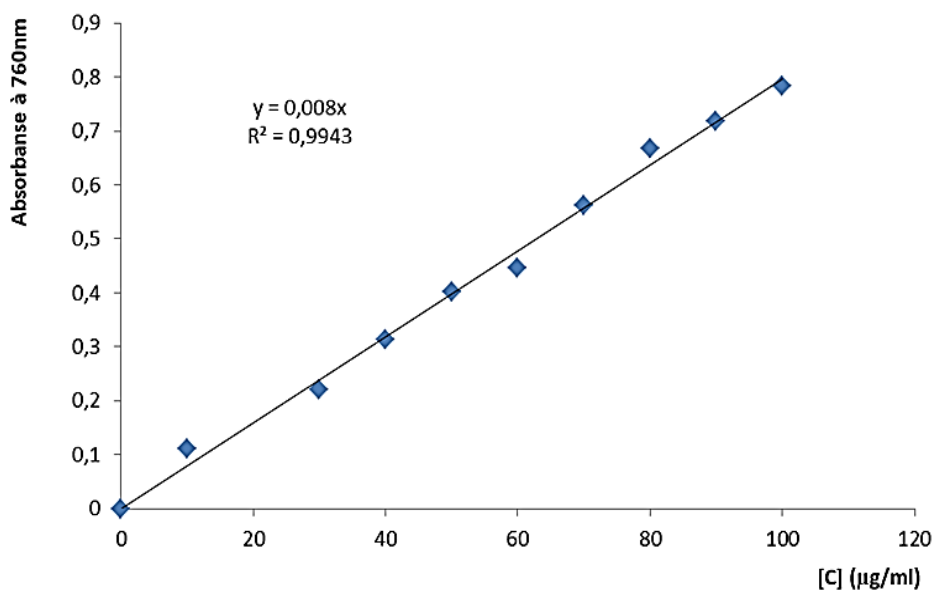


Figure 07 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

A partir de l'équation de régression linéaire de la figure 07, nous avons pu calculer la teneur en polyphénols totaux. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 02 suivant :

Tableau 02 : Teneur (mg EAG/ g MVS) en polyphénols totaux des extraits bruts aqueux.

Espèce		<i>Pergularia tomentosa</i>		<i>Calotropis procera</i>	
Mode	Partie	Aérienne	Souterraine	Aérienne	Souterraine
Infusion		105,85	8,42	227,75	203,70
Macération		283,17	257,82	351,81	277,66
Décoction		410,24	10,12	501,96	335,37

D'après ce tableau (02), il semble évident que la partie aérienne est plus riche en composés polyphénoliques que la partie souterraine et cela pour les deux espèces étudiées et même pour les trois modes de préparation adoptés avec une valeur maximale enregistrée de l'ordre de 501,96 mg EAG/ g MVS dans les extraits de décoction de la partie aérienne de l'espèce *Calotropis procera*.

Une valeur plus ou moins similaire a été enregistrée pour les extraits bruts obtenus par décoction de la partie aérienne de l'espèce *Pergularia tomentosa*, de l'ordre de 410,24 mg

EAG/ g MVS.

En général et par rapport à ce que nous avons obtenu, nous pouvons dire que le mode d'extraction peut agir sur l'évaluation de la teneur en métabolites secondaires notamment en composés polyphénoliques. D'ailleurs, il a été confirmé, dans plus études (Apak et al., 2007 ; Ali-Rachedi et al., 2018) que la teneur en polyphénols totaux peut s'augmenter lorsque la plante est mise ou cultivée dans des conditions difficiles ou plus ou moins défavorables et cela bien sûr dans le but de garder sa vie et pouvoir s'adapter ou survivre.

2.4. Pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant des extraits bruts aqueux obtenus par infusion, décoction et macération des parties aériennes et souterraines des espèces végétales étudiées, est évalué en mesurant les moyennes des valeurs des IC50 vis-à-vis du radical libre DPPH et des radicaux ABTS. Les valeurs de la concentration inhibitrice (IC50) correspondent à la quantité ou la concentration en mg ou en µg/ mL de l'extrait végétal nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres DPPH ou ABTS présents dans le mélange réactionnel. Les valeurs des IC50 des antioxydants de synthèse utilisés dans cette étude (trolox, acide gallique et acide ascorbique) sont également évaluées. Des valeurs d'IC50 élevées indiquent une faible activité antioxydante.

2.4.1. Test de DPPH : Effet inhibiteur du radical libre stable DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

A partir des figures ci-dessous (fig. 08) de la courbe d'étalonnage du trolox, acide gallique et acide ascorbique et des courbes des extraits bruts aqueux des deux plantes (fig. 09 et 10) et à partir des équations de régression linéaire, nous avons pu calculer les différentes valeurs d'IC50 du pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical libre DPPH. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-dessous (tab. 03).

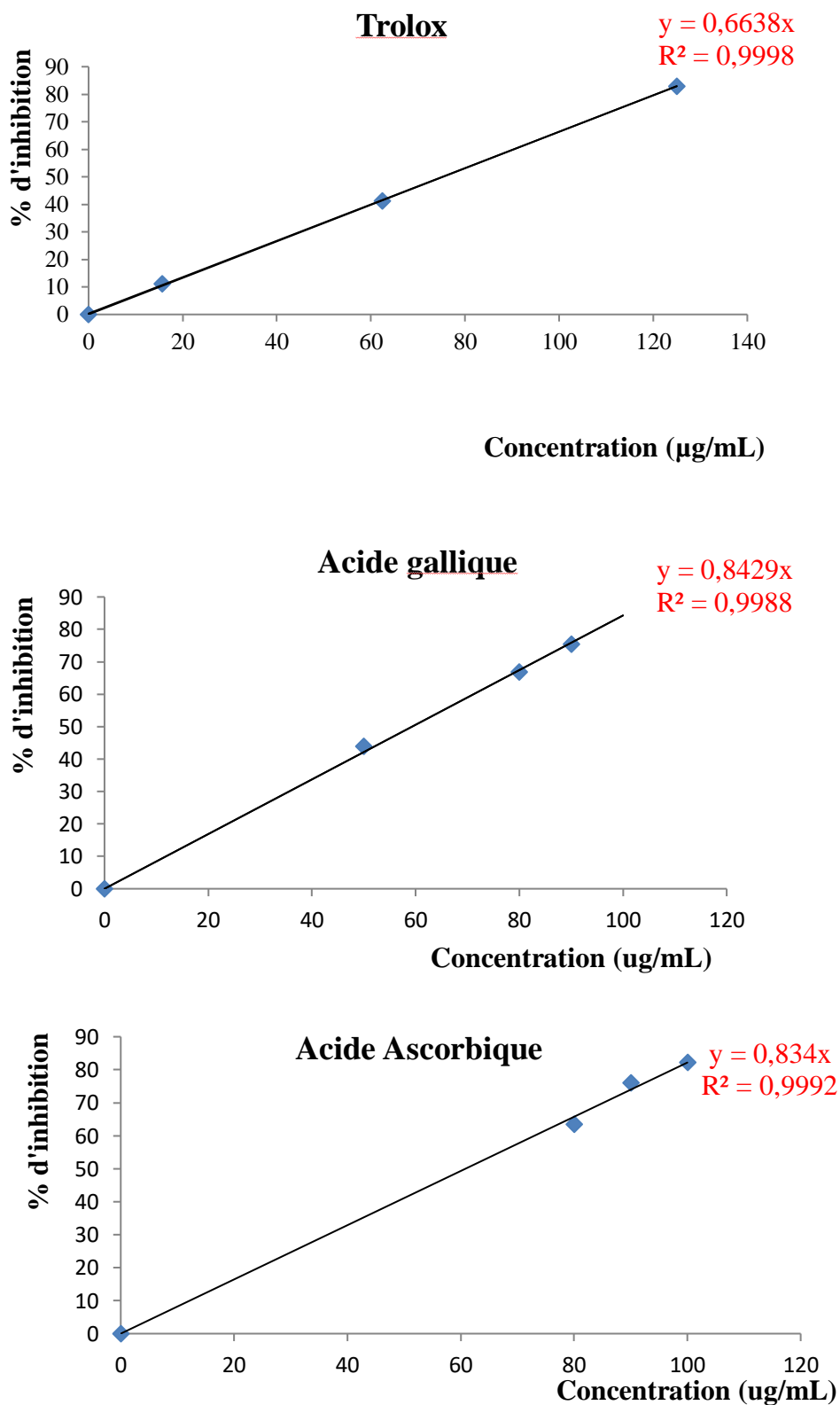


Figure 08 : Courbe d'étalonnage des antioxydants de synthèse Trolox, Acide gallique et Acide ascorbique (pour DPPH).

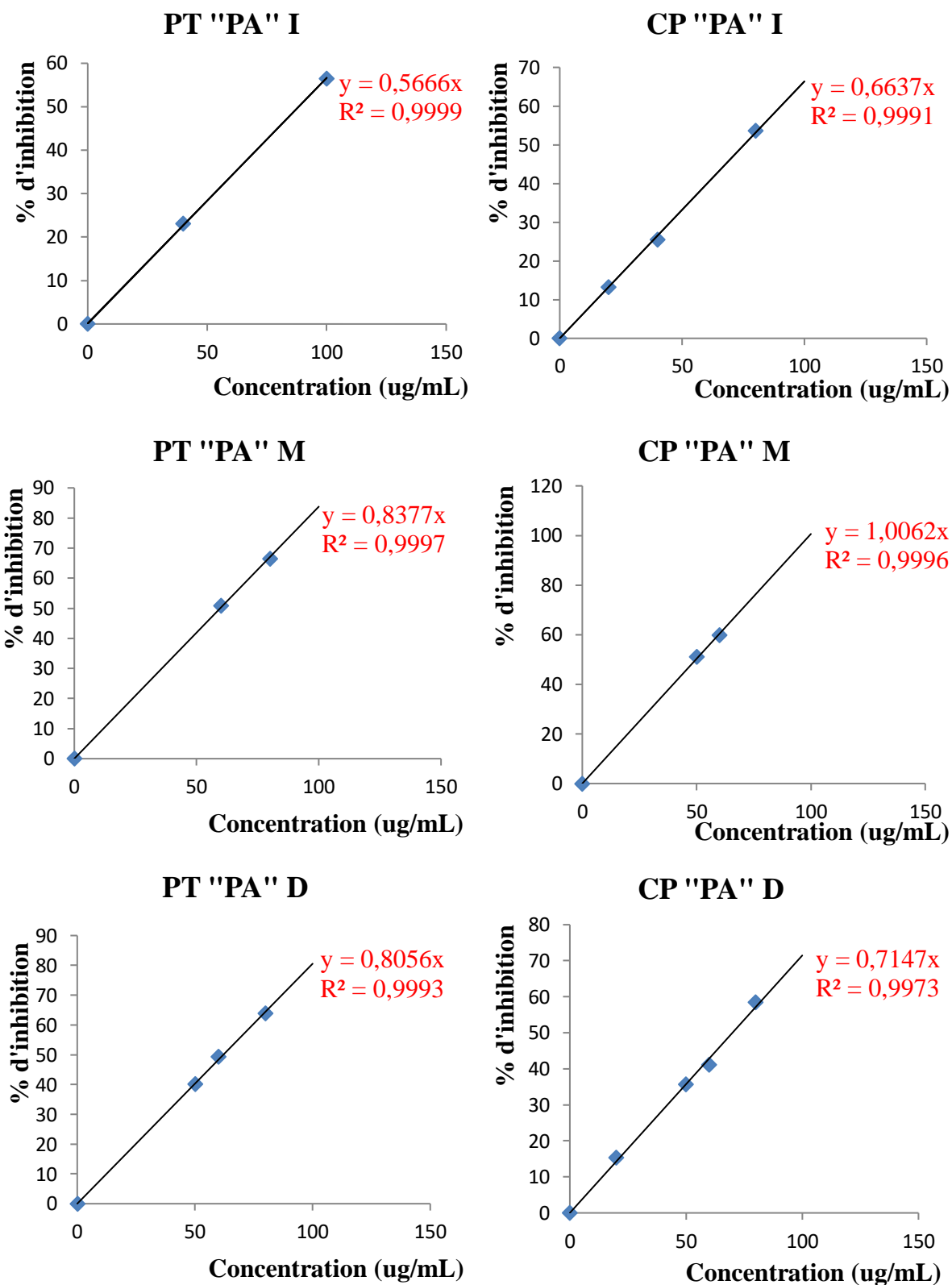


Figure 09 : Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, PA : Partie aérienne, PT : *Pergularia tomentosa*, CP : *Calotropis procera*).

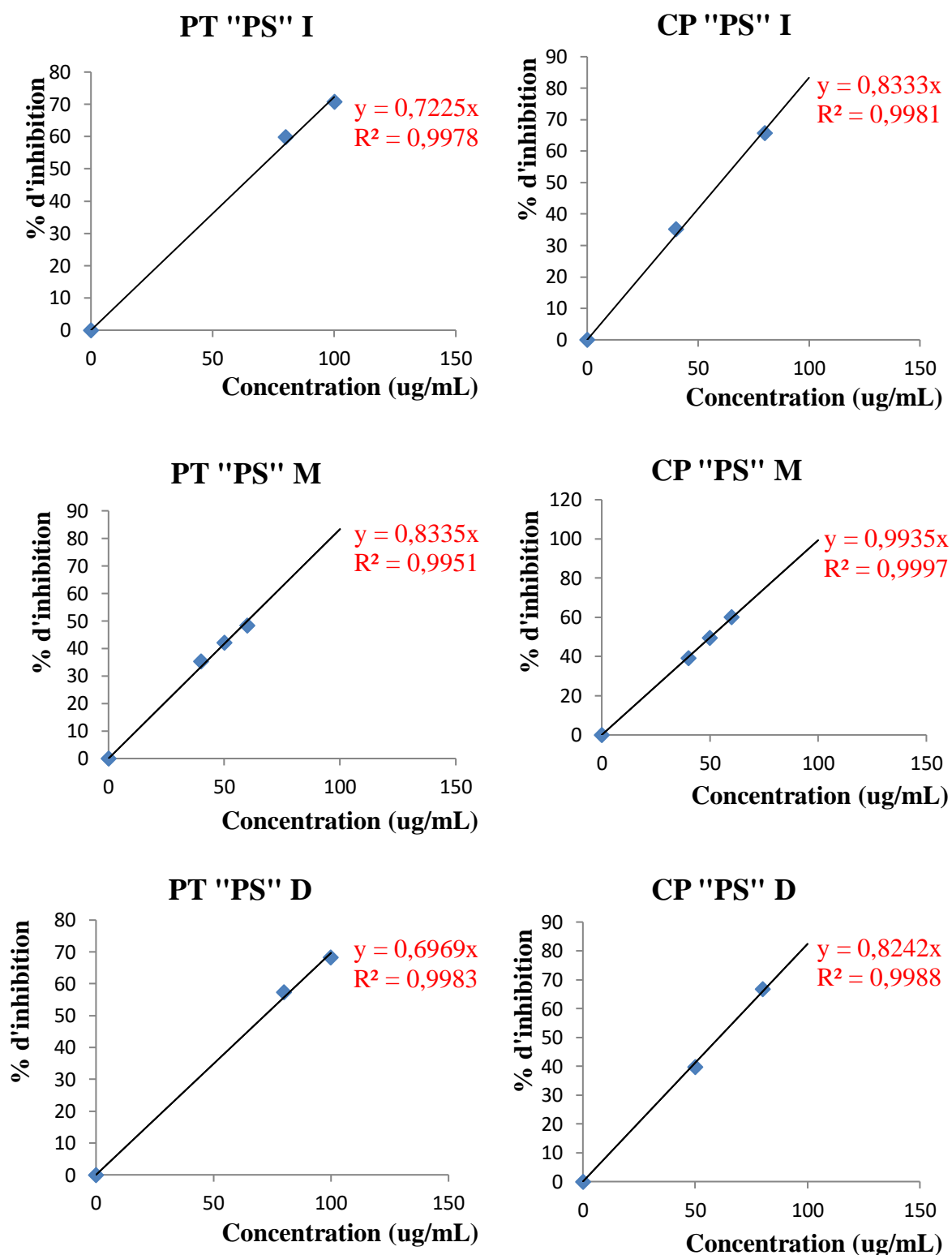


Figure 10 : Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, PS : Partie racinaire (souterraine), PT : *Pergularia tomentosa*, CP : *Calotropis procera*).

D'une manière générale, les extraits de la partie aérienne et souterraine ont montré une divergence dans les résultats obtenus avec une priorité de l'extrait brut aqueux obtenu par macération de la partie aérienne de l'espèce *Calotropis procera* dont la valeur d'IC50 est meilleure que celles du trolox, de l'acide gallique et l'acide ascorbique et est de l'ordre de 49.691 µg/ mL.

Tableau 03 : Résultats globaux des IC50 (µg/ mL) du pouvoir antioxydant (test de DPPH) des extraits des espèces étudiées.

Espèce végétale	Partie utilisée	Mode	IC50
<i>Pergularia tomentosa</i>	Partie Aérienne	Infusion	88.245
		Décoction	62.065
		Macération	59.687
	Partie Souterraine	Infusion	69.204
		Décoction	71.746
		Macération	59.988
<i>Calotropis procera</i>	Partie Aérienne	Infusion	75.335
		Décoction	69.959
		Macération	49.691
	Partie Souterraine	Infusion	60.002
		Décoction	60.664
		Macération	50.327
Trolox			75.41
Acide gallique			59.319
Acide ascorbique			59.952

2.4.2. Test de l'ABTS :

A partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage des produits de référence (trolox, acide gallique et acide ascorbique) (fig. 11) et celles des courbes des extraits bruts obtenus par les trois modes de préparation (fig. 12 et 13), nous avons calculé les valeurs d'IC50 de la capacité antioxydante vis-à-vis des radicaux ABTS ou activité antioxydantes totale AAT des extraits de la partie aérienne et souterraine des deux espèces étudiées de la région de Ghardaïa au Sahara septentrional algérien. Les résultats globaux sont indiqués dans le tableau ci-dessous (tab. 04).

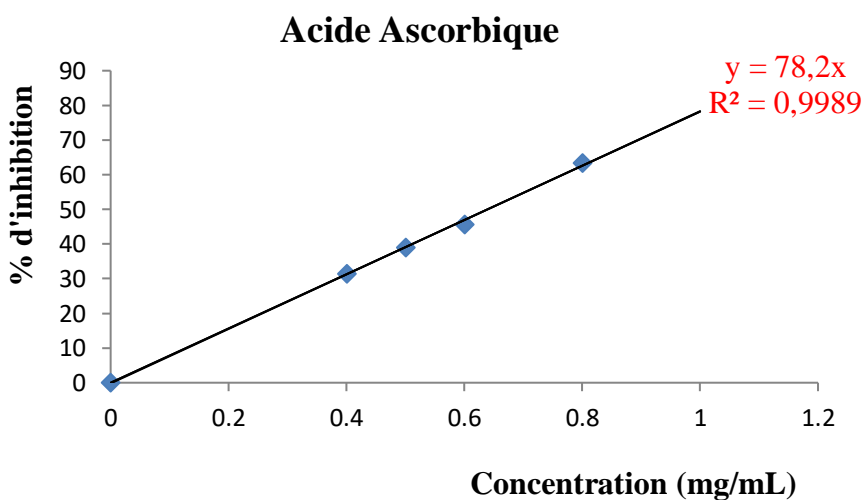
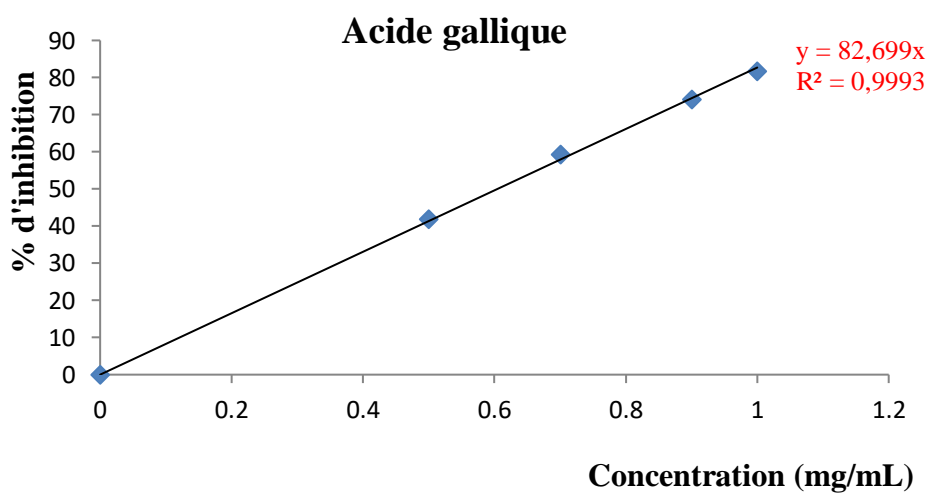
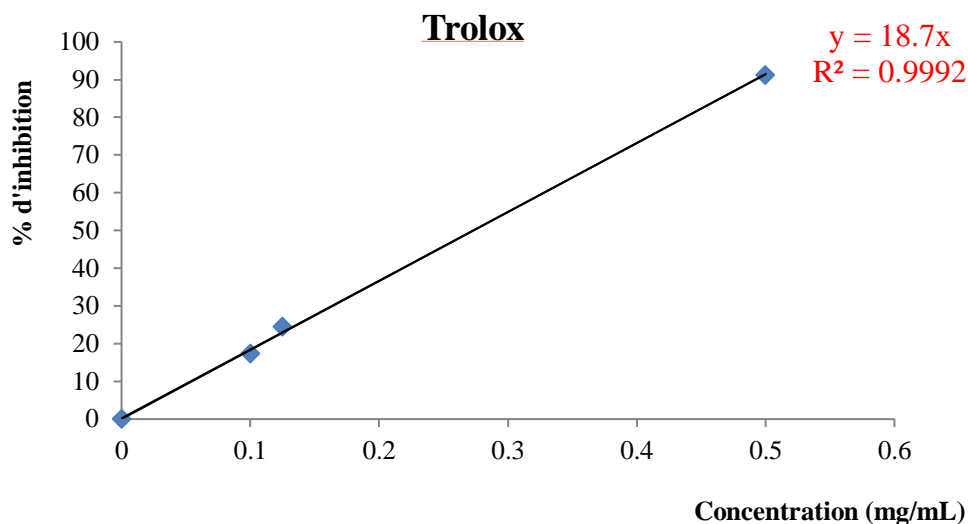


Figure 11 : Courbe d'étalonnage des antioxydants de synthèse Trolox, Acide gallique et Acide ascorbique (pour ABTS).

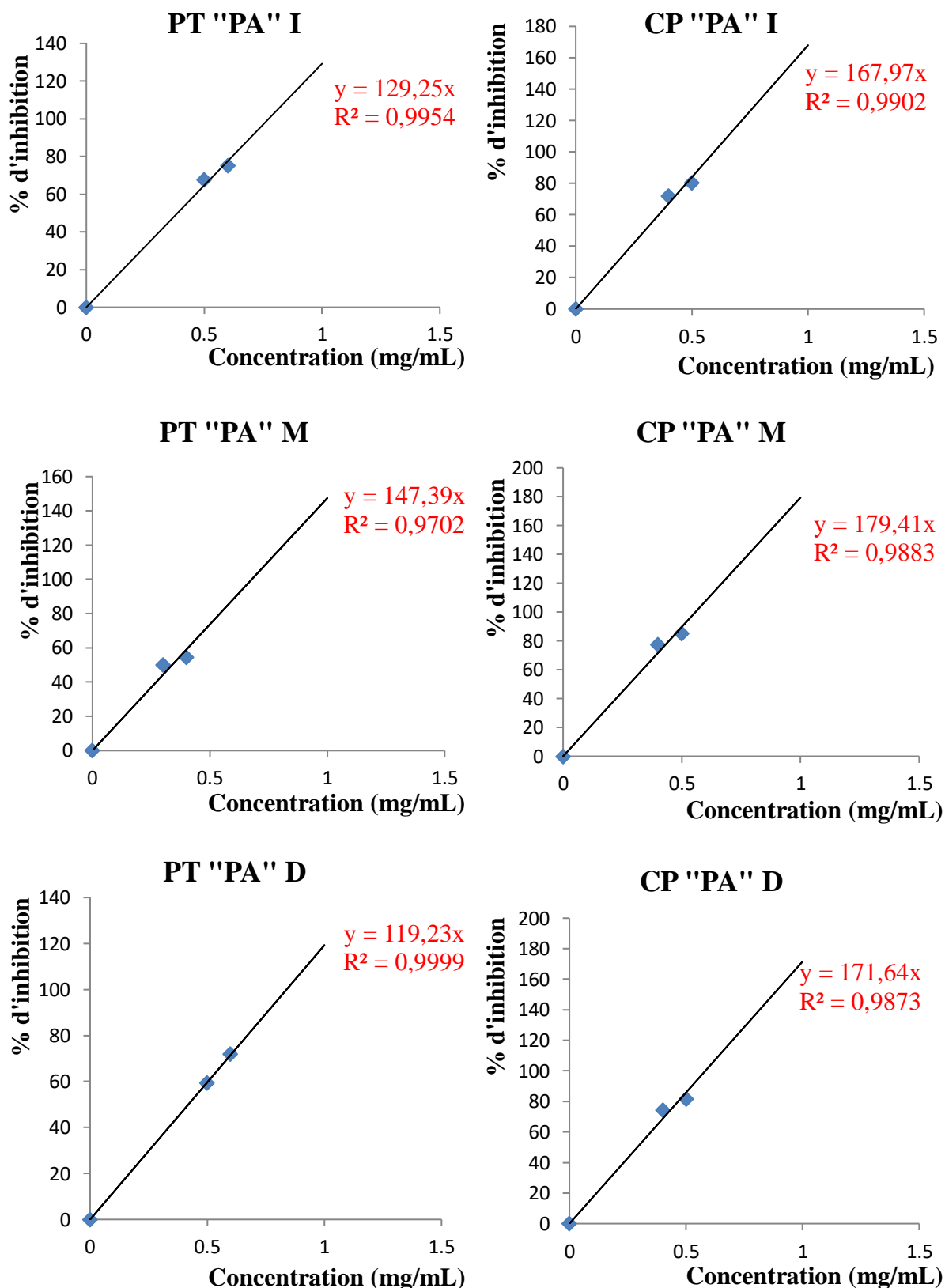


Figure 12 : Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test d'ABTS) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, PA : Partie aérienne, PT : *Pergularia tomentosa*, CP : *Calotropis procera*).

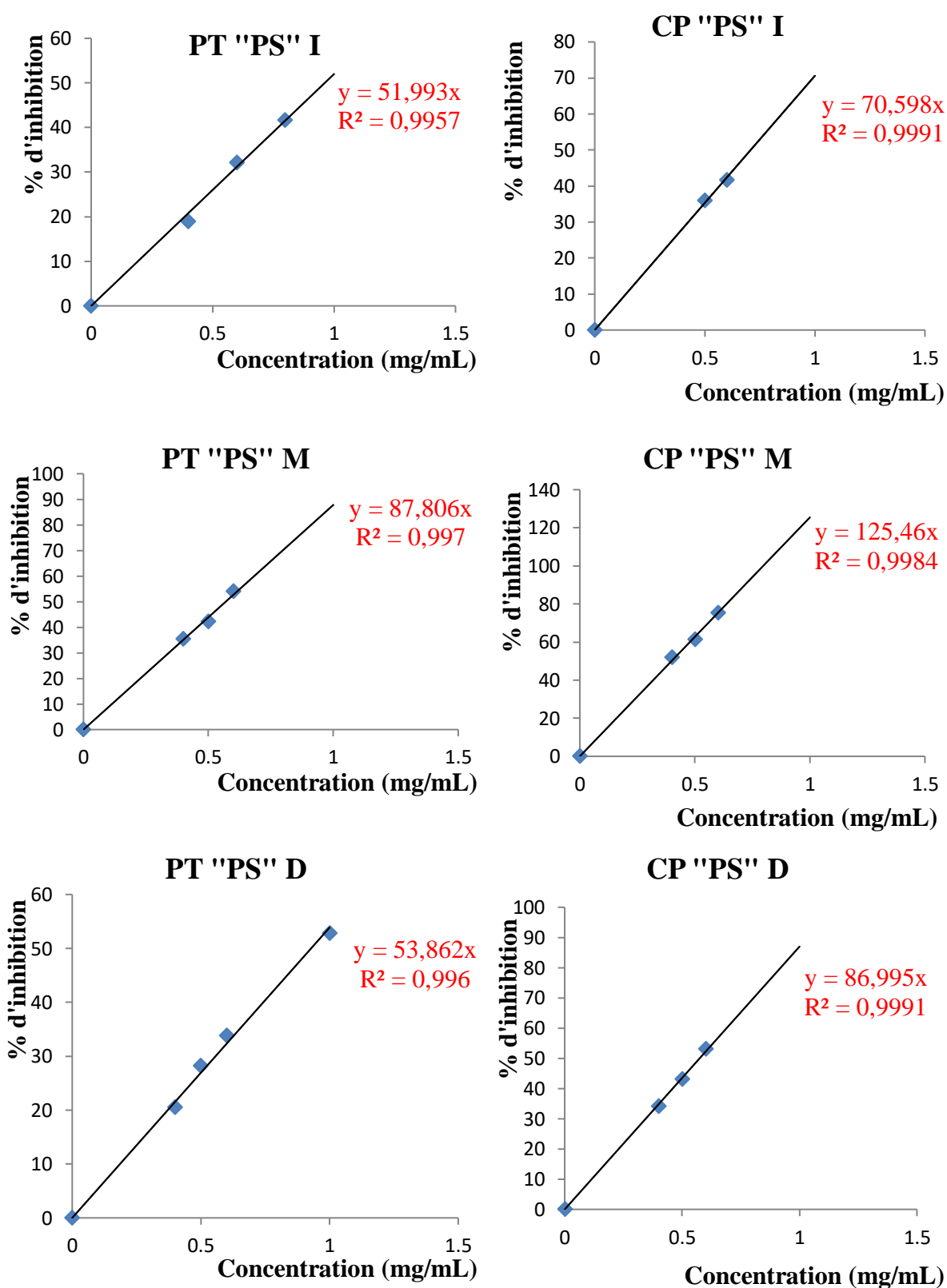


Figure 13 : Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test d'ABTS) des extraits bruts aqueux des espèces étudiées. (D : décoction, I : Infusion, M : Macération, PS : Partie racinaire (souterraine), PT : *Pergularia tomentosa*, CP : *Calotropis procera*).

D'une manière générale et pour ce qui est du test de l'ABTS, les extraits de la partie aérienne et souterraine ont montré également une divergence dans les résultats obtenus avec une priorité de l'extrait brut aqueux obtenu par macération de la partie aérienne toujours de l'espèce *Calotropis procera* dont la valeur d'IC50 est plus faible est donc meilleure que celles obtenus en présence du trolox, de l'acide gallique et l'acide ascorbique et est de l'ordre de 0.278 mg/ mL.

Tableau 04 : Résultats globaux des valeurs d'IC50 (mg/ mL) du pouvoir antioxydant (test de l'ABTS) des extraits bruts des espèces étudiées.

Espèce végétale	Partie utilisée	Mode	IC50
<i>Pergularia tomentosa</i>	Partie Aérienne	Infusion	0.386
		Décoction	0.419
		Macération	0.339
	Partie Souterraine	Infusion	0.961
		Décoction	0.928
		Macération	0.569
<i>Calotropis procera</i>	Partie Aérienne	Infusion	0.297
		Décoction	0.291
		Macération	0.278
	Partie Souterraine	Infusion	0.708
		Décoction	0.574
		Macération	0.398
Trolox			2.673
Acide gallique			0.604
Acide ascorbique			0.639

En bref, et à partir de la plupart des résultats obtenus, les extraits bruts aqueux de la partie aérienne et souterraine des deux espèces végétales étudiées avec les trois modes de préparation dans la région de Ghardaïa ont présenté un très fort pouvoir antioxydant vis-à-vis du radical libre DPPH et dans la réduction des radicaux libres ABTS.

Par comparaison des résultats obtenus des deux tests DPPH et ABTS, l'espèce *Calotropis procera* s'est montrée meilleure avec les extraits bruts aqueux de sa partie aérienne et plus particulièrement avec le mode macération. Cela est probablement lié à la complexité des extraits bruts aqueux, notamment ceux qui sont obtenus par macération à froid, en

substances polyphénoliques y compris les tanins, flavonoïdes et les anthocyanes et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante (Vermerris et Nocholson, 2006).

Pour ce qui est du test DPPH, les résultats obtenus révèlent que les extraits bruts de la partie aérienne sont très actifs et présentent des activités antioxydantes élevées. Ce résultat est aussi signalé par Bettaieb *et al.* (2017) qui a montré que l'activité antiradicalaire a des variations significatives en fonction de l'organe ou de la partie végétale utilisée. Nos résultats sont aussi meilleurs que ceux de Bouhamdi (2012) à propos des extraits de la partie aérienne de *Pergularia tomentosa*, dont la valeur enregistrée d'IC50 est de 1.782 mg/ mL. Quant à l'espèce *Calotropis procera*, les résultats obtenus dans notre étude sont parfaitement meilleurs que ceux enregistrés par Belalem *et al.* (2019) sur la même espèce végétale avec une valeur d'IC50 de l'ordre de 0.014 g/ L.

D'autre part et concernant la capacité antioxydante vis-à-vis des radicaux libres ABTS, diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturels à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres : la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule.

La différence enregistrée dans nos résultats peut être expliquée par la différence du potentiel ou pouvoir antioxydant des extraits qui dépend non seulement de la concentration des composés polyphénoliques mais aussi de leurs structures ; c'est le concept de la «relation structure-activité» et de la qualité de ces composés polyphénoliques (Rached, 2009). En outre, des études antérieures faites sur l'espèce *Pergularia tomentosa* de différentes régions, ont pu enregistrer des pouvoirs antioxydants différents. De ce fait, nous pouvons dire que l'activité antioxydante dépend fortement de la région où se trouve l'espèce (Tlili, 2015).

Par ailleurs, les extraits bruts aqueux des deux plantes étudiées notamment celui obtenu par macération de *Calotropis procera*, a présenté le plus fort pouvoir antioxydant pour les deux tests DPPH et ABTS. Cela s'explique probablement par la richesse de l'extrait brut aqueux en composés, ayant une forte activité d'élimination des radicaux libres, qui sont plus solubles et plus extractibles avec de l'eau que dans d'autres solvants qui sont certainement moins polaires.

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physicochimiques influençant l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010 ; Mahmoudi *et al.*, 2013). Entre outre, la

solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé (Garcia-Salas *et al.*, 2010 ; Jokic *et al.*, 2010).

Ces effets antioxydants pourraient devenir potentiellement intéressants après optimisation des conditions d'extraction, séparation et d'augmentation de la concentration. En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Javanovic *et al.*, 1994). Cette différence dans les tous les résultats obtenus s'explique probablement par l'influence de plusieurs facteurs sur la qualité et la quantité des composés du métabolisme secondaire de la plante et par conséquent leur potentiel antioxydant. Ces facteurs sont en principe climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, type de microclimat et aussi l'étage bioclimatique, etc. (Atmani *et al.*, 2009), patrimoine génétique (El-Waziry), période et moment de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas *et al.*, 2004) et même aux conditions opératoires de l'expérimentation (solvant d'extraction polaire ou apolaire, quantité de matière végétale, sèche ou fraîche, température et temps d'extraction, et même aux techniques d'extraction) (Lee *et al.*, 2003).

Conclusion générale

Conclusion générale et perspectives

Le sud algérien a une richesse en plantes médicinales qui ont des composants de valeurs thérapeutiques. Elles ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines.

Le criblage phytochimique réalisé sur les parties aériennes des deux plantes étudiées *Pergularia tomentosa* et *Calotropis procera*, a révélé la présence des tanins, flavonoïdes, anthocyanes et des terpènes. L'extraction par macération, infusion et décoction de la poudre des deux espèces étudiées nous a permis d'obtenir des rendements assez élevés en extraits bruts aqueux avec un maximum de l'ordre de 40,20 % dans la partie aérienne de l'espèce *Pergularia tomentosa* (par infusion).

Quant à l'activité antioxydante évaluée par les tests *in vitro*, les extraits bruts aqueux de la partie aérienne de l'espèce *Calotropis procera* ont présenté le plus fort pouvoir de piégeage du radical libre DPPH et la plus grande capacité antioxydante dans la réduction des radicaux libres ABTS avec des valeurs faibles d'IC50 de l'ordre de 49,691µg/ml et 0,278 mg/ mL respectivement.

En général, on peut conclure que les extraits bruts aqueux des deux espèces semblent être très prometteurs quant à leur pouvoir antioxydant. Des applications *in situ* dans le traitement des maladies dues à certains radicaux libres peuvent être envisagées.

Nos perspectives pour l'avenir se résument en ce qui suit :

Approfondir les études concernant la séparation, purification, identification et la caractérisation des principes actifs de ces extraits du point de vue qualitatif et quantitatifs.

Evaluer *in vitro* d'autres activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antidiabétique, anti-Alzheimer, anti-cancéreuse...

Références bibliographiques

Référence bibliographique

- Adouane M., Haddadi M., Benamrane N., Touafek K, Khelifa A., Tabet I. Evaluation de l'influence de l'inclinaison des modules photovoltaïques sur la production d'énergie d'un système hybride. *Revue des Energies Renouvelables SIENR Ghardaia*. (2014) ; 14 : 87-92.
- Ali-Rachedi F., Meraghni S., Touaibia N. et Sabrina M., (2018)- Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 87 : 13 -21.
- ANDI, (2013a). Agence Nationale de Développement de l'investissement. Wilaya de Ghardaia.
- ANIRF, (2011a). Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière. Rubrique Monographie Wilaya (Wilaya Ghardaia).antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse en chimie organique.
- Anton A. A., Ross K. A., Lukow O. M., Fulcher R. G., Arntfield S. D. Influence of added bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.) on some physical and nutritional properties of wheat flour tortillas. *Food Chemistry*. (2008); 109: 33-41.
- Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S.E., Bektaşoğlu B., Berker K.I. et Özyurt D., (2007)- Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12 : 1496-1547.
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*. (2009); 112:303-309.
- Batool, H., Hussain, M., Hameed, M., & Ahmad, R. (2020). A review on *Calotropis procera* its phytochemistry and traditional uses. *Big Data Agric*, 2, 29-31.
- Bekro Y. A., Mamyrbekova J. A., Boua B., Fezan H., Ehouan E. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences and nature*. (2007); 4: 217- 225.
- Belalem M A., Labed B ., Darraji H., Bouhrira A., Reggani1 A., Kebbab R M., Boutammine S R., (2019)- STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FLAVONOIC EXTRACT OF A MEDICINAL PLANT (CALOTROPIS PROCERA) OF AHAGGAR.

- BELLOUM, Nawal. NANI, Nedjwa. (2020). Contribution à l'étude phytochimique de racine de *Pergularia tomentosa* L. dans la région d'El Oued. Université Echahid Hamma Lakhdar, EL OUED, 37 p.
- Bensaha H. et Arbouch R. Impact de la dynamique de l'agriculture et ses Oued. Université Echahid Hamma Lakhdar, EL OUED, 37 p.
- Bettaieb, R. et al. (2017). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentate* extracts. *Journal of new sciences. Agriculture and Biotechnology*. 39(2). 2096-2105.
- Boizot N. et Charpentier J. P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques. *Cahier des Techniques de l'INRA. Institut national de la recherche agronomique Science et Impact, Paris. (2006); 80p.*
- Bouhamdi, A. (2012). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de *Pergularia tomentosa* L. de la région d'Adrar. Mémoire de Master en Biochimie appliqué. Université Abou-Bekr Belkaid. Tlemcen. 57 p.
- BOULENOUAR N. Substances naturelles à visée antifongique cas particulier des polyphénole Mémoire Doctorat, Université d'Oran, (2011). 182 ; 108-120.
- Bouquet A. Plantes médicinales du Congo-Brazzaville. Edition de l'office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer, paris. (1972); 110 p.
- Bouzid, A., Chadli, R., Bouzid, K. (2016). Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie* 15 (6), 373-378.
- Chehema, A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien. Ed. Dar Elhouda. Ain M'lila. 137p.
- Chenini N. et Chabou S. Evaluation du potentiel géothermique dans la région de Ghardaia. *Revue des Energies Renouvelables SIENR*. 2012 ; 12 : 307-312.
- Dih, A., & Belguendouz, A. (2017). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des alcaloïdes extraits d'*Osyris alba* L, récoltée au niveau de la région de Beni-Snousse. Tlemcen. Mémoire de Master en biologie. Université Abou-Bekr Belkaid. Tlemcen. 39 p.
- Do Q.D., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L., Huynh L.H., Soetaredjo F.E., Ismadji S. et Ju Y.H.,(2014)-Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug Analysis*, 22 :296-302.

- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Bodoc A., Gmira N. Screening phytochimique d'une endémique Ibero-marocain, *Thymelaea lytroides*, Bull. Société de Pharmacie de Bordeaux. 2003 ; 142: 61- 78.
- Duranton Jean-François, Antoine Foucart, Pierre-Emmanuel Gay avec la collaboration de Michel Arbonnier , 2012 . Florule des biotopes du Criquet pèlerin en Afrique de l'Ouest et du Nord-Ouest à l'usage des prospecteurs de la lutte antiacridienne.
- El-Waziry A.M.; Nutritive value assessment of ensiling or mixing Acacia and Atriplex using in vitro gas production technique; Res. J. Agric. Biol. Sci. 3(6): 605-614.
- FELLOUS, A. (2003). la station d'élevage de la Gazelle dorcas (*Gazelle dorcas*) dans le sudouest algérien. *IIème Séminaire Antilopes Sahelo Saharienne*, 1-5 mai 2003, Agence Nationale pour la Conservation de la Nature, Agadir Maroc. 7p.
- Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernandez –Gutiérrez A. PhenolicCompound-Extraction systems for fruit and vegetable samples.Molecules. (2010); 28: 206-212.
- Ghedadba N., Hambaba L., Aberkane M. C., Oueld-Mokhtar S. M., Fercha N., Bousselsela H. Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. Algerian Journal of Natural Products. (2014); 2: 64-74.
- Gohar, A.A.; EL-Olemy, M.M.; Abdel-Sattar, E.; El-Said, M. et Niwa, M. (2000). Cardenolides and β -SitosterolGlucoside from *Pergularia Tomentosa*. L. Naturel productScience. 6(3): 142-146.
- Guignard, B., Bossard, A. E., Coste, C., Sessler, D. I., Lebrault, C., Alfonsi, P., ... & Chauvin, M. (2000). Acute opioid tolerance: intraoperative remifentanil increases postoperative pain and morphine requirement. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 93(2), 409-417.
- Hammiche V, Maiza K (2006). Traditional medicine in central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili n'Ajjer. *J Ethnopharmacol* 105: 358–67.
- Harborne J. B. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. Chapman and Hall Ltd, London. 1973; 278p.
- Hatzidimitriou E., Nenadis N., Tsimidou M. Z. Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. *Food Chemistry*. (2007); 105: 1504-1511.

- Javanovic S. V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M. J. Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*. (1994); 116: 4846-4851.
- Jokic S., Velic D., Bilic M., Bucic-Kojic A., Planinic M., Tomas S. Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from Soybeans. *Czech journal of food sciences*. (2010); 28: 206-212.
- Judd, L. L., Akiskal, H. S., Schettler, P. J., Endicott, J., Maser, J., Solomon, D. A., ... & Keller, M. B. (2002). The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Archives of general psychiatry*, 59(6), 530-537.
- KEMASSI, A. et al. (2014). Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien), *Journal of Advanced Research in Science and Technology*. 1(1) : 1-5.
- Koffi E., Sea T., Dodehe Y., Soro S. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three ivoirien plants. *Journal of animal and plant sciences*. (2010); 5: 550-558.
- Kumar, A., Kumar, P., & Nadendla, R. (2013). A review on: *Abelmoschus esculentus* (Okra). *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*, 3(4), 129-132.
- Lahmar I., Belghith H., Ben Abdallah F. et Belghith K., (2017)- Nutritional composition and phytochemical, antioxidative, and antifungal activities of *Pergularia tomentosa* L. *BioMed Research International*, Article ID 6903817, 9 Pages.
- Lee K.W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee C.Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2003); 51: 7292-7295.
- Li Y., Lopez P., Durand P., Ouazzani J., Badet B., Badet-Denisot M. A. An enzyme-coupled assay for amidotransferase activity of glucosamine-6-phosphate synthase. *Analytical Biochemistry*. (2007) ; 370: 142-146.
- Maiza K, Smati D, Brac de la Perrière RA, Hammiche V (2006) Médecine traditionnelle au Sahara Central: Pharmacopée de l'Ahaggar. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines* 19: 141–56.
- Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'Artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue «Nature and technologie»*. B-Science agronomiques et biologiques. (2013) ; 9 : 35-40.

- Majhenic L., Skerget M., Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. (2007) ; 104: 1258-1268.
- Miliauskas G., Venskutonis P. R., Van Beek T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food Chemistry*. (2004); 85: 231-237.
- Mohammedi Z. et Atik F. Impact of Solvent Extraction Type on Total Polyphenols Content and Biological Activity from *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. (2011); 2: 609-615.
- Mohammedi, Z. (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 160 p.
- Mohr, N., Budzi, K.H., Tawil, B.A.H. (1982). *Phytochemistry*,7(9).
- Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3ème édition. CNRS. paris. 661 p.
- Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Saavedra G., Murcia G. S., Jiménez A. M., Codina C. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*. (2003); 73: 1667-1681.
- Pierre M., Lis .M., (2007). *Secrets des plantes*. Editions Artemis, Paris 1: 463.
- Prior R. L., Wu X., Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Agricultural and food chemistry*. (2005) ; 53: 4290-4302.
- Rached, W. (2009). Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran Es-Sénia, 122p.
- Raghav, S.K., Gupta, B., Agrawal, C., Goswami, K., Das, H.R. (2006). Anti-inflammatory effect of *Ruta graveolens* L. in murine macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 104: 234-239.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. *Free Radical Biology et Medicine*. (1999); 26: 1231-1237.
- Rimjhim S., Kumari N., Jainendra K. Preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Clerodendron infortunatum*. *International organization of scientific research*. (2014); 7: 10-13.

- Salah N., Miller N. J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G. P., Rice-Evans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of biochemistry and biophysics*. (1995) ; 322: 339-460.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A., Saura-Calixto F. A. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the science of food and agriculture*. (1998); 76: 270-276.
- Schlesier K., Harwat M., Böhm V., Bitsch R. Assessment of antioxidant activity by using different in Vitro methods. *Free radical research*. (2002); 36: 177-187.
- Singleton V. L et Rossi J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American journal of enology and viticulture*. (1965); 16: 58- 144.
- Sofowera A., (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique*. Karthala, Economie et Développement. Paris: 384.
- Solfo R. *Etude d’une plante médicinale malgache Buxus Madagascarica Baill*. Edition de l’office de la recherche scientifique et technique d’outre-mer, Paris. 1973 ; 90 p.
- Svoboda, K., Svoboda, T. (2000). *Secretory structures of aromatic and medicinal plants*. Microscopix Publications. p 7-12.
- Tlili M L., (2021). *Contribution à la caractérisation structurale et biologique de quelques principes actifs extraits de deux plantes médicinales du Sahara Algérien *Salvia chudaei* (Lamiaceae) et *Pergularia tomentosa* (Asclepiadeceae)*. Thèse de doctorat. Université de Kasdi Merbah. Ouargla. 168p.
- Tlili, M. L. (2015). *Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de Pergularia tomentosa issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional)*. Mémoire de Magister en Biologie. Université Kasdi Merbah. Ouargla. 86 p.
- Tumbas V. T., Cetkovic G. S., Djilas S. M., Canadanovic-Brunet J. M., Vulic K., Zeljko K. J., Skerget M. (2010). Antioxydant activity of mandarin (citrus reticulate) Peel. *Biblid* 40:195-203. Université Paul Verlaine-Metz. 296p.
- Vermerris W. et Nicholson R. *Phenolic compound chemistry*. Springer, Allemand. 2006; 1-70 pp.
- Yi-Zhong C., Mei S., Jie X., Qiong L., Harold C. Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*. (2006); 78: 2872- 2888.

Site internet:

-Copyright France : <http://d-maps.com>.