République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université de Ghardaïa



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

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques **Spécialité :** Biochimie appliquée

Par: M^{lle} BOUKHLIFA Roumaissa

M^{lle} AMRANE Hana

Contribution à l'Étude Phytochimique et Évaluation de l'Activité Antioxydante de Deux Plantes Aromatiques dans la Région de Ghardaïa au Sud Algérien

Soutenu publiquement, le 15/06/2022, 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. BELHACHEMI. M. H. Maître de Conférences B Univ. Ghardaia Examinateur

Année universitaire: 2021/2022

Remerciement

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 exprimons nos sincères remerciements à M. BELGUIDOUM Mahdi, Maître de Conférences B, au département de la Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de Ghardaïa, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de notre mémoire.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur, M. BENKHERARA Salah, Maitre de Conférences A, au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre à l'université de Ghardaïa, qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ses Directives et Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements à M. BELHACHEMI Mohammed Habib, Maitre de Conférences B, au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de Ghardaïa, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Un grand merci est adressé aux techniciens de laboratoire : BEN HAMOUDA Hicham, MOULAY AMAR Ali, Ahlem.

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, on remercie tous ceux, de près ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie se modeste travaille à ceux qui, quels que soient les termes embrassé, je n'arriverais jamais à leur exprimé mon amour sincère.

A la semme qui a souffert sans me laisse souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse ma précieuse mère kailali hakima mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé merci d'avoir toujours été là pour moi sans toi je ne serai pas qui je suis, que dieu te protégé et te garde pour nous le plus longtemps possible.

A mes sœurs Hounaida et Lyna et mon frère Tarek pour l'amour qu'ils me réservent aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragement, je vous souhaite beaucoup de bonheur et plein de succès dans votre vie, que dieu vous garde et vous protège.

À mon chère binôme Amrane hana pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long ce travail.

Sans oublie mes amis et mes chères copines : Hadjer et Nour el houda pour leurs soutiens moral et leurs encouragements, je vous souhaite plus de succès dans vos vies que dieu vous gardes.

Roumaissa



À l'aide de dieu "Allah" tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail.

Que je dédie :

À ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde.

Mon père Abdelmadjid et ma mère Nadjet, qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas le bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés leurs appuis durant toutes mes années d'études, pour ses sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

À mes chers frères Abderrahmane, Abdellah, Mohamed et ma chère sœur Khadidja, que ce travail soit pour vous un exemple à suivre et vous incite à mieux faire.

À mes grandes mères pour leur douceur et leur gentillesse.

A mes oncles et tantes, pour le soutien et les conseils qui m'apporter.

À mes chères Soundousse et Amani et Hasna pour leur immense amour, leur soutien et encouragement.

À ma chère binôme Roumaissa, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long ce travail.

À toute ma famille et mes amis qui mon soutenu d'une manière ou d'une autre.

Hana

Résumé

Cette étude a pour objectif de vérifier la spécificité de deux espèces végétales aromatiques Cotula cinerea (Gartoufa) et Launaea mucronata (Adide), à usage thérapeutique traditionnel dans la région de Ghardaïa au Sahara Septentrional Algérien, du point de vue biochimique et biologique notamment l'activité antioxydante de quelque extraits de la partie aérienne et souterraine. Pour ce faire, 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. Des extraits d'hexane sont aussi préparés. Les huiles essentielles sont également isolées. 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 l'ensemble 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 *Cotula cinerea* s'est montrée plus riche en extraits notamment en extrait brut aqueux avec un rendement égal à 58.6 %. D'une manière générale, les parties aériennes des espèces végétales étudiées semblent être les plus riches en polyphénols totaux avec une teneur maximale de l'ordre de 11.078 mg EAG/g MVS dans l'extrait brut de l'espèce *Cotula cinerea* de la région de Ghardaïa. Les tests du pouvoir antioxydant ont permis d'évaluer la puissance des extraits bruts aqueux et extraits d'hexane dans la réduction et le piégeage des radicaux libres. Les résultats obtenus du pouvoir inhibiteur du radical DPPH révèlent que les extraits isolés sont très actifs et présentent en général des activités antioxydantes supérieures avec une priorité pour l'extrait brut aqueux de l'espèce *Cotula cinerea* (IC50 = 41.254 µg/mL). Quant aux radicaux libres ABTS, les extraits bruts aqueux de la même espèce ont présenté le meilleur pouvoir antioxydant.

En bref, l'espèce *Cotula cinerea* de la région de Ghardaïa est meilleure que *Launaea mucronata* du point de vue richesse biochimique en composés polyphénoliques et activité antioxydante notamment dans sa partie aérienne.

Mots clés: Cotula cinerea, Launaea mucronata, Ghardaïa, Phytochimie, Pouvoir antioxydant.

Abstract

This study aims to verify the specificity of two aromatic plant species *Cotula cinerea* (Gartoufa) and *Launaea mucronata* (Adide), for traditional therapeutic use in the region of Ghardaia in the Algerian Northern Sahara, from the biochemical and biological point of view, in particular the antioxidant activity of some extracts from the aerial and underground part. To do this, phytochemical screening tests are carried out to highlight the presence or absence of the main secondary metabolites of the two plants. Extractions by aqueous maceration are carried out. Hexane extracts are also prepared. Essential oils are also isolated. The contents of total polyphenols in the crude extracts obtained are then determined. The antioxidant potential of the extracts obtained against DPPH and ABTS free radicals is then evaluated.

From all the results obtained, the phytochemical screening tests revealed the presence of secondary metabolism compounds in the aerial part more than the underground part. The *Cotula cinerea* species was found to be richer in extracts, in particular in aqueous crude extract with 58.6%. In general, the aerial parts of the plant species studied seem to be the richest in total polyphenols with a maximum content of around 11.078 mg EAG/g MVS in the crude extract of the *Cotula cinerea* species from the region. of Ghardaia. Antioxidant power tests have made it possible to evaluate the power of aqueous crude extracts and hexane extracts in the reduction and trapping of free radicals. The results obtained from the inhibiting power of the DPPH radical reveal that the isolated extracts are very active and generally present superior antioxidant activities with a priority for the aqueous crude extract of the *Cotula cinerea* species (IC50 = 41.254 μ g/mL). As for ABTS free radicals, aqueous crude extracts of the same species presented the best antioxidant power.

In short, the *Cotula cinerea* species from the Ghardaia region is better than *Launaea* mucronata from the point of view of biochemical richness in polyphenolic compounds and antioxidant activity, particularly in its aerial part.

Keywords: Cotula cinerea, Launaea mucronata, Ghardaia, Phytochemistry, Antioxidant power.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى التحقق من خصوصية نوعين من النباتات العطرية Cotula cinerea (القرطوفة) و

Launaea mucronata (العضيض) ، للاستخدام العلاجي التقليدي في منطقة غرداية في شمال الصحراء الجزائرية ، من وجهة نظر الكيمياء الحيوية والبيولوجية ، على وجه الخصوص النشاط المضاد للأكسدة لبعض المستخلصات من الجزء الجوي وتحت الأرض. للقيام بذلك، يتم إجراء اختبارات الفحص الكيميائي النباتي لإبراز وجود أو عدم وجود المستقلبات الثانوية الرئيسية للنباتين. يتم الاستخراج بالنقع المائي. كما يتم تحضير مستخلصات الهكسين. يتم عزل الزيوت الأساسية أيضًا. ثم يتم تحديد محتويات البوليفينول الكلي في المستخلصات الخام التي تم الحصول عليها. ثم يتم تقييم إمكانات مضادات الأكسدة للمستخلصات التي تم الحصول عليها ضد الجذور الحرة DPPH و ABTS.

من جميع النتائج التي تم الحصول عليها، كشفت اختبارات الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مركبات التمثيل الغذائي الثانوية في الجزء الجوي أكثر من الجزء الموجود تحت الأرض. تم العثور على نوع Cotula cinerea لتكون أكثر ثراءً في المستخلصات، خاصة في المستخلص الخام المائي بنسبة 58.6٪. بشكل عام، يبدو أن الأجزاء الهوائية لأنواع النباتات المدروسة هي الأغنى في إجمالي البوليفينول مع أقصى محتوى يبلغ حوالي 11.078مجم مكافئ حمض الغاليك / جرام من المواد النباتية الجافة في المستخلص الخام لنوع Cotula cinerea من منطقة غرداية. جعلت اختبارات الطاقة المضادة للأكسدة من الممكن تقييم قوة المستخلصات المائية الخام ومستخلصات الهكسان في تقليل وحبس الجذور الحرة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من القوة المثبطة لجذر DPPH أن المستخلصات المعزولة نشطة للغاية وتقدم بشكل عام انشطة مضادات الأكسدة الفائقة مع أولوية للمستخلص الخام المائي لنوع 1050 على من نفس النوع قدمت أفضل قوة (ميكروغرام / مل). أما بالنسبة للجذور الحرة ABTS، فإن المستخلصات المائية الخام من نفس النوع قدمت أفضل قوة مضاداة للأكسدة.

باختصار، يعتبر نوع Cotula cinerea من منطقة غرداية أفضل من Launaea mucronata من وجهة نظر الثراء البيوكيميائي في المركبات البوليفينولية والنشاط المضاد للأكسدة، لا سيما في الجزء الجوي منها.

الكلمات الدالة: Launaea mucronata ، Cotula cinerea ، فرداية، الكيمياء النباتية، قوة مضادات الاكسدة.

Liste des figures

Figure n°	Titre	Page
Figure 01	Limites administratives de la région de Ghardaia et différents sites de prélèvements.	06
Figure 02	Vue générale des espèces <i>Cotula cinerea</i> (1) et <i>Launea mucronata</i> (2) de la région de Ghardaïa.	08
Figure 03	Vue générale de différentes parties broyées des deux espèces étudiées (A : Partie aérienne / B : partie souterraine).	09
Figure 04	Exemples de résultats de réactions de mise en évidence de quelques composés du métabolisme secondaire des espèces étudiées.	19
Figure 05	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	21
Figure 06	Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse trolox (pour DPPH).	22
Figure 07	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts aqueux et des extraits d'hexane des espèces étudiées.	24
Figure 08	Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse trolox (pour ABTS).	25
Figure 09	Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de l'ABTS) des extraits bruts aqueux et des extraits d'hexane des espèces étudiées.	26

Liste des tableaux

Table n°	Titre	Page
Tableau 01	Tableau récapitulatif des différents constituants chimiques de la partie aérienne et souterraine des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa.	18
Tableau 02	Rendements (%) en extraits de la partie aérienne des espèces étudiées.	20
Tableau 03	Résultats globaux des IC50 (µg/ mL) du pouvoir antioxydant (test de DPPH) des extraits des espèces étudiées.	24
Tableau 04	Résultats globaux des IC50 (µg/ mL) du pouvoir antioxydant (test de l'ABTS) des extraits des espèces étudiées.	27

Liste des abréviations

OMS: Organisation Mondiale de Santé.

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.

R: Rendement.

IC50: Median inhibition concentration.

μl: Microlitre.

μg: Microgram.

ml: Millilitre.

mm : Millimètre.

cm: Centimètre.

km: Kilomètre.

g: Gramme.

min: Minute.

h: Heure.

nm: Nanomètre.

mg: Milligramme.

Syn: Synonyme.

FeCl₃: Chlorure de fer(III).

Ph: Potentiel hydrogène.

NH4OH: Ammoniaque.

V : Volume.

K2S2O8: Persulfate de potassium.

PHE: Poids des huiles essentielles.

PMV : Poids de matière végétale.

R2: Coefficient de corrélation.

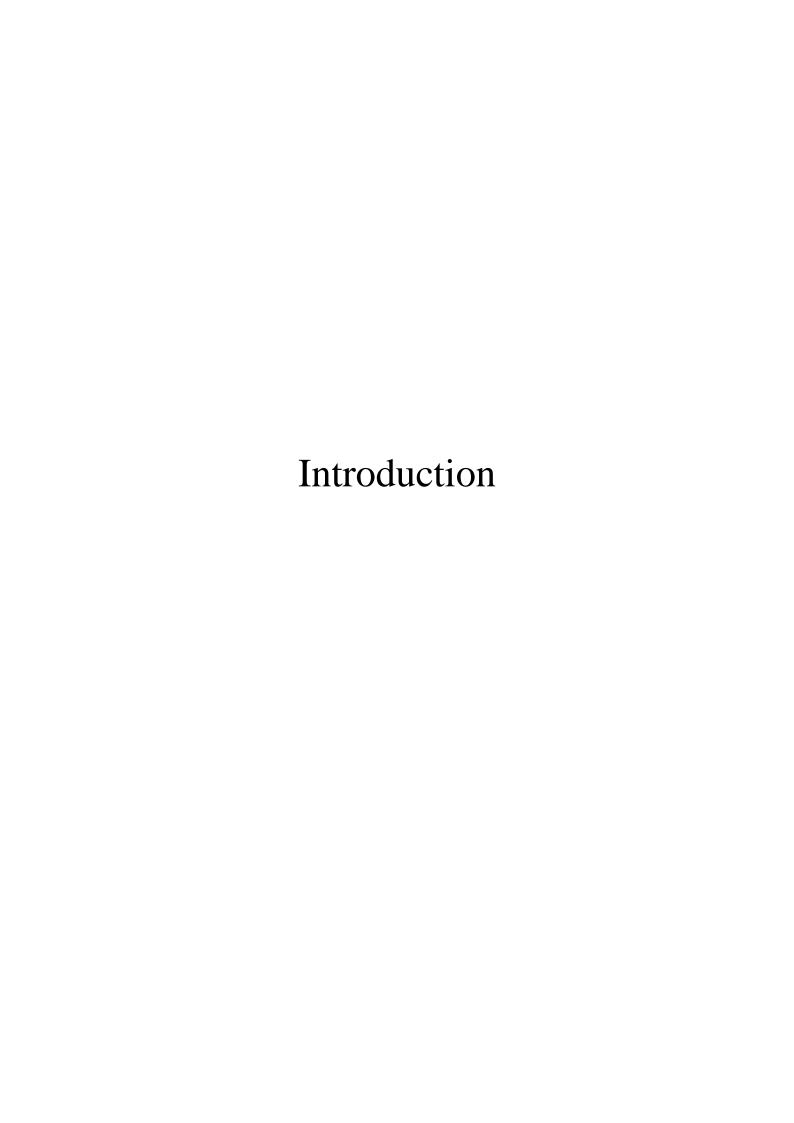
%: Pourcentage.

Table des matières

Remerciements

Résumé	I
Abstract	II
الملخص	III
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V
Liste des abréviations	VI
Introduction	1
1. Matériel et méthodes	5
1.1. Matière végétale	5
1.1.1. Site de prélèvement	5
1.1.1.1. Facteurs climatique et hydro-géographique	7
1.1.1.2. Cortège floristique	7
1.1.2. Echantillonnage	7
1.1.2.1. Séchage	8
1.2. Méthode d'analyse	9
1.2.1. Testes biochimique préliminaires	9
1.2.1.1. Recherche des tanins	9
1.2.1.2. Recherche des flavonoïdes	9
1.2.1.3. Recherche des saponosides	10
1.2.1.4. Recherche des anthocyanes	10
1.2.1.5. Recherche des leuco anthocyanes	10
1.2.1.6. Recherche des alcaloïdes	10
1.2.1.7. Recherche des terpènes	11
1.2.1.8. Recherche des stérols	11
1.3. Préparation des extraits bruts aqueux des espèces étudiées	11
1.4. Dosage des polyphénols totaux	11
1.5. Extraction des huiles essentielles	12
1.6. Extraction des composés apolaire	13
1.7. Activité antioxydante	13

	1.7.1.	Test de DPPH : Piégeage du radical libre stable DPPH (2,2-diphényl-1-	
		picrylhydrazyl)	13
	1.7.2.	Test de l'ABTS : Capacité antioxydante en équivalent trolox ou activité	
		antioxydante totale AAT	14
2.	Résul	tats et discussion	18
2.1	. Tests	s biochimique préliminaires	18
2.2	2. Rend	lements en extraits	20
2.3	3. Tene	ur en polyphénols totaux	21
3.	Pouve	oir antioxydant	22
	3.	1.Test DPPH	22
	3.	2.Test ABTS	24
4.	Conc	lusion	31
5.	Référ	ences bibliographiques	34
6.	Anne	xes	43



INTRODUCTION

Depuis longtemps, l'homme a utilisé les plantes dans différents domaines pour fournir de la nourriture, des vêtements, de l'art et de médicament.

En raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, 65 à 80 % de la population mondiale dépendent encore de la médecine traditionnelle pour la satisfaction de leurs besoins de soins de santé primaires (Ang-Lee *et al.*, 2006 ; Palomo, 2010 ; OMS, 2013 ; Boissière, 2018),

L'Afrique abrite une grande variété de plantes médicinales. Les préparations traditionnelles à base de plantes ont présenté le principal traitement car elles sont accessibles, abordables et culturellement acceptées. Ces plantes contribuent de façon significative à la vie des populations rurales et à l'équilibre sociétal. De nombreuses médecines traditionnelles africaines sont indéniablement bénéfiques dans le traitement des maladies ou le maintien d'une bonne santé (Mohmoodally, 2013 ; Gouws, 2018). Il est à signaler que certaines plantes médicinales sont extrêmement efficaces, mais si dangereuses qu'elles ne doivent être administrées que par des connaisseurs de la médecine traditionnelle. D'autre part, la perte des savoirs autochtones autour des plantes médicinales s'accélère du fait des transformations socio-culturelles des sociétés, ainsi que de la disparition progressive des personnes âgées qui traditionnellement sont les gardiens de ces connaissances. Cette situation rend nécessaire de valoriser les savoirs traditionnels des guérisseurs concernant l'usage des plantes médicinales et d'explorer davantage la possibilité de les intégrer dans les systèmes médicaux modernes. (Quezel et Santa, 1963).

L'Algérie est l'un des pays africains les plus riches en plantes médicinales avec plus de 4000 taxons, 917 genres et 131 familles différentes (Lamiaceae 13%, Asteraceae 13%, Apiaceae 7%, Rosaceae 5% et Fabaceae 5%) (Belhouala et Benarba, 2021). Elle est connue pour sa riche et importante diversité végétale. Plusieurs études ont prouvé que l'Algérie possède de nombreux types de plantes, dont certaines appartiennent à un climat chaud et d'autres à un climat tempéré dans différentes régions du sud, du nord, de l'est et de l'ouest. Le désert algérien est considéré comme l'un des plus grands déserts du monde, qui se caractérise par un climat chaud et sec en été et très froid en hiver, dans lequel poussant un grand nombre de plantes médicinales aromatiques.

De nombreuses plantes aromatiques et médicinales contiennent des composés phytochimiques à large spectre, qui sont des sources d'antioxydants naturels, tels que les alpha-tocophérols, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Lee *et al.*, 2004). L'utilisation de ces substances naturelles, en plus de leur activité antioxydante, ne se limite pas au domaine thérapeutique mais peuvent également être utilisée dans le domaine industriel car elles sont de plus en plus meilleures par rapport aux antioxydants synthétiques (Amarowicz *et al.*, 2000).

On se référant aux travaux antérieurs, L'une des familles de plantes médicinales les plus connues est celle des Astéracées. Elle contient près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres. De nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle car elles contiennent plusieurs molécules à activité thérapeutique.

Dans ce contexte-là, nous nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces végétales très répandues dans les régions arides et semi arides du territoire algérien et très utilisées pour ses innombrables vertus thérapeutiques. Il s'agit de *Cotula cinerea* (Gartoufa) et *Launaea mucronata* (Adide).

Notre objectif était de vérifier la spécificité de ces espèces végétales du point de vue biochimique et biologique notamment l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne et souterraine.

L'utilisation massive de ces espèces par les populations est-elle justifiée ?

Sont-elles riches en substances naturelles phytothérapiques ?

Pourraient-elles être des antioxydants naturels efficaces vis-à-vis des maladies dues à certains radicaux libres et que la médecine moderne malgré son large panel de produits chimiques synthétiques (antioxydants) ne peut pas guérir ?

C'est ce que nous efforcerons de démontrer à travers cette étude dans le cadre de ce mémoire.

Cette étude consistera en une série de tests et analyses expérimentales portant sur les deux parties aérienne et souterraine des espèces en question. Elle est initiée par un criblage phytochimique pour mettre en évidence les principales substances actives de la partie aérienne et souterraine. Des extractions par macération dans de l'eau, avec de l'hexane et des huiles essentielles sont effectuées. Nous procéderons ensuite à la détermination des rendements en extraits puis aux dosages des polyphénols totaux. Ensuite, nous essayerons d'évaluer le

pouvoir antioxydant in vitro de ces extraits et nous terminerons enfin par la discussion, la conclusion et les perspectives.

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est présenté par deux espèces végétales aromatiques qui poussent spontanément dans la région de Ghardaïa: *Cotula cinerea* (Gartoufa) et *Launea mucronata* (l'Adide). Ces espèces appartiennent à la famille des Astéraceae (fig. 02).

Quant à la description botanique et selon Quezel et Santa (1963) et Ozenda (1991), l'espèce *Cotula cinerea* est de 10 à 20 cm de haut avec des tiges couchées ne se redressant qu'aux extrémités et des feuilles laineuses vert blanchâtres, épaisses et très découpées. Petits capitules jaunes, brunes en bouton devenant jaunes en s'ouvrant. Cette espèce pousse généralement dans les sables où elle peut former des grands tapis après une bonne pluie.

L'espèce *Launea mucronata* peut atteindre 50 cm de haut avec des tiges très rameuses et des feuilles glabres à lobes très étroits et des fleurs de couleur jaune vive. Elle pousse en pieds isolés sur les terrains argilo sableux et rocailleux des dépressions et des lits d'oueds.

Les parties aérienne (mélange tige, feuilles et fleurs) et souterraine (racine) sont utilisés pour la réalisation des expérimentations de ce travail qui porte *en principe* sur la préparation des extraits bruts aqueux ainsi que l'évaluation *in vitro* du pouvoir thérapeutique antioxydant.

1.1.1. Site de prélèvement :

Les échantillons des deux espèces étudiées sont prélevés durant le mois de janvier 2022 et à partir de deux sites différents de la région de Ghardaïa au Sahara septentrional algérien. Les parties aérienne et souterraine de l'espèce *Cotula cinerea* sont prélevées à partir d'Oued Metlili à 40 km de la région de Ghardaïa alors que celles de l'espèce *Launea mucronata* sont à partir de la zone scientifique de Bounoura qui se trouve à plus de 20 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 Tamanrasset, à l'Est par la wilaya d'Ouargla et à l'Ouest par la wilaya d'El Bayadh (ANDI, 2013a; ANIRF, 2011a).

Les coordonnées de cette région sont : 32 $^{\circ}$ 26 $^{\prime}$ de latitude Nord et 3 $^{\circ}$ 46 $^{\prime}$ de longitude Est (Adouane et al., 2014).

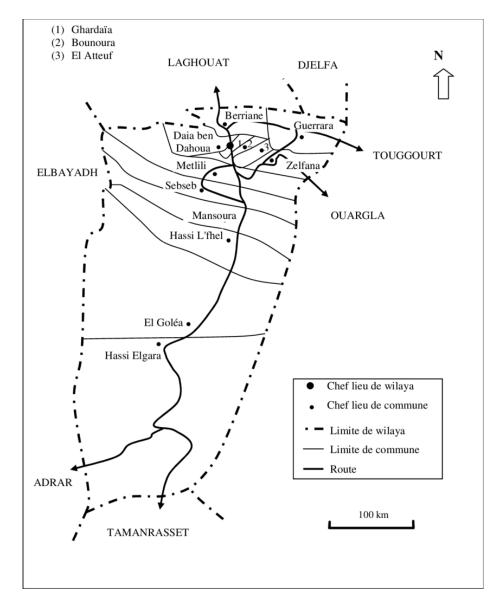


Figure 01: Limites administratives de la région de Ghardaia et différents sites de prélèvements (BEN KENZOU et *al.*, 2007).

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 Ghardaia 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 Ghardaia 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

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 et fleurs saines ou même des tiges 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 et fleurs jeunes et adultes

sur plusieurs pieds avec des fragments de tige des *Cotula cinerea* et *Launea mucronata* 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 *Cotula cinerea* (1) et *Launea mucronata* (2) de la région de Ghardaïa (Originale, 2022)

Les prélèvements sont réalisés tôt le matin, à la fin du mois de janvier 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 l'extraction des principes actifs (préparation des extraits bruts).

1.1.2.1. Séchage

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, fleurs et tiges 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 broyées des deux espèces étudiées (originale, 2022) (A : Partie aérienne / B : partie souterraine)

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 deux parties, aérienne et souterraine.

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 (FeCl₃) 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 isoamylique 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 mn. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 mL. A partir de cette solution, on prépare dix tubes dans lesquels on mets 1, 2, 3, ... 10 mL. Le volume final étant de nouveau réajusté à 10 mLavec 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 :

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

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).

1.3. 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.

1.4. Dosage des polyphénols totaux :

Le test de dosage des polyphénols totaux de la partie aérienne des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa du Sahara septentrional algérien est résumé ci-dessous. Ce test est réalisé 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) .

Matériels et méthodes

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 µl de l'extrait végétal est mélangé

avec 400µl de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après agitation

puis incubation de 05 min, 500µl de solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (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 765 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).

1.5. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles ou de la partie aérienne séchée d'une

espèce végétale se fait généralement trois fois en utilisant 5 à 50g de drogue pour chacune des

extractions. La moyenne des teneurs obtenues est par la suite calculée.

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact

ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite

porté à ébullition (Fackari et al., 2005). La vitesse de distillation est de 2 à 4 ml par minute

avec une durée d'ébullition qui varie entre 1h30 et 4h. Les vapeurs hétérogènes sont

condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité

(Bruneton, 1999).

Dans notre cas, la masse de la prise d'essai que nous avons utilisé pour réaliser cette

extraction était égale à 50g avec une durée d'ébullition de 3 heures en gardant toujours la

même vitesse de distillation (2 à 4 ml/ min).

Le rendement des huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile

essentielle et la masse de la matière végétale utilisée.

Le pourcentage de rendement est calculé à partir de la formule suivante :

 $R \% = PHE / PMV \times 100$

R: rendement

12

PHE: poids des huiles essentielles (g)

PMV : poids de matière végétale (g)

Une fois le rendement calculé, les huiles essentielles doivent être stockées le plus rapidement possible dans de très petits flacons de verre opaque, parfaitement bouclés, et maintenues à une température de 4°C (Vincent, 1991).

1.6. Extraction des composés apolaires

L'hexane (C₆H₁₄) est un hydrocarbure saturé de la famille des alcanes, aujourd'hui le seul solvant privilégié utilisé pour extraction des graines oléagineuse, il a été sélectionné depuis de nombreuses années pour ces propriétés apolaires qui lui confèrent une grande affinité pour les lipides (Stavrakakis, 2001). Une prise d'essai de 5g de matière végétale de la partie aérienne a été ajoutée à 50 ml de l'hexane, après une agitation mécanique pendant 2h à une température ambiante puis filtration, les solutions obtenues sont évaporées à sec sous pression réduite à une température de moins de 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est récupéré avec du méthanol puis incubé à 4°C.

1.7. 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 antioxydante 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 antioxydante totale AAT ou piégeage des radicaux libres ABTS.

1.7.1. 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 fraichement 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 :

% Inhibition =
$$[(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

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

A₂: Absorbance en présence de l'extrait végétal.

Les valeurs enregistrées sont exprimées en milligramme équivalent Trolox par gramme de matière végétale sèche (mg E Trolox/ g MVS).

1.7.2. Test de l'ABTS : Capacité antioxydante en équivalent trolox ou activité antioxydante 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 antioxydante 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 (CEAT) 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 stock 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 :

% Inhibition = $[(A_{734} \text{ blanc} - A_{734} \text{ extrait}) / A_{734} \text{ blanc}] \times 100$

où A_{734} blanc et A_{734} extrait sont les absorbances de la solution ABTS $^{\bullet +}$ à 734 nm avant et après addition des échantillons ou extraits de plante.

L'étalonnage a été effectué avec des solutions stocks 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.

2. Résultats et discussion

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Tests biochimiques préliminaires

Les résultats des tests biochimiques préliminaires réalisés sur la partie aérienne et souterraine séchées des espèces végétales *Cotula cinerea* et *Launea mucronata* sont reportés dans le tableau suivant :

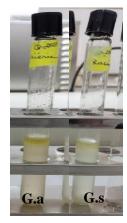
Tableau 01 : Tableau récapitulatif des différents constituants chimiques de la partie aérienne et souterraine des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa.

	Cotula cinerea		Launaea mucronata	
	partie aérienne	partie souterraine	partie aérienne	partie souterraine
Tanins	+	-	+	-
Flavonoïdes	+	+	+	+
Saponosides	-	-	-	-
Anthocyanes	-	-	+	-
Leuco anthocyanes	-	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-	-
Tèrpenes	+	+	+	+
Stérols	-	-	-	-

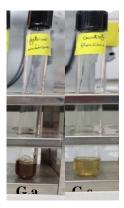
⁽⁺⁾ présence, (-) absence

Les tests biochimiques préliminaires des différents composés des parties aérienne et souterraine nous ont permis d'apprécier la qualité biochimique des espèces végétales étudiées. Autrement dit, et pour ce qui est de la partie aérienne qui semble être plus riche, ces tests ont mis en évidence la présence des tanins, flavonoïdes et des anthocyanes. Quant aux terpènes, les deux plantes s'avèrent aromatiques et ce à cause de la présence de ces composés dans les deux parties aérienne et souterraine.

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



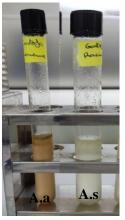
Flavonoïdes Gartoufa



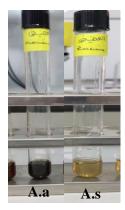
Tanins Gartoufa



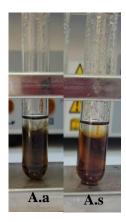
Terpènes Gartoufa



Flavonoïdes Adide



Tanins Adide



Terpènes Adide

Figure 04 : Exemples de résultats de réactions de mise en évidence de quelques composés du métabolisme secondaire des espèces étudiées.

G.a: Gartoufa partie aérienne / **G.s**: Gartoufa partie souterraine **A.a**: Adide partie aérienne / **A.s**: Adide partie souterraine

Cette richesse en terpènes et en composés polyphénoliques en particulier nous montre la qualité biochimique supérieure des espèces végétales en question et par conséquent nous justifie l'usage traditionnel massif de ces plantes par la population de la région de Ghardaïa.

Nos résultats sont plus ou moins comparables avec ceux obtenus dans les travaux de (BEN AZZA, GUEMOULA. 2018; HADJ BRAHIM, BEN OUDINA. 2018) pour *Cotula cinerea* et (BOULENOUAR. 2011) pour *Launaeae arborescens* le même genre que notre deuxième espèce *Launea mucronata*.

2.2. Rendements en extraits

Les extractions brutes aqueuses, celles de l'hexane et des huiles essentielles de la partie aérienne des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaïa 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) x 100 où :

R (%): rendement en %.

PEB: poids de l'extrait.

PMV : poids de matière végétale.

Les valeurs obtenues sont indiquées dans le tableau suivant (tab. 02) :

Tableau 02 : Rendements (%) en extraits de la partie aérienne des espèces étudiées.

Rendement (%)	Cotula cinerea	Launea mucronata
Extrait brut	58.6	20.8
Extrait d'hexane	16.6	13.8
Huiles essentielles	0.114	0

A partir du tableau ci-dessus, il semble évident que la partie aérienne de l'espèce *Coula cinerea* est plus riche en extraits que celle de l'espèce *Launea mucronata* et plus particulièrement en extrait brut aqueux avec un rendement supérieur de l'ordre de 58.6%.

Cette différence dans les rendements en extraits est due probablement à la distribution inégale des métabolites secondaires entre les différentes parties (ou organes de la même partie) des deux plantes étudiées (Benhammou et *al.*, 2009).

D'une manière générale, la variabilité des résultats peuvent être liée aux solvants d'extraction, aux conditions environnementaux de la région, et même la partie de plante utilisée qui peut influencer le rendement.

D'autre part et en se référant aux travaux de Ghedadba et *al.* (2014), les teneurs ou rendements en extraits bruts varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais 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).

En plus de ces aspects quantitatifs, quelle que soit la méthode d'extraction appliquée, elle doit tenir compte de la qualité d'extrait, autrement dit de la bioactivité de ces principes actifs. Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

2.3. Teneur en polyphénols totaux :

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux dans les différents extraits bruts aqueux de la partie aérienne des espèces végétales étudiées *Cotula cinerea* et *Launea mucronata* 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 R² = 0.9988 (fig. 05).

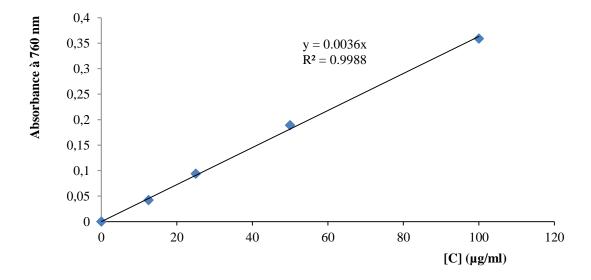


Figure 05 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

De la figure ci-dessus de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et à partir de l'équation de régression linéaire, nous avons pu calculer la teneur en polyphénols totaux.

Les résultats obtenus ont montré que l'espèce *Cotula cinerea* est plus riche en composés phénoliques totaux avec une moyenne de 11.078 mg équivalent acide gallique/ g MVS par rapport à l'espèce *Launea mucronata* qui s'est avérée moins riche avec uniquement 2.16 mg équivalent acide gallique/ g MVS.

3. Pouvoir antioxydant:

Le pouvoir antioxydant des extraits bruts aqueux et des extraits d'hexane de la partie aérienne des espèces végétales étudiées de la région de Ghardaia du Sahara septentrional Algérien, 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 de l'antioxydant de synthèse (standard) utilisé dans cette étude (trolox) sont également évaluées. Des valeurs d'IC50 élevées indiquent une faible activité antioxydante.

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

A partir des figures ci-dessous (fig. 06) de la courbe d'étalonnage du trolox et des courbes des extraits bruts aqueux et des extraits d'hexane des deux plantes (fig. 07) 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).

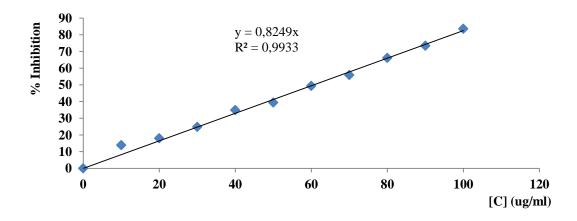
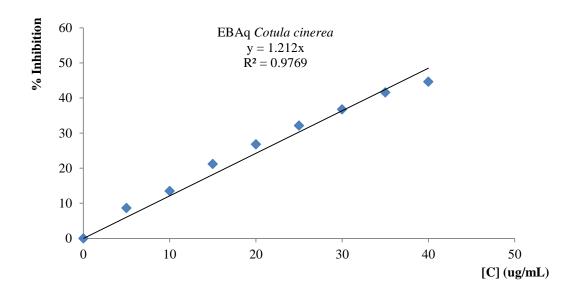
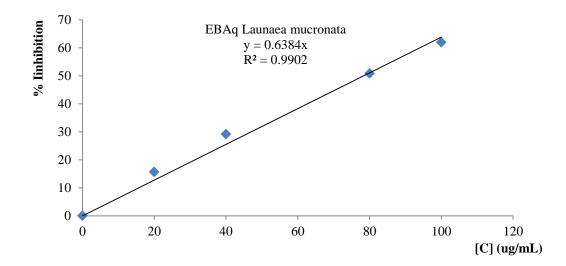
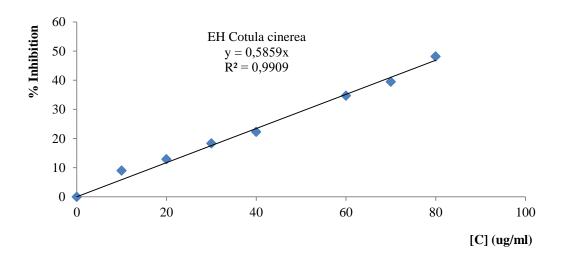


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse trolox (pour DPPH).







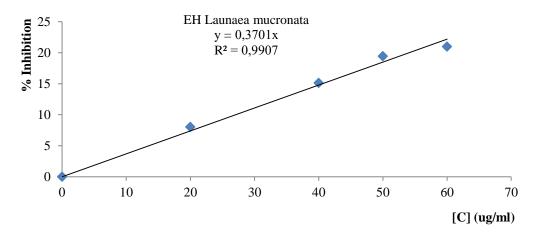


Figure 07 : Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de DPPH) des extraits bruts aqueux et des extraits d'hexane des espèces étudiées.

D'une manière générale, les extraits de la partie aérienne ont montré une divergence dans les résultats obtenus avec une priorité de l'extrait brut aqueux pour l'espèce *Cotula cinerea* ou Gartoufa dont la valeur d'IC50 est meilleure que celle du trolox et est de l'ordre de 41.254 μ g/ mL.

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

Plante	Extraits bruts aqueux	Extraits d'hexane
Cotula cinerea	41.254 ± 0.008	85.339 ± 0.191
Launaea mucronata	78.321 ± 0.015	135.099 ± 0.139
Trolox	60.613± 0.059	

3.2. Test de l'ABTS

A partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage du produit de référence ou antioxydant de synthèse (trolox) (fig. 08) et celles des courbes des extraits bruts et des extraits d'hexane (fig. 09), nous avons calculé les valeurs d'IC50 de la capacité antioxydante vis-à-vis des radicaux libres ABTS ou activité antioxydante totale AAT des extraits 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).

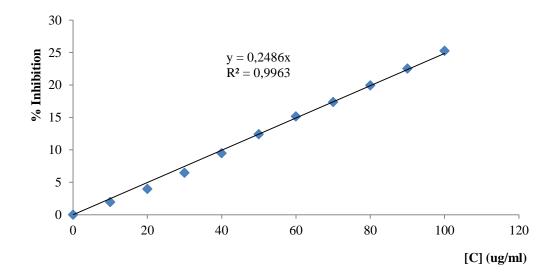
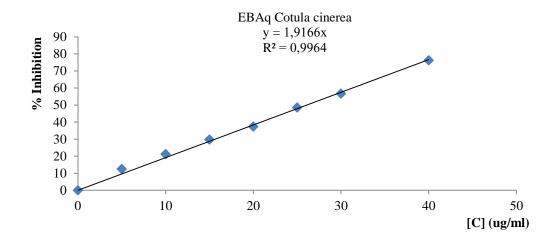
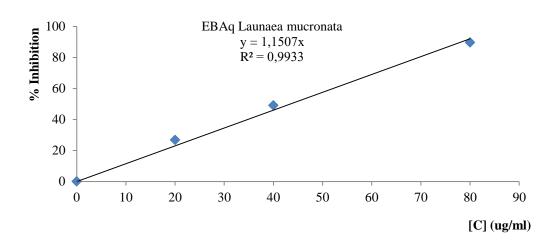
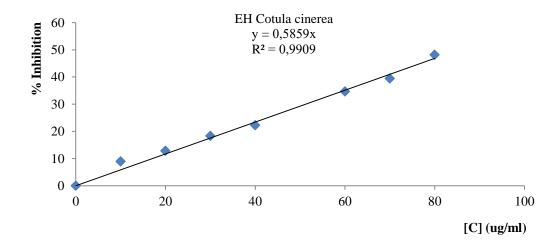


Figure 08 : Courbe d'étalonnage de l'antioxydant de synthèse trolox (pour ABTS).







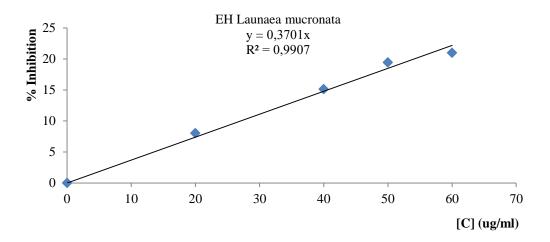


Figure 09 : Figures représentatives des résultats de l'activité antioxydante (test de l'ABTS) des extraits bruts aqueux et des extraits d'hexane des espèces étudiées

En général, et par comparaison aux résultats du pouvoir inhibiteur du radical libre DPPH, tous les extraits en particulier ceux de la partie aérienne de l'espèce *Cotula cinerea* et surtout les extraits bruts aqueux ($26.088 \pm 0.315 \ \mu g/\ mL$) s'avèrent meilleurs que le trolox qui s'est montré très faible dans l'inhibition des radicaux ABTS où une grande valeur d'IC50 de l'ordre de $201.126 \pm 0.161 \ \mu g/\ mL$ est enregistrée.

Tableau 04 : Résultats globaux des IC50 ($\mu g/$ mL) du pouvoir antioxydant (test de l'ABTS) des extraits des espèces étudiées.

Plante	Extraits bruts aqueux	Extraits d'hexane
Cotula cinerea	26.088 ± 0.315	120.773 ± 0.127
Launaea mucronata	43.452 ± 0.381	$154.895 \pm 0,214$
Trolox	201.126 ± 0.161	

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

A propos du pouvoir inhibiteur du radical libre DPPH, les résultats obtenus révèlent que les extraits bruts isolés sont très actifs et présentent en général des activités antioxydantes supérieures. Cela est probablement lié à la complexité de ses extraits bruts 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).

Quant à la capacité antioxydante vis-à-vis des radicaux libres ABTS (test de l'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.

Les extraits bruts aqueux des deux plantes étudiées notamment celui de *Cotula cinerea*, ont présenté le plus grand pouvoir antioxydant face aux radicaux libres 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. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Garcia-Salas *et al.*, 2010; Jokic *et al.*, 2010).

Les solvants apolaires ou faiblement polaire sont par contre recommandés pour récupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaire (Tian *et al.*, 2009). Les arômes dérivés des acides hydroxycinnamiques sont quant à eux habituellement extraits par des solvants apolaires tels que le chloroforme et la diéthyléther (Collin et Crouzet, 2011).

Cet effet antiradicalaire pourrait devenir potentiellement intéressant 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). L'effet scavenger des flavonoïdes est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle (Siddhuraju et Becker, 2007). En outre, dans le but d'identifier les sites potentiels au sein des flavonoïdes qui sont responsables sur l'effet antiradicalaire vis-àvis du radical DPPH, plusieurs travaux ont étudié la cinétique et le mécanisme réactionnel des flavonoïdes avec ce radical stable. De plus, Amic *et al.*, (2003) ont mis en évidence la relation structure fonction de 29 flavonoïdes (flavones, flavonols et flavanones) et leurs capacités de piéger le radical DPPH et par conséquent, la variabilité structurale de ces même flavonoïdes affecte de façon non négligeable cette activité.

La configuration et le nombre total de groupements hydroxyle ont une influence sur le mécanisme de l'activité antioxydante (Heim *et al.*, 2002) et à titre indicatif, les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

Une structure ortho-dihydroxy (groupement catéchol) dans le cycle B qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.

Une double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo dans le cycle C fournissant une délocalisation des électrons à partir du cycle B.

La présence des groupements hydroxyle en position C3 et C5 fournissant une liaison hydrogène au groupe oxo (Croft, 2006).

Cette différence dans 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 fraiche, température et temps d'extraction, et même aux techniques d'extraction) (Lee *et al.*, 2003).

Conclusion

Conclusion

En guise de conclusion, il semble important d'évoquer les principaux résultats auxquels nous sommes parvenus.

Tous d'abord, les tests biochimiques préliminaires ont mis en évidence la présence de quatre composés du métabolisme secondaire (flavonoïdes, tanins, anthocyanes et terpènes) et l'absence de trois autres composés aussi importants (stérols, leucoanthocyanes, saponosides, et alcaloïdes) dans la partie aérienne et souterraine des deux espèces étudiées *Cotua cinerea* et *Launea mucronata* de la région de Ghardaïa.

L'extraction par macération à froid 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 58,6% dans la partie aérienne de l'espèce *Cotula cinerea*.

Quant aux extraits hexane, des rendements plus ou moins similaires sont enregistrés avec un maximum d'environ 16.6 % dans la partie aérienne de la même espèce végétale.

Les tests du dosage des polyphénols totaux ont montré que les extraits bruts aqueux de l'espèce *Colula cinerea* s'avèrent les plus riches en composés polyphénoliques avec une teneur égale à 11.078 mg EAG/ g MVS.

En général et à partir des résultats de l'activité antioxydante évaluée par les tests *in vitro*, les extraits bruts aqueux de la partie aérienne de l'espèce *Colula cinerea* 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 41.254 et 26.088 μg/ mL respectivement. 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 tels que l'hexane.

Ces résultats ont indiqué que les extraits bruts aqueux de l'espèce *Colula cinerea* sont meilleurs avec ceux de l'espèce *Launea mucronata* avec un degré moindre, et 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 quantitatif.
- Déterminer les Chémotypes exacts et complets par HPLC/ MS et RMN.
- Evaluer *in vitro* d'autres activités biologiques de sa partie aérienne et même souterraine telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antidiabétique...etc.
- Envisager des expériences *in situ* en testant ces mélanges de principes actifs sur des cas pathologiques.
- Il serait également intéressant d'extraire les autres principes actifs de ces plantes et de tester leur pouvoir antioxydant.

Références bibliographique

Réferences

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.

Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddamc P., Barl B., and Weil J.A. (2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry. 84: 551–562.

Amic D., Davidovic-Amic D., Beslo D., Trinajstic N. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. 2003; 76: 55-61.

ANDI, 2013a. Agence Nationale de Développement de l'investissement. Wilaya de Ghardaia.

ANG-LEE M. K., MOSS J., YUAN C. S. 2006 - Herbal medicines and perioperative care. Journal of the American Medical Association (JAMA) 286:208–216.

ANIRF, 2011a. Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière. Rubrique Monographie Wilaya (Wilaya Ghardaia).

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.

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.

Bekro Y. A., Mamyrbekova J. A., Boua B., Fezan H., Ehouan E. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinia benthamiana (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpiniaceae). Sciences and nature. 2007; 4: 217-225.

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

Bensaha H. et Arbouch R. Impact de la dynamique de l'agriculture et ses conséquences sur la durabilité de l'écosystème saharien : cas de la vallée de M'zab (Sahara septentrional). Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires. 2016 ; 4 : 31-36.

Belhouala. K, Benarba. B. (2021, 29 novembre). Plantes médicinales utilisées par les guérisseurs traditionnels en Algérie : une étude ethnobotanique multirégionale. frontiersin. Consulté le 10 mai 2022, à l'adresse

https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.760492/full

Benkenzou D, Chegma S, Merakchi F et Zidane B 2007 Monographie de la wilaya de Ghardaïa, Direction de la Planification et de l'Aménagement du Territoire (D.P.A.T.). Statistiques au 31 décembre 2006. 122 pages.

BOISSIERE M. 2018 - Consommation des plantes médicinales par les patients suivis en cabinet de médecine générale à La Réunion - Expériences, représentations et ressentis des patients dans le cadre de la communication médecin-patient, diplôme d'Etat de docteur en médecine, Université de Bordeaux, 94 p.

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.

BOULENOUAR N. Substances naturelles à visée antifongique cas particulier des polyphenole 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.

Bruneton J. (1999) - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

Chenini N. et Chabou S. Evaluation du potentiel géothermique dans la région de Ghardaia. Revue des Energies Renouvelables SIENR. 2012 ; 12 : 307-312.

Collin S. et Crouzet J. Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. TEC & DOC., Lavoisier, Paris. 2011; 339p.

Croft K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. Annals of the New York Academy of Sciences. 2006.; 854: 435-442.

Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., Bodoc A., Gmira N. Screening phytochimique d'une endemique Ibero-marocain, Thymelaea lytroides, Bull. Société de Pharmacie de Bordeaux. 2003; 142: 61-78.

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.

Fackari A.R., Salehi P., Heydari R., Ebrhimi S.N et Haddad P.R., 2005: Hydrodistillation – headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of Lavandula angustifolia mill. Journal of Chromatoghraphy A.

Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernandez –Gutiérrez A. Phenolic-Compound-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.

Gouws, C. (2018, 5 mars). Traditional African medicine and conventional drugs: friends or enemies? the conversation. Consulté le 10 mai 2022, à l'adresse https://theconversation.com/traditional-african-medicine-and-conventional-drugs-friends-or-enemies-92695

HADJ BRAHIM H, BEN OUDINA H. Activité antioxydante et antibactérienne des différents extraits de *Cotula cinerea*. Mémoire master, Université de Ghardaïa, 2018. 24-35

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.

Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 2002; 13: 572-584.

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.

Kemassi A., Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine S., Aggoune M. S., Ould el hadj-khelil A., Ould elhadj M. D. 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. 2014; 1: 1-5.

Koffi E., Sea T., Dodehe Y., Soro S. Effect of solvent type on extraction of polyphrnols from twenty three ivorian plants. Journal of animal and plant sciences. 2010; 5: 550-558.

Lee, J. T.; Connor-Appleton, S.; Haq, A. U.; Bailey, C. A.; Cartwright, A. L., 2004. Quantitative measurement of negligible trypsin inhibitor activity and nutrient analysis of guar meal fractions. J. Agric. Food Chem., 52: 6492-6495

Lee K.W., Kim Y. J., Lee H. J., Lee C.Y. Cocao 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.

Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. Etude de l'extraction des composés phénoliques de differentes 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.

Mohmoodally M. F. (2013). Traditional medicines in Africa: an appraisal of ten potent African medicinal plants. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 6: 1-14.

OMS (Organisation mondiale de la santé). 2013 - Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Genève.

OZENDA P, (1991) Flore et végétation du Sahara (mise à jour et augmentée). Troisième Edition CNRS. Paris.

Ozenda P. Flore du Sahara. Edition du centre national de la recherche scientifique 15, quai Anatole, Paris. 1977; 598 p.

PALOMO N. 2010 - La gestion des plantes médicinales chez les communautés autochtones Nahuas de la Huasteca Potosina, Mexique, Mémoire présenté à la Faculté des arts et des sciences en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en Géographie, Université de Montréal, Canada, 294 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.

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.

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. C.N.R.S. Paris.

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 scientifique 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.

Siddhuraju P; et Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry. 2007; 101: 10-19.

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.

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.

Stavrakakis C., 2001, Freins à la substitution des composés organiques volatils dans les procédés industriels. Rapport final. Étude réalisée pour le compte de l'ADEME par le CITEPA (ref 822). Disponible en ligne sur le site de l'ADEME http://www2.ademe.fr

Tian F., Li B., Zhang G., Luo Y. Identification and structure-activity relationship of gallotannis separated from *Galla chinensis*. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT) – Food Science and Technology. 2011; 42: 1289-1295.

Vermerris W. et Nicholson R. Phenolic compound chemistry. Springer, Allemand. 2006; 1-70 pp.

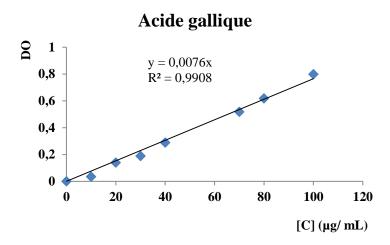
Vincent M.C. (1991). L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie. 4, Paris 6.

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.

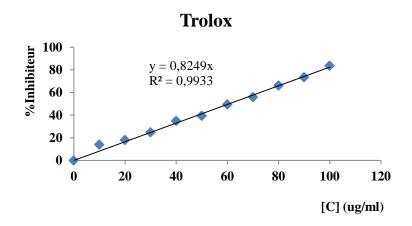
Annexes

Annexes:

Annexe 01: courbe d'étalonnage d'acide gallique.



Annexe 02: courbe d'étalonnage de trolox pour DPPH.



Annexe 03: courbe d'étalonnage de trolox pour ABTS.

