

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :  
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des 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 :** Biologie

**Spécialité :** Biochimie Appliquée

**Par :** Amel BELLAGHOUATI

Faiza MRINI

## Thème

**Réponse adaptative de *Pergularia tomentosa* L de différents écotypes  
dans la région de Ghardaïa**

**Soutenu publiquement le : .../05/2017**

**Devant le jury :**

<b>Mr. Fouzi BENBRAHIM</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>M<sup>lle</sup>. Alia TELLI</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>M<sup>lle</sup>. Sabrina DAREM</b>	Doctorante	Univ. Annaba	<b>Co- Encadreur</b>
<b>M<sup>lle</sup>. Wafaa BENSANIA</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinatrice</b>
<b>Mr. Mohamed KRAIMAT</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinateur</b>

**Année universitaire 2016/2017**

## *Avant-propos*

*A cœur vaillant rien d'impossible  
A conscience tranquille tout est accessible*

*Quand il y a la soif d'apprendre  
Tout vient à point à qui sait attendre*

*Quand il y a le souci de réaliser un dessein  
Tout devient facile pour arriver à nos fins*

*Malgré les obstacles qui s'opposent  
En dépit des difficultés qui s'interposent*

*Les études sont avant tout  
Notre unique et seul atout*

*Elles représentent la lumière de notre existence  
L'étoile brillante de notre réjouissance*

*Espérant des lendemains épiques  
Un avenir glorieux et magique*

*Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis  
Jours et nuits, nous mène vers le bonheur fleuri*

*Aujourd'hui, ici rassemblées auprès des jurys,  
Nous prions Dieu que cette soutenance*

*Face signe de persévérance  
Et que nous soyons enchantées  
Par notre travail honoré*



## *Dédicaces*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que Je dédie ce travail :*

*A mon cher père, pour son soutien, son aide et sa compréhension.*

*A ma chère mère et grand-mère, pour leur gentillesse, leur tendresse, leur douceur, leur patience et Leur encouragement durant toute ma vie et qui sans elles rien n'aurait été possible.*

*A mes chers frères, Mohamed Hicham, Mohamed Karim.*

*A mon très cher frère, El-Hadj Mohamed El-Amine, présent dans tous mes moments d'examens par son soutien moral et ses belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

*A Faiza Mrini,*

*Merci pour l'amitié sincère que tu me portes depuis 5 ans. A nos souvenirs, nos bonheurs partagés ensemble. Pour m'avoir aidée et supportée dans mes études. Que notre amitié dure toujours.*

*A Hanane Récioui,*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*A mes collègues de promotion Master Biochimie appliquée, particulièrement Ibtisseme Abbass, Hafida Kdayade, Rostom Toumi et toutes personnes qui me sont chers.*

*Sans oublier tous les professeurs (primaire, moyen, secondaire) et de l'enseignement supérieur. Et enfin spéciale dédicace, A ma chère tante Selma et son mari Zineddine et leurs enfants Djalila, Ahmed, Shibe, Malek et Yasmine pour ses encouragements, leur tendresse, leur disponibilité durant toutes mes années d'études.*

*A tous merci.*

*Amel*

## **Dédicaces**

*Je dédie ce modeste travail à :*

### ***A mes chers parents***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitte jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longévité et face en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

### ***A mon grand-père Lakhdar et mes grand-mères Fatma et Zahra***

*Qui m'ont accompagnée par leurs prières, leur douceur, puisse Dieu les prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.*

### ***A mon très cher frère Allel, son épouse Ghania***

### ***A ma très chère et adorable sœur Bahidja, son mari Hamza***

*En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

### ***A mes tantes Ghania, Nadia, Fatiha, Chrifa et toute leurs familles***

### ***A mes oncles Driss, Dahou, Aziz, M'hamed, Aissa, Mohamed et toute leurs familles***

### ***A mes cousins et cousines, Abdou, Amira, Abd El Kader, Abd El Rahim, Meriem, Houria et Fatna***

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*Une spéciale dédicace à cette personne qui compte déjà énormément pour moi, et pour qui j'éprouve beaucoup de tendresse et de respect. **A Amel Bellaghouti** Puisse Dieu vous garde, éclaire votre route et vous aide à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

### ***A tous les membres de ma promotion particulièrement Ibtisseme Abbass et Rostom Toumi.***

### ***A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études, en particulier Mohamed Chorfi.***

***A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.***

**Faiza**

## *Remerciements*

*Nous remercions tout d'abord Allah le Tout Puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Un grand merci pour notre encadreur Mlle ALIA TELLI maître assistance A à l'université de Ghardaïa, sa présence et sa disponibilité permanente, pour ses conseils et son soutien, et pour nous avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficultés du présent travail. On a l'honneur de nous d'exprimer nos très profondes reconnaissances et nos sentiments les plus sincères.*

*A notre co-encadreur Mlle SABRINA DAREM doctorante à l'université de Badji Mokhtar d'Annaba, nous adressons nos plus vifs remerciements pour son aide, sa gentillesse, sa compréhension et tous ses encouragements.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à Mr FOUZI BENBRAHIM maître assistance A à l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à Mlle WAFIA BENSANIA maître assistance A à l'université de Ghardaïa pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à remercier Mr MOHAMED KRAIMAT maître assistant A à l'université de Ghardaïa, pour son aide, sa gentillesse et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie du jury.*

*Nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à Mr NOUR EDINE MESSAITPHA, HICHAM BENHAMOUDA, DJABER AOUF et CHIEKH BELKOUZ au sein des laboratoires de chimie 1, chimie 2, géologie et laboratoire d'analyse chimique, pour leur aide et compréhension.*

*Enfin, nous remercions toutes les personnes que nous n'avons pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*



*Amel et Faiza*

# Réponse adaptative de *Pergularia tomentosa* L de différents écotypes dans la région de Ghardaïa

## Résumé

Les plantes spontanées sahariennes sont très caractéristiques par leur mode d'adaptation particulier à l'environnement désertique très contraignant à leur survie. Pour cela, la présente étude vise à mettre en évidence la réponse adaptative de *Pergularia tomentosa* sous les conditions des différents écotypes dans la région de Ghardaïa. Les différentes parties de *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) est récoltée dans deux sites : Metlili et Noumérat. La conservation de cette plante est effectuée par deux méthodes : congélation et séchage à l'abri de la lumière et à la température ambiante. L'extraction des principes actifs de cette espèce (fraîche et sèche) est réalisée par macération en utilisant un système de solvants éthanol/eau : 80/20 (v/v) avec un rapport solide/liquide de 1/10 (p/v). L'évaluation de la réponse adaptative est effectuée par le dosage des différentes classes des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, acides-phénols et tanins condensés) et la détermination du potentiel anti-oxydant (ABTS et FRAP). Les résultats obtenus ont montré que les rendements les plus importants sont enregistrés pour le matériel végétal sec de la région de Noumérat, en particulier l'extrait des feuilles ( $12,34 \pm 0,92\%$ ). Les résultats de dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, acides phénols et des tanins condensés ont prouvé que les fruits et les feuilles secs et frais de *Pergularia tomentosa* de la région de Noumérat sont les plus riches en ces composés phénoliques. L'évaluation du pouvoir anti-oxydant a été réalisée en utilisant deux méthodes chimiques (ABTS et FRAP). La méthode d'ABTS a indiqué que l'extrait des tiges séchées et l'extrait des fruits frais de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Noumérat ont le meilleur pouvoir inhibiteur d'ABTS<sup>•+</sup> avec des  $IC_{50} = 1,10$  mg/ml et  $IC_{50} = 0,64$  mg/ml respectivement. La méthode de FRAP a révélé que les extraits des fruits secs et frais pour la région de Metlili présentent les meilleurs pouvoirs réducteurs de fer qui sont respectivement  $IC_{50} = 7,45$  mg/ml et  $6,31$  mg/ml. En comparaison avec la référence Trolox ( $IC_{50} = 1,65$  mg/ml) le pouvoir anti-oxydant de *Pergularia tomentosa* reste faible. Ces résultats ont montré qu'il y a des différences entre ces deux écotypes qui peuvent être dûes aux propriétés physicochimiques de sol, surtout son pouvoir de rétention d'eau.

**Mots-clés :** *Pergularia tomentosa*, extraits hydroéthanoliques, composés phénoliques, pouvoir anti-oxydant, écotype.

## الاستجابة التأقلمية للغلقة (*Pergularia tomentosa* L) في مختلف الأنماط البيئية بمنطقة غرداية

### الملخص

تتميز النباتات الصحراوية التلقائية بتأقلمها الخاص بالبيئة الصحراوية الجد معيقة لحياتها، ولهذا تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على كيفية تأقلم الغلقة مع مختلف الظروف البيئية في منطقة غرداية. تم تجميع مختلف أجزاء الغلقة (صقلابيات) من موقعين: متليلي و نوميرات ، وتم الحفاظ على هذه النبتة بطريقتين: التجميد والتجفيف في الظل وفي درجة حرارة الغرفة. استخرجت المكونات الفعالة من هذه النبتة (الطازجة والجافة) عن طريق نقعهم في نظام مذيبات الإيثانول / الماء بنسبة 20/80 (v/v) مع نسبة السائل / الصلب 1/10 (p/v) . يتم تقييم طريقة تأقلم النبتة مع الوسط عن طريق تحديد محتوى المركبات الفينولية (البوليفينول، الفلافونويد، والأحماض الفينولية والتانين مكثف) والنشاط المضاد للأكسدة (ABTS et FRAP) . قدر أعلى مردود لدى النبتة الجافة لمنطقة نوميرات وبالأخص مستخلص الأوراق 12.34%. ولقد بينت نتائج التقدير الكمي للبوليفينولات، الفلافونويدات، الأحماض الفينولية والتانين بالطرق اللونية أن مستخلصات الفواكه والأوراق الجافة والطازجة الخاصة بمنطقة نوميرات هي الأغنى بهذه المركبات الفينولية. وتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين: الأولى ABTS ومن خلالها تبين أن منطقة نوميرات سجلت أفضل نشاط لدى مستخلص السيقان الجافة ( $IC_{50}=1.10$  ملغ/مل) و الفواكه الطازجة ( $IC_{50}=0.64$  ملغ/مل). والثانية إرجاع الحديد FRAP التي سجلت أعلى نشاط لدى مستخلص الفواكه بمنطقة متليلي بالنسبة للنبتة الجافة والطازجة بقيم  $IC_{50}$  7.45 ملغ/مل و 6.31 ملغ/مل على التوالي. ومقارنة مع النشاط المضاد للأكسدة ل Trolox ( $IC_{50}=1.6$  ملغ/مل) يبقى نشاط النبتة منخفض. أظهرت هذه النتائج أن هناك اختلافات بين الموقعين وقد تكون بسبب الخصائص الفيزيوكيميائية للتربة، وخاصة القدرة على الاحتفاظ بالمياه.

**الكلمات المفتاحية:** الغلقة، مستخلصات الإيثانول المائية، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، الأنماط البيئية.

# Adaptive response of *Pergularia tomentosa* of different ecotypes in the region of Ghardaïa

## Abstract

The spontaneous plants of the Sahara are very characteristic by their mode of adaptation peculiar to the desert environment very constraining to their survival. The aim of this study is to show the adaptive response of *Pergularia tomentosa* under the conditions of different ecotopes in the region of Ghardaïa (Metlili and Noumerat). The different parts of *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) are harvested at two sites: Metlili and Noumerat. The conservation of this plant is carried out by two methods: freezing and drying in the absence of light and at ambient temperature. The extraction of the active ingredients of this species (fresh and dry) is carried out by maceration using an ethanol / water solvent system: 80/20 (v / v) with a solid / liquid ratio of 1/10 (w / v). The evaluation of the adaptive response is carried out by determining the different classes of phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, acid phenols and condensed tannins) and determining the antioxidant potential (ABTS and FRAP). The results obtained show that the most important yields are recorded for the dry plant material of the Noumerat region, particularly leaf extract ( $12.34 \pm 0.92\%$ ). The results of total polyphenols, flavonoids, phenol acids and condensed tannins have shown that the dry and fresh fruits and leaves of *Pergularia tomentosa* of the Noumerat region are the richest in these phenolic compounds. Evaluation of the antioxidant power was carried out using two chemical methods (ABTS and FRAP). The ABTS method indicated that the extract of the dried stems and the fresh fruit extract of *Pergularia tomentosa* harvested in the Noumerat region had the best ABTS<sup>+</sup> inhibitory potency with  $IC_{50} = 1.10$  mg/ml and  $IC_{50} = 0.64$  mg/ml respectively. The FRAP method showed that extracts of dry and fresh fruits for the Metlili region exhibited the best iron reducing powers, respectively  $IC_{50} = 7.45$  mg/ml and  $6.31$  mg/ml. Compared with Trolox reference ( $IC_{50} = 1.65$  mg/ml) the antioxidant power of *Pergularia tomentosa* remains low. These results showed that there are differences between these two ecotypes which may be due to the physicochemical properties of soil, especially its water retention power.

**Keywords:** *Pergularia tomentosa*, Hydroethanolic extracts, Phenolic compounds, antioxidant activity, ecotype.

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Localisation géographique de site de récolte	7
2	Protocole d'extraction	11
3	Rendements d'extraction des différentes parties de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	16
4	Rendements d'extraction des différentes parties de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	17
5	Teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	18
6	Teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	19
7	Teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	20
8	Teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	21
9	Teneurs en acides-phénols des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	22
10	Teneurs en acides-phénols des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	23
11	Teneurs en tanins condensés des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	24
12	Teneurs en tanins condensés des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	25
13	Activité anti-oxydante des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	26
14	Activité anti-oxydante des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	28
15	Pouvoir réducteur du fer des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	30
16	Pouvoir réducteur du fer des extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	32

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Coordonnées géographiques des stations de récolte	6
II	Classification de <i>Pergularia tomentosa</i>	9
III	Valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	27
IV	Valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	29
V	Valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état sec	31
VI	Valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de <i>Pergularia tomentosa</i> à l'état frais	33

## Liste des photographies

N°	Titre	Page
1	Paysage de la station de Noumérat	7
2	Paysage de la station de Metlili	7
3	<i>Pergularia tomentosa</i>	8
4	Feuilles et fruits de <i>Pergularia tomentosa</i>	8
5	Spectrophotomètre UV-Visible (BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD.(UK)). Université de Ghardaïa	12

## Liste des abréviations

<b>Abréviations</b>	<b>Signification</b>
<b>ABTS</b>	Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique)
<b>ABTS<sup>•+</sup></b>	Radical cation ABTS
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium
<b>ANOVA</b>	Analyse de la variance aléatoire
<b>ATPase</b>	Adénosine-tri-phosphatases
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Fer ferrique
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure de fer
<b>FRAP</b>	<i>ferric reducing ability of plasma</i>
<b>H<sup>+</sup></b>	Proton
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>K<sup>+</sup></b>	Ion de potassium
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>	Persulfate de potassium
<b>LSD</b>	Least significant difference
<b>M</b>	Molarité
<b>mM</b>	Millimole
<b>Na<sup>+</sup></b>	Ion de sodium
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonate de sodium
<b>NaNO<sub>2</sub></b>	Nitrite de sodium
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>p/v</b>	Poids par volume
<b>pH</b>	potentiel d'hydrogène
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>TPTZ</b>	2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>v/v</b>	Volume par volume
<b>Vis</b>	Visible

# Table des matières

<b>Résumé</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des photographies</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b> .....	6
I. Choix de matériel végétal .....	6
I.1. Récolte et préparation des échantillons .....	6
I.2. Description des stations de la récolte .....	6
II. Présentation de la plante étudiée .....	8
II.1. Description botanique de <i>Pergularia tomentosa</i> .....	8
II.2. Position systématique de <i>Pergularia tomentosa</i> .....	9
II.3 Ecologie de l'espèce .....	9
III. Réactifs chimiques .....	10
IV. Méthodes .....	10
IV.1. Extraction des composés phénoliques .....	10
IV.1.1 Principe et la méthode d'extraction .....	10
IV.1.2 Calcul des rendements en extraits secs .....	12
V.2. Analyses quantitatives .....	12
V.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	12
V.2.2. Dosage des flavonoïdes .....	13
V.2.3. Dosage des acides-phénols .....	13
V.2.4. Dosage des tanins condensés ou proanthocyanidines .....	13
V.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante .....	13
V.3.1. Test à l'ABTS .....	14
V.3.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP, <i>ferric reducing ability of plasma</i> ) .....	14
V.3. Analyses statistiques .....	15
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b> .....	16
I. Rendement d'extraction .....	16
II. Teneur en polyphénols totaux .....	17
III. Teneur en Flavonoïdes .....	20
IV. Teneur en acides-phénols .....	22

V. Teneur en tanins condensés ou proantocyanidines .....	24
VI. Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	26
VI.1. Test à l'ABTS .....	26
VI.2. Test FRAP .....	29
Discussion générale .....	34
<b>Conclusion générale</b> .....	37
<b>Références bibliographiques</b> .....	40
<b>Annexes</b> .....	

# *Introduction*

## Introduction

Le Sahara est le plus grand des déserts, mais également le plus expressif et typique par son extrême aridité, c'est à dire celui dans lequel les conditions désertiques atteignent leur plus grande âpreté (Toutain, 1979 ; Ozenda, 1991).

Le Sahara septentrional, avec 1 million de Km<sup>2</sup>, est soumis à l'extrême rigueur du climat méditerranéen, où les pluies surviennent presque toujours en hiver (Quezel, 1965). Il se présente comme une zone de transition entre les steppes méditerranéennes nord africaines et le Sahara central (Chehema, 2006).

Le tapis végétal est discontinu et très irrégulier, puisque la vie se localise surtout autour des points d'eau et dans les lits des torrents là où une humidité résiduelle persiste dans le sol, sinon les autres végétaux désertiques ont développé un ensemble d'adaptations (Ozenda, 1983 ; Faye *et al.*, 1999). La position de chaque espèce dépend d'un ensemble de facteurs écologiques tels que la sécheresse, la nature du sol, l'humidité et la géomorphologie, influant directement sur la distribution des espèces végétales (Medjber-Teguig, 2014).

La flore saharienne apparaît comme très pauvre si l'on compare le petit nombre d'espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre (Ozenda, 1977).

La végétation des zones arides, en particulier celle du Sahara est très clairsemée, à aspect en général nu et isolé, les arbres sont aussi rares que dispersés et les herbes n'y apparaissent que pendant une période très brève de l'année, quand les conditions deviennent favorables. La végétation doit s'adapter au milieu pour survivre et la pénurie d'eau étant le facteur limitant le plus important, les plantes désertiques présentent des modifications morphologiques qui leur permettent de supporter l'insuffisance d'humidité et les longues périodes de sécheresse (UNESCO, 1960).

Les plantes spontanées des régions arides en générale, sont le garant principal d'une activité biologique permanente et d'un écosystème bien équilibré. Les régions arides sont caractérisées par des écosystèmes fragiles et vulnérables à faible production et soumis à une dégradation importante liée essentiellement à une surexploitation anthropique, la sécheresse n'est qu'une circonstance aggravante (Ozenda, 1977).

Les plantes spontanées développées sur des milliers d'années s'adaptent et s'harmonisent parfaitement avec toutes les conditions, notamment en milieux arides (Amirouche et Missset, 2009). L'adaptation des plantes aux duretés des changements climatiques dans ces régions et la capacité de

subsistance des plantes pendant une longue période sèche est obtenue par des moyens extrêmement variés. Son importance est en fonction avec la quantité d'eau disponible (Ozenda, 1983).

L'adaptation se définit comme la capacité d'une plante à croître et à donner des rendements satisfaisants dans des zones sujettes à des stress de périodicités connues. La notion d'adaptation est liée à celles de résistance et de tolérance aux stress. L'adaptation prend trois formes distinctes. L'esquive, qui est la situation où la plante grâce à un rythme de développement spécifique, réussit à s'harmoniser à l'environnement de production, en échappant partiellement ou complètement au stress. L'évitement prend forme grâce au maintien, par divers mécanismes, d'un état interne satisfaisant. Cet état permet à la plante de continuer ses activités métaboliques sans être fortement perturbée par le milieu extérieur qui peut être très stressant. La tolérance du stress qui s'installe dans les tissus de la plante est la capacité de maintenir une activité métabolique. Cette activité assure l'intégrité fonctionnelle aux structures cellulaires et autorise la reprise des activités de la plante dès que les conditions de croissance redeviennent plus normales (Levitt, 1980).

Selon le mode d'adaptation à la sécheresse, la flore saharienne peut être divisée en deux catégories (Ozenda, 1991). Les Plantes éphémères, appelées encore "achebs", n'apparaissent qu'après la période des pluies et effectuant tout leur cycle végétatif avant que le sol ne soit desséché, ces plantes raccourcissent leurs cycles de développement, de manière à supprimer leurs parties aériennes pendant la période de sécheresse, qu'elles traversent soit sous forme de graines (les thérophytes) qui ont une dormance durable et un pouvoir germinatif qui peut être conservé pendant longtemps (Faye *et al.*, 1999), soit sous forme d'organes souterrains (bulbes et rhizomes). La longueur de ce cycle est très variable d'une espèce à une autre et dure généralement de un à quatre mois (Ozenda, 1991 ; Chehma, 2005). Les plantes permanentes ou vivaces, où l'adaptation met ici en jeu, à côté de phénomènes physiologiques encore mal connus, un ensemble d'adaptations morphologiques et anatomiques qui consistent surtout en un accroissement du système absorbant et une réduction de la surface évaporante. Elles ont aussi la capacité de survivre en vie ralentie durant longues périodes et sont dotées de mécanismes d'adsorption racinaire et de rétention d'eau performants (Ozenda, 1991 ; Faye, 1997). Ce type de végétation est moins sujet aux variations saisonnières (Gauthier-Pilters, 1969). En plus de leur importance écologique et fourragère, ces plantes spontanées ont de multiples usages, pratiqués traditionnellement par la population locale, tant sur le plan pharmaceutique, alimentaire que domestique (Hammiche *et al.*, 1988 ; Ould El Hadj *et al.*, 2003).

A travers l'importance écologique et environnementale que possèdent les plantes sahariennes, dans l'alimentation des bétails, la médecine traditionnelle, protection et fixation du sol qu'elle offre, et refuge pour plusieurs êtres vivants, elles n'ont cependant pas bénéficié de l'attention qu'elles méritent (Ramade, 2003).

Parmi les plantes spontanées qui s'adaptent au milieu aride et qui est très utilisées en médecine traditionnelle, on trouve *Pergularia tomentosa*. Elle appartient à la famille des Asclepiadaceae (Maman, 2003). C'est un arbrisseau vivace, spontané, xérophyte et chamaephyte très répandu en Afrique du Nord, plus commune dans le Sahara algérien (Al-Said *et al.*, 1989). Elle est observée en pieds isolés ou en petits groupes dans les Oueds sablo-argileux et les regs, montrant une amplitude assez large pour les sols sableux, argileux graveleux ou pierreux ainsi que sur les plateaux caillouteux (Quezel et Santa, 1962 ; Quezel et Santa, 1963).

L'espèce *Pergularia tomentosa*, bien qu'elle soit toxique, elle est largement utilisée en médecine traditionnelle. Selon Ould El Hadj *et al.* (2003), en Algérie et spécifiquement dans la région de Ouargla, cette espèce est connue pour des usages thérapeutiques externes de la poudre des feuilles et de fleurs pour traiter les angines, les dermatoses et la teigne, les spasmes et les diarrhées (Al-Qura'n, 2005) ainsi que le diabète (Kemassi *et al.*, 2014).

*Pergularia tomentosa* possède un large spectre d'utilisation en médecine traditionnelle. Les parties les plus utilisables sont : le latex, les feuilles et les racines. Ces parties sont généralement recueillies en printemps, différents modes de préparation sont utilisés tels que l'infusion, la décoction, la poudre et mélangés avec d'autres plantes, cette plante est prise soit par voie orale soit par utilisation extérieure (Maman, 2003). Cette plante est également utilisée pour le tannage, écrasée et étalée sur la peau. Elle fait tomber les poils rapidement (Maman, 2003).

Les feuilles de *Pergularia tomentosa* sont appliquées en cataplasme contre les piqûres des serpents et des scorpions. Une décoction de feuilles et de tiges est utilisée pour le traitement de la bronchite et de la tuberculose. Ce traitement doit être pris avec beaucoup de soin, aussi, il est interdit aux femmes enceintes (Babaamer *et al.*, 2012). Les tiges et les racines sont utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle dûe à leur richesse en potassium (Hassan et Umar, 2007).

A l'état sec elle est utilisée pour traiter les douleurs dentaires et la fatigue générale (Maman, 2003).

Plusieurs études ont montré les activités biologiques et thérapeutiques de *Pergularia tomentosa*. L'étude réalisée par Acheuk et Doumandji-Mitiche (2013) a montré que les alcaloïdes (extraits de la partie aérienne) ont un effet larvicide considérable avec un taux de mortalité dépendant de la dose. Talwar *et al.*, (1989) ont prouvé que *Pergularia tomentosa* est riche en magnésium qui est un micronutriment antioxydant intervenant dans la stimulation du système immunitaire.

Huit glycosides cardénolides ont été isolés à partir des racines de *Pergularia tomentosa* pour étudier l'activité potentielle contre les cancers, ces composés testés *in vitro* ont montré l'inhibition de croissance de cellule de six différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines, et pour leur capacité à inhiber l'activité de la pompe  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$ -ATPase. Les résultats obtenus suggèrent que les caractéristiques structurales des cardénolides étudiés ont des propriétés spécifiques cytotoxiques. (Piacente *et al.*, 2009).

La richesse de *Pergularia tomentosa* en certains métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, et les stéroïdes peut être responsable de l'activité antidermatophytique de cette espèce (Shinkafi, 2013).

L'étude réalisée par Hassan et Umar (2007), a montré que les extraits de *Pergularia tomentosa* inhibe les champignons comme : *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus Niger* et *Aspergillus flavus*. Les flavonoïdes ont une forte activité antimicrobienne (Özcelik *et al.*, 2008). Ils peuvent inhiber des *Streptococcus mutans* et d'autres bactéries (Koo *et al.*, 2002).

L'activité molluscicide de deux cardénolides extraite de *Pergularia tomentosa* a été évaluée sur l'escargot terrestre *Monacha obstructa* (Hussein *et al.*, 1999).

La *Pergularia tomentosa* est considérée comme une plante toxique réputée nocive pour la grossesse (Hammiche *et al.*, 2013). En effet, les hétérosides sont très cardio-toxiques lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse. La toxicité de cette espèce est due à un hétéroside « pergularine » qui fait augmenter la contraction musculaire en particulier les muscles cardiaques (Neuwinger, 1996).

Notre travail qui s'inscrit dans le cadre de la réponse adaptative chimique des plantes spontanées utilisées en médecine traditionnelle, nous allons étudier la plante *Pergularia tomentosa* issue de deux différentes régions du Sahara septentrional (Ghardaïa). L'objectif de cette étude est la mise en évidence de la réponse adaptative de *Pergularia tomentosa* sous les conditions des différents écotypes dans la région de Ghardaïa, et la caractérisation biochimique des extraits préparés de *Pergularia tomentosa* en évaluant leurs pouvoir antioxydant ainsi que la quantification des différentes classes des composés phénoliques.

La présente étude portera sur l'extraction et l'analyse quantitative de certains métabolites secondaires : les polyphénols, les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins, et une contribution à la mise en évidence de leur activité anti-oxydante sur le matériel végétal à l'état frais et après le séchage.

*Chapitre I :*  
*Matériel et méthodes*

## Chapitre I : Matériel et méthodes

### I. Choix de matériel végétal

Le choix de l'espèce végétale *Pergularia tomentosa* se justifie par plusieurs critères :

- La disponibilité ;
- Les plantes spontanées sont dotées d'une gamme de métabolites secondaires importants par rapport aux plantes cultivées (Barmo et Amani, 2010) ;
- Leur effet thérapeutique (Chehma, 2006 ; Barmo et Amani, 2010).

#### I.1. Récolte et préparation des échantillons

Les différentes parties de *Pergularia tomentosa* (fruits, feuilles, tiges et racines) sont récoltées au mois de Novembre 2016 dans deux stations de Metlili et de Noumérat (wilaya de Ghardaïa).

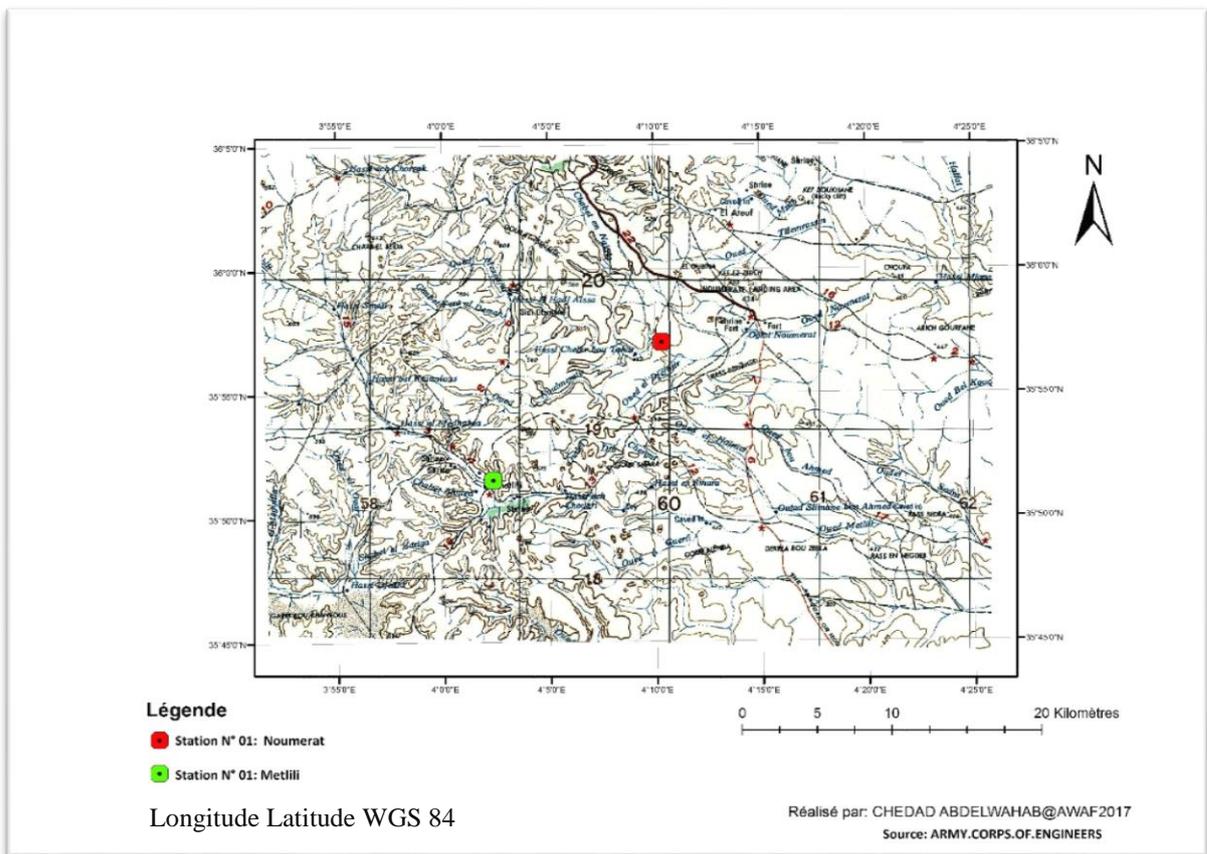
Le matériel végétal récolté est divisé en deux. La première partie est nettoyée, rincée à l'eau, ensuite séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant trois semaines. Après le séchage, le matériel séché est broyé à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine. La deuxième partie est conservé à l'état frais dans le congélateur. Les mêmes étapes sont réalisées pour les deux régions.

#### I.2. Description des stations de la récolte

Les paramètres géographiques des stations de récolte sont présentés dans le Tableau I et la figure 1.

**Tableau I :** Coordonnées géographiques des stations de récolte ([www.tutiempo.net](http://www.tutiempo.net)).

Sites	Commune (wilaya)	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Précipitations (mm)	Température (°C)
<b>A</b>	<b>Metlili (Ghardaïa)</b>	507	32°16' 23,24" Nord	3° 38' 6,08" Est	<b>2014</b> 35,29	23,3
					<b>2015</b> 47,49	22,5
<b>B</b>	<b>Noumerat (Ghardaïa)</b>	447	32°21' 22,16" Nord	3° 45' 17,7" Est	<b>2016</b> 17,51	23,2



**Figure 1 :** Localisation géographique des sites de la récolte (conservation des Forêts Ghardaïa, 2017).

Les photos 1 et 2 présentent les deux stations ( Noumerat et Metlili) de récolte de la plante étudiée *Pergularia tomentosa*.



**Photo 1 :** Paysage de la station de Noumerat.



**Photo 2 :** Paysage de la station de Metlili.

## II. Présentation de la plante étudiée

### II.1. Description botanique de *Pergularia tomentosa*

*Pergularia tomentosa* est une plante herbacée ou semi-ligneuse, arbrisseau vivace pouvant dépasser 1 m de hauteur. Les jeunes rameaux volubiles s'enroulent fréquemment autour des plus anciens lui donnant un aspect touffu, contenant :

- **La tige** : couverte de courts poils verdâtres, grimpante ou volubile, tomenteuse à l'état jeune.
- **Les feuilles** : Opposées, verts amandes, ovales ou arrondies, en cœur à la base, caractérisées par l'absence des stipules et pétiole de 0,5 à 1,5cm de long.



Bellaghouti A, Mrini F, 2016

**Photo 3:** *Pergularia tomentosa*.

- **L'inflorescence** : En grappes abondantes au bout de longs pédoncules.
- **Les fruits** : Composés de deux follicules, portent de petites pointes.
- **Les fleurs** : bisexuées, régulières, parfumées, 5-mères. Sépales et pétales plus ou moins soudés à la base. Corolle rotacée ou campanulacée, doublée d'une paracorolle à 5 pièces, en général d'origine staminale. Etamines 5 à anthères sessiles en général adhérentes stigmat, souvent déhiscentes en pollinies.
- **Les graines** : ovoïdes, aplaties, de 7 à 9 mm environ 6 mm, bords pales, à poils courts denses, munies d'une touffe de poils à une extrémité, d'environ 3 cm de long
- **Les racines** : tubérisées, à poils raides et courtes ou parfois glabre, contenant de latex (Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013).
- **Période de végétation** : Floraison en printemps (Chehema, 2006).



Bellaghouti A, Mrini F, 2016

**Photo 4 :** Feuilles et fruits de *Pergularia tomentosa*.

L'espèce *Pergularia tomentosa* possède de nombreux noms vulgaires :

- **Arabe** : En Algérie (Maiza *et al.*, 1993), en Egypte et en Arabie Saoudite (Al-Said *et al.*, 1988), elle est connue sous le nom Ghelga, et Ghoulga, demya et leben el hamir (IUCN, 2005).
- **Targui** : tashkat, dellakal, tellakh, sellaha (IUCN, 2005).
- **Français** : Pergulaire (IUCN, 2005).
- **Anglais** : Pergularia (Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013).

## II.2. Position systématique de *Pergularia tomentosa*

Selon (Barmo et Amani, 2010), la classification de *Pergularia tomentosa* est représentée dans le Tableau II.

**Tableau II** : Classification de *Pergularia tomentosa*.

Taxonomie	Description
Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Gentianales
Famille	Asclepiadaceae
Genre	<i>Pergularia</i>
Espèce	<i>Pergularia tomentosa.</i> , 2010

## II.3 Ecologie de l'espèce

*Pergularia tomentosa* est une plante vivace des pays secs. Elle pousse bien dans les déserts où les précipitations ne dépassent souvent les 100 mm par an, dans le lit des Oueds et sur les plateaux, sur des sols argileux à sablonneux, graveleux et pierreux. Elle est présente depuis le niveau de la mer jusqu'à 1000 m d'altitude. Le long de la mer Rouge, on le trouve au sein des communautés de plantes qui dominent les plaines sablonneuses (Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013).

### III. Réactifs chimiques

Tous les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont achetés de Sigma Aldrich, Fluka analyticals et VWR Prolabo Chemicals.

### IV. Méthodes

#### IV.1. Extraction des composés phénoliques

##### IV.1.1 Principe et la méthode d'extraction

Dans cette étude la méthode d'extraction des principes actifs que nous avons adoptée est la macération. C'est une extraction qui se fait à une température ambiante. Elle consiste à laisser le matériel végétal en contact prolongé avec le solvant (Spigno et De faveri, 2007 ; Budic-Leto *et al.*, 2005).

Une quantité du matériel végétal est extraite par macération avec un système de solvants éthanol-eau (80:20 v/v) avec un rapport solide/liquide de 1/10 : p/v pendant 3 heures à la température ambiante. Puis le mélange est filtré en utilisant un papier Wattman N° 1. Les extraits obtenus sont concentrés par le rotavapor (Heidolph) à 40 °C jusqu'à l'évaporation de l'éthanol. Les extraits concentrés sont conservés à +4°C jusqu'à leur utilisation.

Les différentes étapes de notre expérimentation sont représentées dans la figure 2.

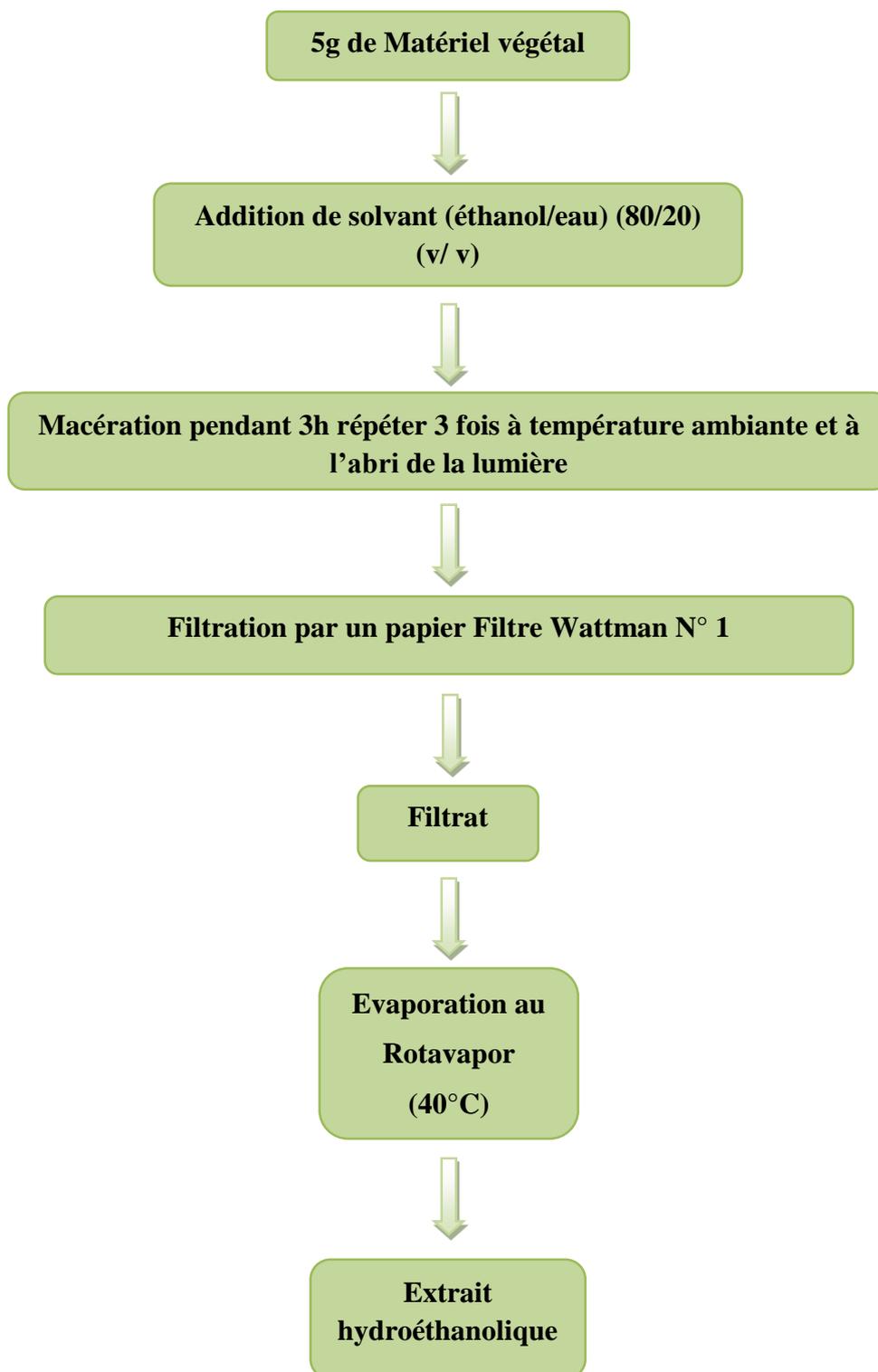


Figure 2 : Protocole d'extraction.

### IV.1.2 Calcul des rendements en extraits secs

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé *via* l'équation :

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

**R (%)** : Rendement en % ;

**Me** : Masse de l'extrait sec (g) ;

**Mv** : Masse du matériel végétal de départ (g).

## V.2. Analyses quantitatives

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de composés phénoliques ont été effectuées sur les différents extraits de *Pergularia tomentosa*.

### V.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été fait par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). Un volume de 40 µl de l'extrait est mélangé avec 1,8 ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée). Après un repos de 5 min, 1,2 ml de la solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5 %) est ajouté au mélange. Ensuite, les différents mélanges sont reposés pendant 60 min à l'obscurité, à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO. LTD. (UK)). L'acide gallique est utilisé comme référence pour la préparation de la gamme d'étalonnage (0-800 µg/ml) (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en mg en équivalent d'acide gallique EAG/g de poids sec (PS) de matériel végétal (Shui et Leong, 2006).



**Photo 5:** Spectrophotomètre UV-Visible (BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO. LTD. (UK)).

Université de Ghardaïa.

### V.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est effectuée selon la méthode de Kim *et al.* (2003). Après la dilution quatre fois de 1 ml de l'extrait, 0,3 ml de solution de nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$  (5%) est ajouté. Après 5 min, 0,3 ml de solution de chlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (10%) est ajouté. Le mélange est laissé au repos pendant 5 min, puis 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  (1 M) sont additionnés. Le volume de ce mélange est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. Après agitation, l'absorbance est mesurée immédiatement à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. La gamme étalon est préparée avec la rutine (0,05-0,5 mg/ml) (Annexe 2) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine ER/g de poids sec de matériel végétal.

### V.2.3. Dosage des acides-phénols

La méthode d'Arnov est utilisée pour la détermination de taux des acides-phénols (Szauffer-Hadjrych, 2004). Le réactif d'Arnov (solution aqueuse de molybdate de sodium et nitrite de sodium 10% (p/v)) va se réagir avec les groupements hydroxyles en *ortho* des acides phénols en milieu acide, ce qui conduit à la formation d'un chromogène de couleur orange. La lecture de l'absorbance de cette couleur est faite à 490 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. La préparation de la gamme étalon est faite par l'acide caféique (0 à 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) (Annexe 2). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide caféique EAC/g de poids sec de matériel végétal.

### V.2.4. Dosage des tanins condensés ou proanthocyanidines

La vanilline-HCl est utilisée pour le dosage des tanins condensés selon la méthode décrite par Sun *et al.* (1998). Un volume de 1 ml de la solution fraîchement préparée de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCl (98:2, v/v) est ajouté à 0,2 ml de l'extrait ou d'une solution de catéchine (0 à 1 mg/ml). Après incubation à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Le taux des tanins condensés est calculé en mg en équivalent de catéchine EC/g de poids sec de matériel végétal.

## V.3. Evaluation de l'activité anti-oxydante

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante des composés phénoliques des différents extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisés deux tests chimiques à savoir : le test d'ABTS qui mesure le pouvoir d'inhibition des radicaux cations d'ABTS<sup>•+</sup> et le test FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) qui mesure le pouvoir de réduction des ions de fer.

### V.3.1. Test à l'ABTS

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité anti-oxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{•+}$ , obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox (acide carboxylique 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman). L'obtention du radical cation résulte en contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation ou par réaction chimique avec le persulfate de potassium. Le radical  $ABTS^{•+}$ , en contact avec un donneur de  $H^•$  conduit à l' $ABTS^+$  et à la décoloration à 734 nm de la solution (Françoise *et al.*, 2004).

La génération du radical cation d' $ABTS^{•+}$  est effectuée par réaction chimique entre une solution d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$  (2,45 mM) selon la méthode décrite par Cai *et al.* (2004). Le mélange est incubé à 23 °C pendant 12 à 16 heures, à l'obscurité. La solution d' $ABTS^{•+}$  est diluée avec l'éthanol (80%) jusqu'à l'obtention d'une absorbance égale à  $0,700 \pm 0,020$  à 734 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO. LTD. (UK)).

L'inhibition du radical cation d' $ABTS^{•+}$  par différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* est réalisée en mélangeant 3,9 ml de la solution d' $ABTS^{•+}$  avec 0,1 ml de l'échantillon testé préparé à différentes concentrations (1/10, 1/25, 1/50, 1/75, 1/100 µg/ml). Le mélange est agité vigoureusement. Après un repos de 6 min à 23 °C, l'absorbance est mesurée à 734 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue en utilisant une solution éthanolique de Trolox (acide carboxylique 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman) à différentes concentrations (0 à 500 µM) (voir Annexe 2). Les résultats sont exprimés en µM en équivalent de Trolox ET/g de poids sec de matériel végétal.

### V.3.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP, *ferric reducing ability of plasma*)

La méthode FRAP développée par Benzie et Strain (1996) correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique  $[(Fe^{3+}-TPTZ)_2]$  en un complexe tripyridyltriazine ferreux  $[(Fe^{2+}-TPTZ)_2]$  par un anti-oxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer. Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît, ce qui permet de la quantifier par spectrophotométrie UV-Vis. Ainsi, la formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur qui détermine la capacité d'un composé à se comporter comme un anti-oxydant.

La détermination du pouvoir réducteur du fer ( $Fe^{3+}$ ) est effectuée pour les différents extraits en utilisant la méthode décrite par Benzie et Strain (1996) avec de légères modifications (Jaitak *et al.*, 2010).

Le réactif FRAP est préparé à partir de tampon acétate (0,3 M, pH 3,6), de TPTZ 10 mM en solution dans de l'HCl 40 mM et d'une solution de FeCl<sub>3</sub> (20 mM) en proportion de 10:1:1 (v/v) respectivement.

Un volume de 50 µl des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* de différentes concentrations (1/5, 1/10, 1/15 µg/ml) sont ajoutés à 1,5 ml de réactif FRAP. L'absorbance du mélange réactionnel est ensuite mesurée à 593 nm après 4 min par rapport à l'eau distillée (Jaitak *et al.*, 2010). Le Trolox a été utilisé comme standard (0 à 800 µM) et les résultats sont exprimés en µM équivalent de Trolox.

### V.3. Analyses statistiques

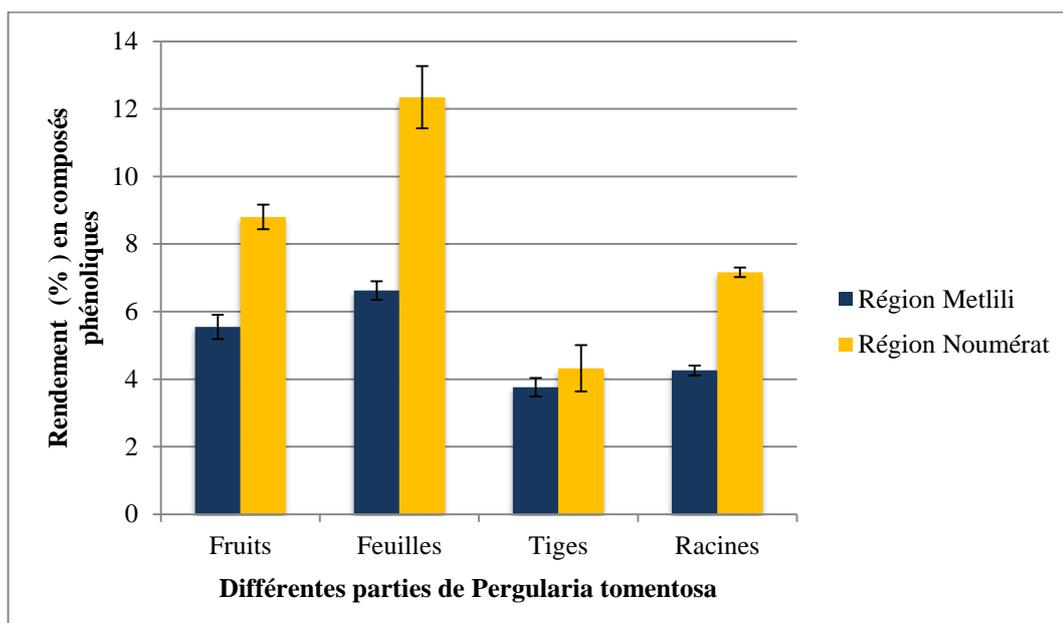
Les comparaisons des résultats entre eux nécessitent l'utilisation d'outils statistiques. Le programme XLSTAT 2017 a donc été utilisé pour faire les analyses de variance (ANOVA) qui permet de détecter les différences entre les extraits, les états du matériel végétal et les deux régions par comparaison des moyennes *via* le test Fisher (LSD) avec un seuil de significativité de 5%. Les différentes IC<sub>50</sub> pour le test à l'ABTS et FRAP ont été déterminés par la régression linéaire. Le test de corrélation entre les variables étudiés est calculé.

# *Chapitre II : Résultats et discussion*

## Chapitre II : Résultats et discussion

### I. Rendement d'extraction

Après l'extraction, le rendement d'extraction des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumérat est calculé. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 3 pour la plante séchée et 4 pour la plante fraîche.

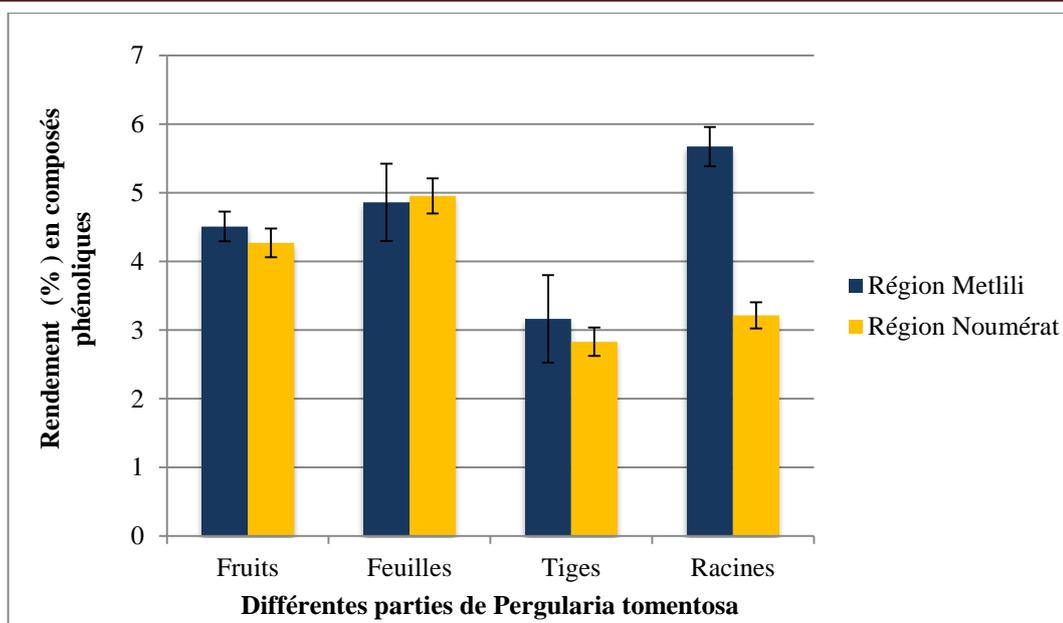


**Figure 3 :** Rendements d'extraction des différentes parties de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Il ressort de ces résultats qu'il y a des différences entre les extraits des différentes parties de la plante *Pergularia tomentosa* et aussi entre les deux écotypes, Metlili et Noumérat. Les rendements les plus élevés sont ceux obtenus avec les extraits de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Noumérat. Pour cette région, l'extrait des feuilles a le rendement le plus important suivi par celui de l'extrait des fruits qui sont de l'ordre de  $12.34 \pm 0.92\%$  et  $8.80 \pm 0.36\%$  respectivement.

Pour la région de Metlili, les rendements les plus élevés sont ceux des extraits des feuilles ( $6.62 \pm 0.27\%$ ) et des fruits ( $5.54 \pm 0.36\%$ ).

Les rendements les plus faibles sont enregistrés pour l'extrait des tiges et des racines de *Pergularia tomentosa* pour la région de Metlili, qui sont  $3.76 \pm 0.27\%$  et  $4.32 \pm 0.68\%$  respectivement.



**Figure 4 :** Rendements d'extraction des différentes parties de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

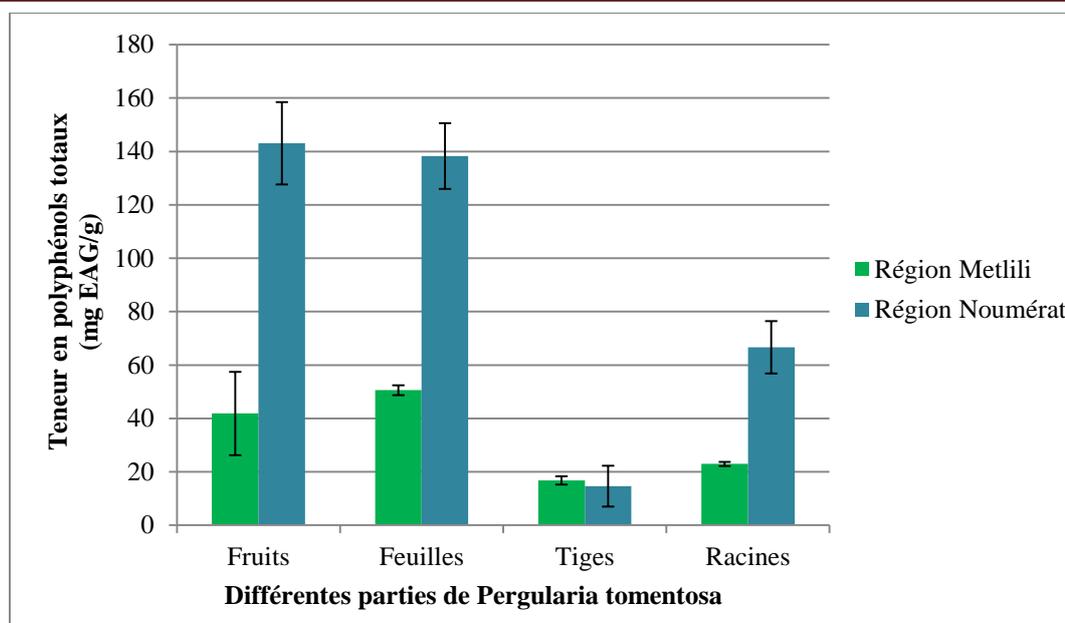
Pour le matériel végétal frais, nous constatons que les extraits des différentes parties de la plante récoltée dans la région de Metlili présentent les rendements les plus élevés en comparaison avec ceux de la région de Noumérat. Le rendement le plus élevé est enregistré pour l'extrait des racines ( $5.67 \pm 0.28\%$ ) pour la région de Metlili suivi par ceux des feuilles de  $4.96 \pm 0.25\%$  pour la région de Noumérat et de  $4.86 \pm 0.56\%$  pour la région de Metlili.

Les rendements les plus faibles sont obtenus avec les extraits des tiges pour les deux régions qui sont  $3.16 \pm 0.63\%$  pour la région de Noumérat et  $2.83 \pm 0.20\%$  pour la région de Metlili.

Les analyses de variance réalisées ont montré qu'il y a des différences significatives entre les extraits ( $P < 0.05$ ) des différentes parties et entre les régions ( $P < 0.05$ ). Aussi, des différences significatives sont observées pour l'état (sec ou frais) du matériel végétal.

## II. Teneur en polyphénols totaux

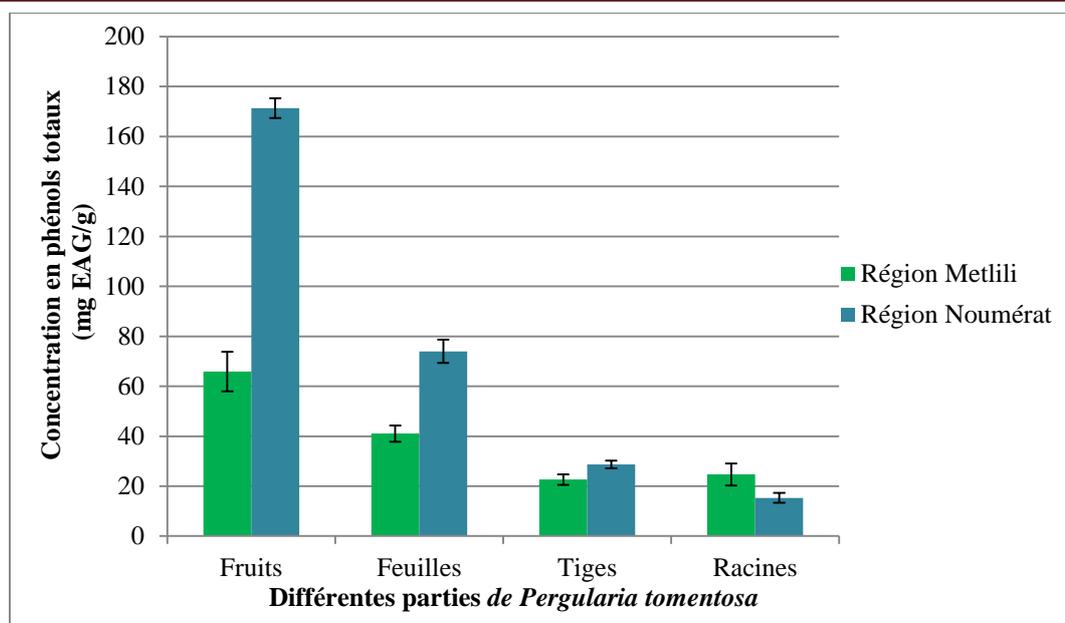
Les figures 5 et 6 présentent les teneurs des polyphénols des différentes parties sèches et fraîches de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumérat.



**Figure 5 :** Teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Les résultats obtenus, présentés dans la figure 5, montrent que les teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques des fruits ( $143.06 \pm 15.44$  mg EAG/g), des feuilles ( $138.26 \pm 12.30$  mg EAG/g) et des racines ( $66.64 \pm 9.80$  mg EAG/g) de *Pergularia tomentosa* de la région de Noumerat sont les plus élevées en comparaison avec celles des extraits de cette plante récoltée dans la région de Metlili. Pour cette dernière, la teneur en polyphénols la plus importante est observée pour l'extrait des feuilles qui est  $50.56 \pm 1.81$  mg EAG/g, suivi par celle de l'extrait des fruits avec un taux de  $41.82 \pm 15.65$  mg EAG/g.

Les teneurs en polyphénols les plus basses sont enregistrées pour les extraits des tiges des deux régions et qui sont  $16.76 \pm 1.57$  mg EAG/g et  $14.63 \pm 7.63$  mg EAG/g pour la région de Metlili et Noumerat respectivement.



**Figure 6 :** Teneurs en polyphénols totaux des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

Les résultats obtenus ont montré que les quantités des polyphénols totaux observées dans les extraits hydroéthanoliques des fruits ( $171.32 \pm 3.97$  mg EAG/g), des feuilles ( $73.99 \pm 4.65$  mg EAG/g) et des tiges ( $28.68 \pm 1.57$  mg EAG/g) de *Pergularia tomentosa* récoltée de la région de Noumérat sont plus importantes par rapport à celles trouvées dans les extraits de la plante *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Metlili.

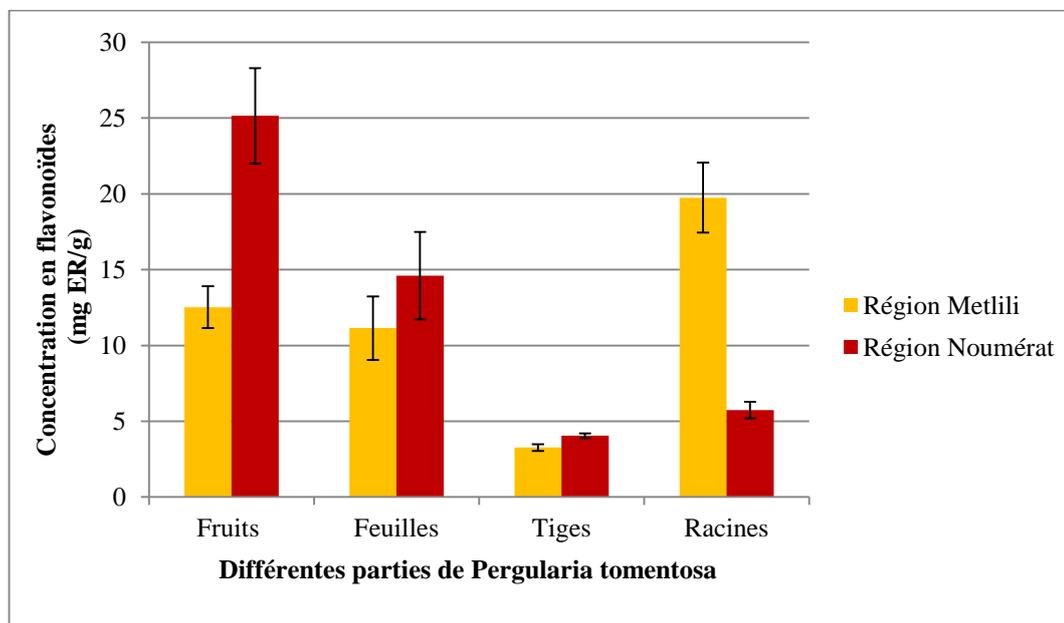
Pour la région de Metlili, Les fruits ont la teneur la plus élevée suivi par celle des feuilles qui sont  $65.84 \pm 7.92$  mg EAG/g,  $41.03 \pm 3.26$  mg EAG/g successivement.

Les teneurs en polyphénols les plus faibles sont enregistrées pour l'extrait des racines qui est  $15.29 \pm 1.98$  mg EAG/g pour la région de Noumérat et l'extrait des tiges avec  $22.63 \pm 2.07$  mg EAG/g pour la région de Metlili.

Statistiquement, il y a des différences significatives entre les teneurs en polyphénols des différents extraits ( $P < 0.05$ ). Aussi, la différence est significative entre les extraits des deux régions ( $P < 0.05$ ). L'état du matériel végétal a aussi n'a aucun effet significatif sur le taux des polyphénols.

### III. Teneur en Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est réalisée par une réaction colorimétrique selon la méthode de Kim *et al.* (2003). Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 7 et 8.



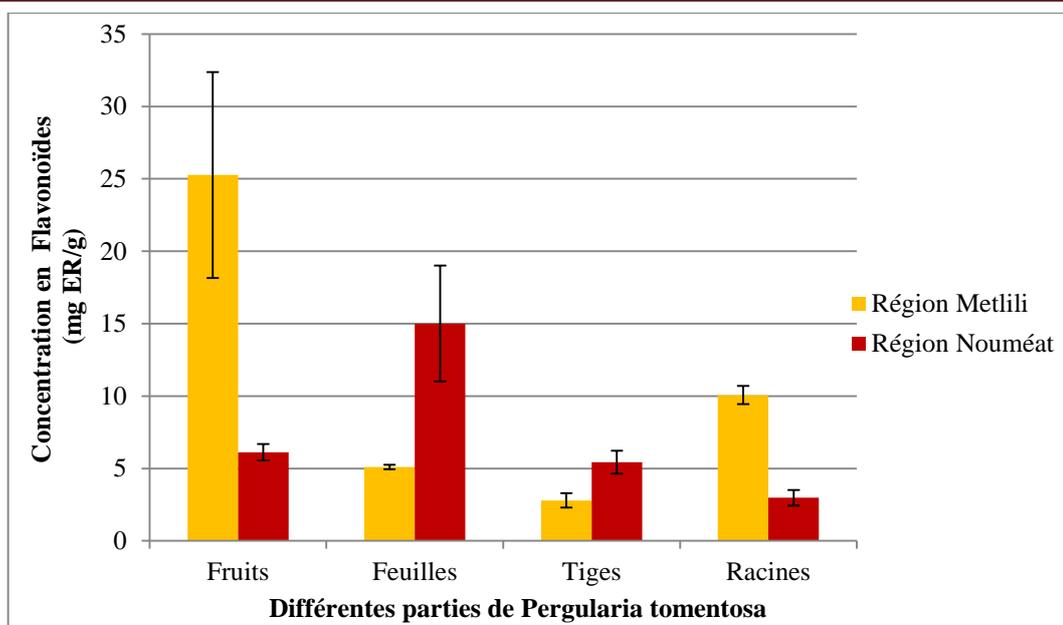
**Figure 7 :** Teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Les résultats illustrés dans la figure 7 montrent que les teneurs en flavonoïdes varient considérablement entre les différents extraits hydroéthanoliques des différentes parties de la plante *Pergularia tomentosa* et entre les deux régions.

Les extraits hydroéthanoliques les plus riches en flavonoïdes sont ceux des fruits avec un taux de  $25.15 \pm 3.15$  mg ER/g pour la région de Noumérat et des racines avec un taux de  $19.75 \pm 2.29$  mg ER/g, pour la région de Metlili.

En ce qui concerne les teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanolique des feuilles, nous constatons que celle obtenue pour la région de Noumérat est plus élevée que celle de la région de Metlili et qui sont  $14.06 \pm 2.89$  mg ER/g et  $11.14 \pm 2.09$  mg ER/g successivement.

Les taux les plus bas des flavonoïdes sont enregistrés pour les extraits hydroéthanoliques des tiges avec  $4.02 \pm 0.15$  mg ER/g et  $3.26 \pm 0.22$  mg ER/g pour la région de Noumérat et Metlili respectivement.



**Figure 8 :** Teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

Pour le matériel végétal frais, les résultats obtenus font apparaître qu'il y a des différences significatives entre les différentes parties de la plante *Pergularia tomentosa* et aussi entre les deux écotypes (Mettlili et Nouméat).

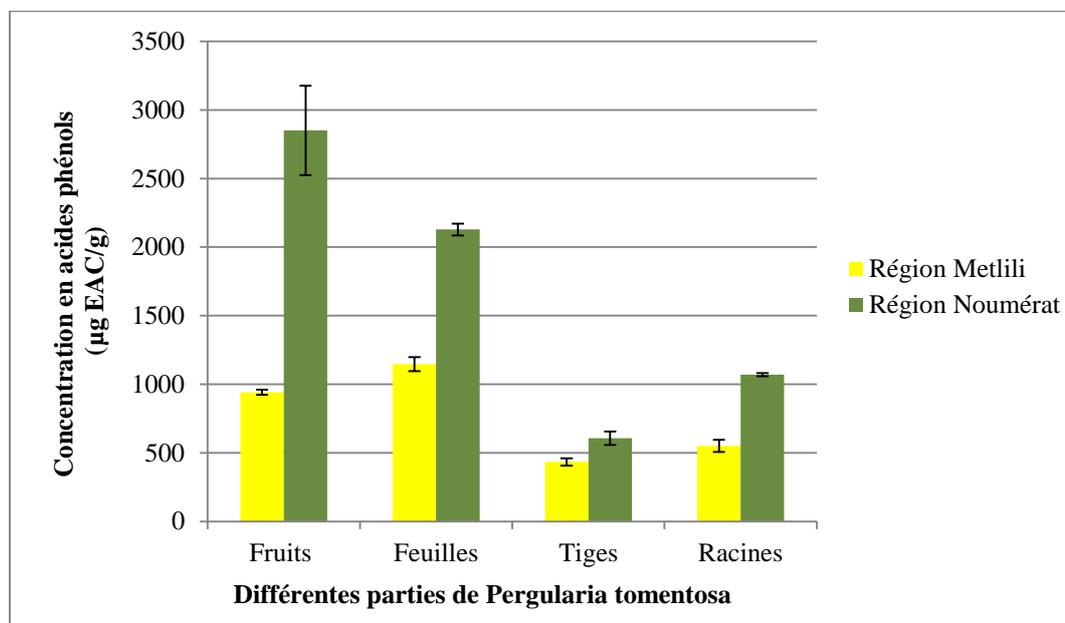
D'après la figure 8, nous remarquons que la teneur en flavonoïdes dépend de la partie utilisée et du lieu de la récolte de la plante. L'extrait hydroéthanolique des fruits de *Pergularia tomentosa* de la région de Metlili ont le taux le plus important des flavonoïdes ( $25.26 \pm 7.10$  mg ER/g) suivi par les extraits des feuilles de la région de Nouméat ( $15.00 \pm 4.21$  mg ER/g) et des racines de la région de Metlili ( $10.07 \pm 0.63$  mg ER/g).

Les extraits des tiges de la région de Metlili et des racines de la région Noumerat ont des taux faibles en flavonoïdes avec des valeurs respectives de  $2.79 \pm 0.5$  mg ER/g et  $4.98 \pm 0.54$  mg ER/g.

L'analyse statistique des teneurs en flavonoïdes, montre qu'il y a des différences significatives entre les différentes parties ( $P < 0.05$ ), et entre les deux régions ( $P < 0.05$ ). Tandis qu'elle n'est pas significative entre l'état frais et l'état sec du matériel végétal.

#### IV. Teneur en acides-phénols

La détermination de la teneur des acides phénols des extraits des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumérat a été effectuée selon la méthode d'Arnov (Sun *et al.*, 1998). Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 9 et 10.



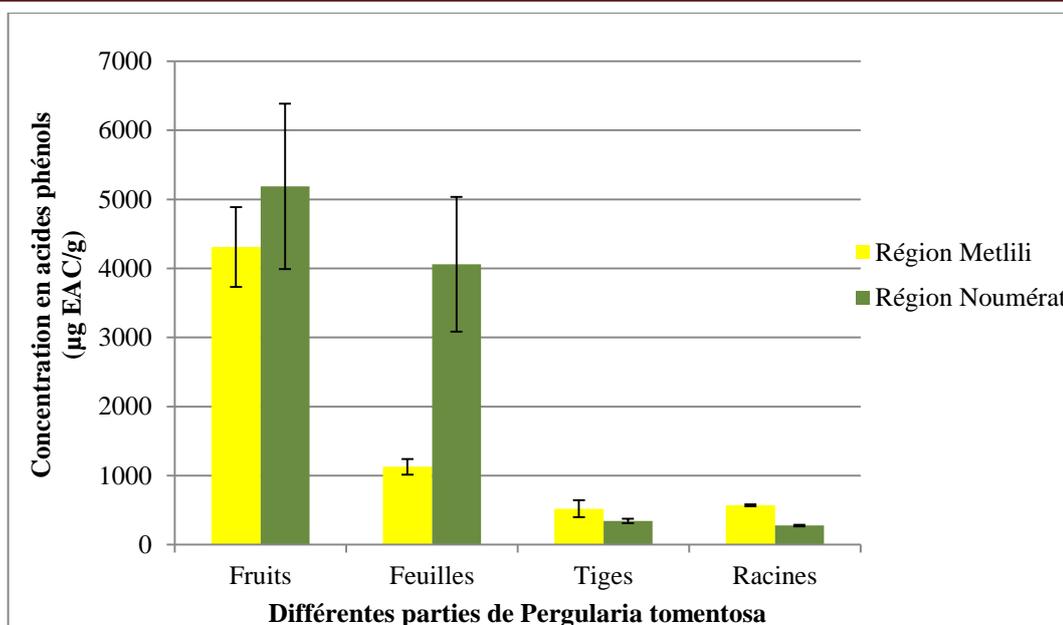
**Figure 9** : Teneurs en acides-phénols des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Les résultats obtenus montrent bien que les teneurs en acides phénols varient en fonction de la partie de la plante, de l'état du matériel végétal et aussi de la région de la récolte.

En fonction de la région, les meilleures teneurs en acides phénols de la plante séchée sont obtenues avec les extraits de la région de Noumérat. En effet, la teneur la plus élevée en acides phénols est enregistrée pour l'extrait des fruits ( $2850.49 \pm 325.69$  µg EAC/g) suivi par celle de l'extrait des feuilles ( $2128.27 \pm 42.88$  µg EAC/g).

Pour la région de Metlili, l'extrait des feuilles présente la teneur en acides-phénols la plus importante qui est  $1146.33 \pm 50.75$  µg EAC/g suivi par celle de l'extrait des fruits avec un taux de  $941.16 \pm 18.95$  µg EAC/g.

Les teneurs basses en acides-phénols sont obtenues avec l'extrait des racines pour la région de Metlili ( $551.57 \pm 44.17$  µg EAC/g) suivi par l'extrait des tiges ( $433.15 \pm 27.61$  µg EAC/g).



**Figure 10 :** Teneurs en acides-phénols des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

A la lumière de ces résultats, on s'aperçoit clairement que la teneur en acides-phénols varie significativement entre les différentes parties de la plante *Pergularia tomentosa*.

Pour l'écotype de Noumerat, la teneur en polyphénols la plus importante est obtenue avec l'extrait des fruits qui est de  $5189.23 \pm 1198$  µg EAC/g suivi par celle de l'extrait des feuilles avec  $4061.69 \pm 976.12$  µg EAC/g.

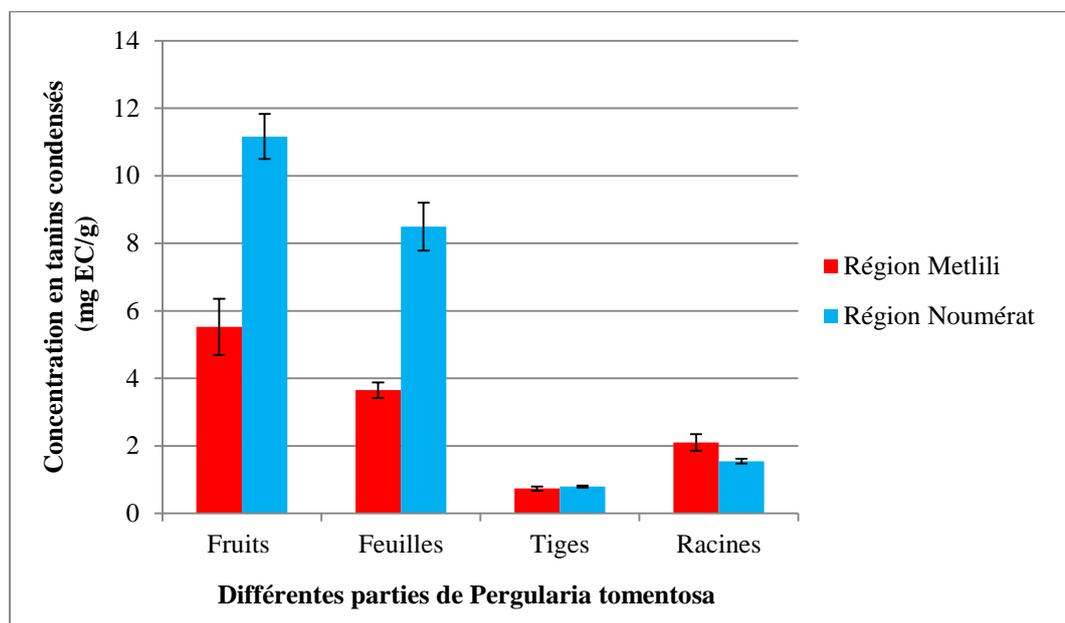
Pour l'écotype de Metlili, l'extrait des fruits a la teneur la plus importante suivi par celle de l'extrait des feuilles qui sont de l'ordre de  $4311.32 \pm 576.98$  µg EAC/g et  $1127.5 \pm 113.32$  µg EAC/g respectivement.

L'extrait des tiges et des racines de *Pergularia tomentosa* récoltée de la région de Noumerat enregistrent les plus faibles teneurs en acides-phénols qui sont  $344.31 \pm 33.15$  µg EAC/g et  $276.71 \pm 10.42$  µg EAC/g successivement.

Notons par ailleurs, que l'analyse de variance de ces résultats montre que la différence est significative entre les extraits des différentes parties ( $P < 0.05$ ) et elle n'est pas significative entre les deux régions et les deux états.

## V. Teneur en tanins condensés ou proantocyanidines

L'estimation quantitative des tanins condensés a été réalisée par la méthode de la vanilline-HCl. Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 11 et 12.



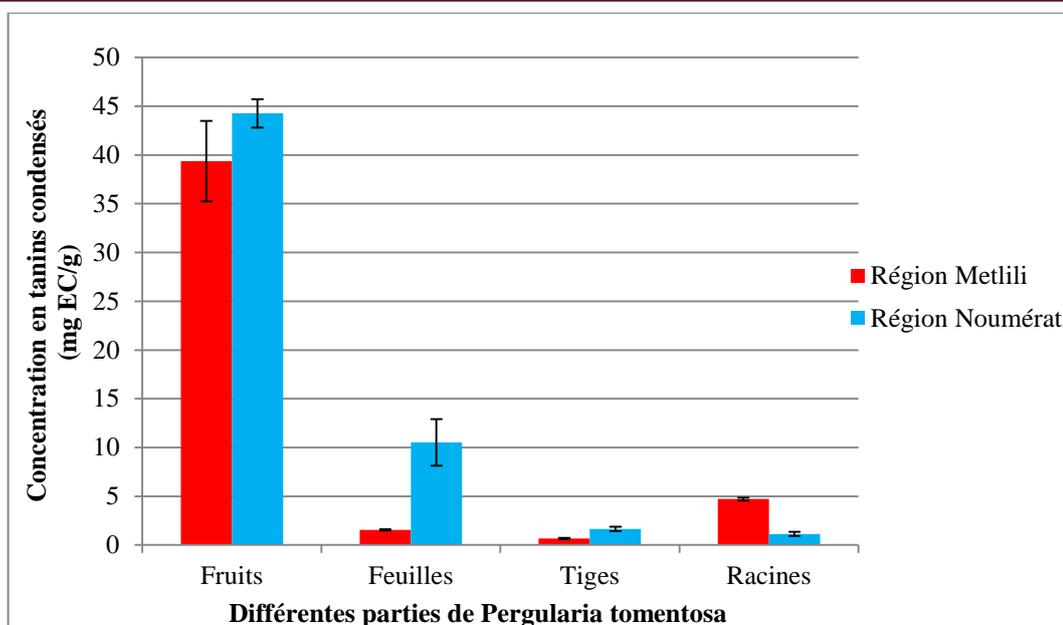
**Figure 11 :** Teneurs en tanins condensés des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Les résultats, présentés dans la figure 11, montrent que les teneurs en tanins condensés varient considérablement entre les extraits hydroéthanoliques des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumerat.

Au vu de ces résultats, il ressort que les teneurs en tanins condensés des extraits hydroéthanoliques des fruits ( $11.16 \pm 0.66$  mg EC/g) et des feuilles ( $8.49 \pm 0.70$  mg EC/g) de *Pergularia tomentosa* de l'écotype de Noumerat sont les plus élevées en comparaison avec celles des extraits de cette plante récoltée dans l'écotype Metlili.

Pour la région de Metlili, les teneurs maximales en tanins condensés sont enregistrées pour l'extrait hydroéthanolique des fruits de  $5.52 \pm 0.82$  mg EC/g suivi par celle de l'extrait hydroéthanolique des feuilles avec une teneur de  $3.64 \pm 0.23$  mg EC/g.

La faible teneur en tanins condensés est enregistrée pour l'extrait hydroéthanolique des tiges qui est  $0.73 \pm 0.05$  mg EC/g et des racines avec  $1.54 \pm 0.06$  mg EC/g pour la région de Metlili et Noumerat respectivement.



**Figure 12 :** Teneurs en tanins condensés des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

Pour le matériel végétal frais, nous constatons que la quantité des tanins condensés est faible ou négligeable en comparaison avec le matériel végétal sec.

Le dosage par la vanilline-HCl des tanins condensés n'a révélé la présence de ces molécules que dans l'extrait hydroéthanolique des fruits et des racines pour la région de Metlili et l'extrait des feuilles et des fruits pour la région de Noumérat.

Les résultats indiquent que l'extrait hydroéthanolique des feuilles, des tiges pour la région de Metlili et l'extrait hydroéthanolique des tiges, des racines pour la région de Noumérat sont pauvres en tanins condensés avec  $1.55 \pm 0.07$  mg EC/g,  $0.66 \pm 0.05$  mg EC/g,  $1.64 \pm 0.23$  mg EC/g et  $1.13 \pm 0.20$  mg EC/g respectivement.

Les teneurs en tanins condensés les plus élevées sont enregistrées pour les extraits des fruits de *Pergularia tomentosa* pour les deux régions, qui sont  $44.27 \pm 1.45$  mg EC/g pour la région de Noumérat et  $39.36 \pm 4.11$  mg EC/g pour la région de Metlili.

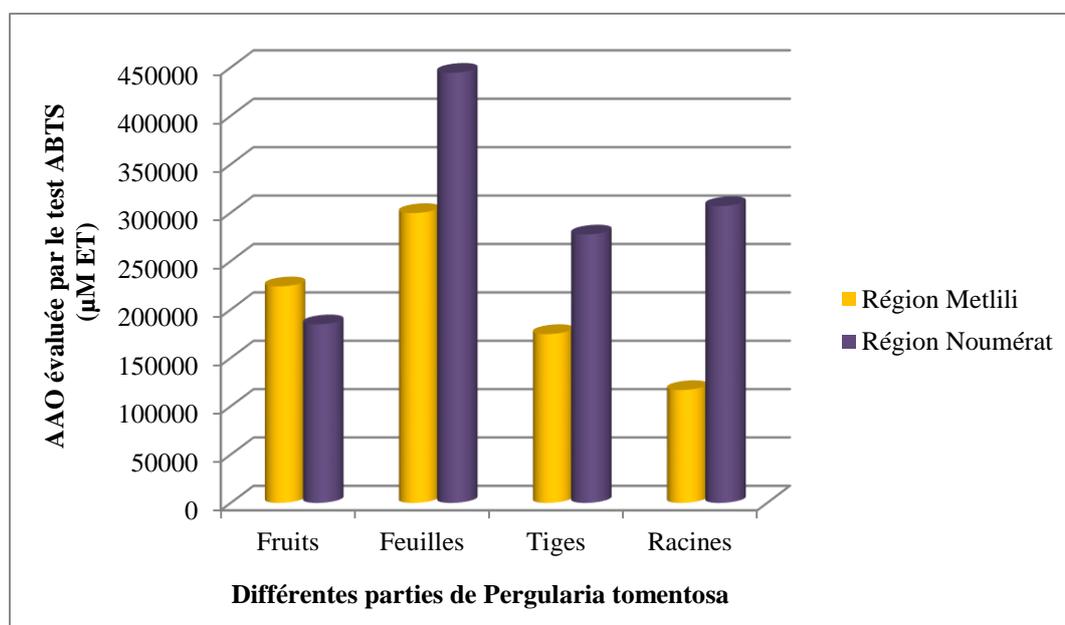
La comparaison entre les résultats obtenus par l'utilisation des outils statistiques montre que la différence n'est significative qu'entre les extraits des différentes parties.

## VI. Evaluation de l'activité anti-oxydante

La mise en évidence du pouvoir anti-oxydant des extraits hydroéthanoliques des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumérat est effectuée par deux méthodes différentes : le test de Pouvoir réducteur du fer (FRAP, *ferric reducing ability of plasma*) et la méthode de réduction de radical cation ABTS<sup>+</sup>.

### VI.1. Test à l'ABTS

Le pouvoir anti-oxydant des extraits hydroéthanoliques est testé à différentes concentrations en extraits. Cette activité est évaluée par la détermination des concentrations IC<sub>50</sub> correspondant à la concentration de l'extrait capable d'inhiber 50% de radical cation ABTS<sup>+</sup>. Les résultats sont indiqués sur les tableaux III et IV.



**Figure 13 :** Activité anti-oxydante des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Les résultats de l'activité anti-oxydante par le piégeage du radical cation ABTS<sup>+</sup> montrent que les différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les deux écotypes possèdent une remarquable activité anti-oxydante. Les extraits de la plante récoltée dans la région de Noumérat présentent les meilleurs pouvoirs anti-oxydants, en particulier l'extrait des feuilles avec 444519.79 µM ET, suivi par l'extrait des feuilles pour la plante de la région de Metlili égale à 299665.56 µM ET.

Les faibles activités anti-oxydantes sont enregistrées pour l'extrait des racines et des tiges avec 116803.07 µM ET et 174686.77 µM ET.

La détermination de la concentration inhibitrice de 50% du radical est effectuée et les résultats sont illustrés dans le tableau III.

**Tableau III :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Région Metlili			Région Noumérat		
Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<b>Fruits</b>	% inhibition= 16.20+16.48*C	2,05	Fruits	% inhibition= 15.86+18.68*C	1.82
<b>Feuilles</b>	% inhibition= 15.98+20.78*C	1,63	Feuilles	% inhibition= 17.22+17.95*C	1.82
<b>Tiges</b>	% inhibition= 14.43+17.92*C	1,98	Tiges	% inhibition= 14.16+32.40*C	1.10
<b>Racines</b>	% inhibition= 14.44+20.19*C	1,76	Racines	% inhibition= 14.96+22.09*C	1.58
<b>Trolox</b>	% inhibition=7.40+1.11*C		IC <sub>50</sub> = 0.038 mg/ml		

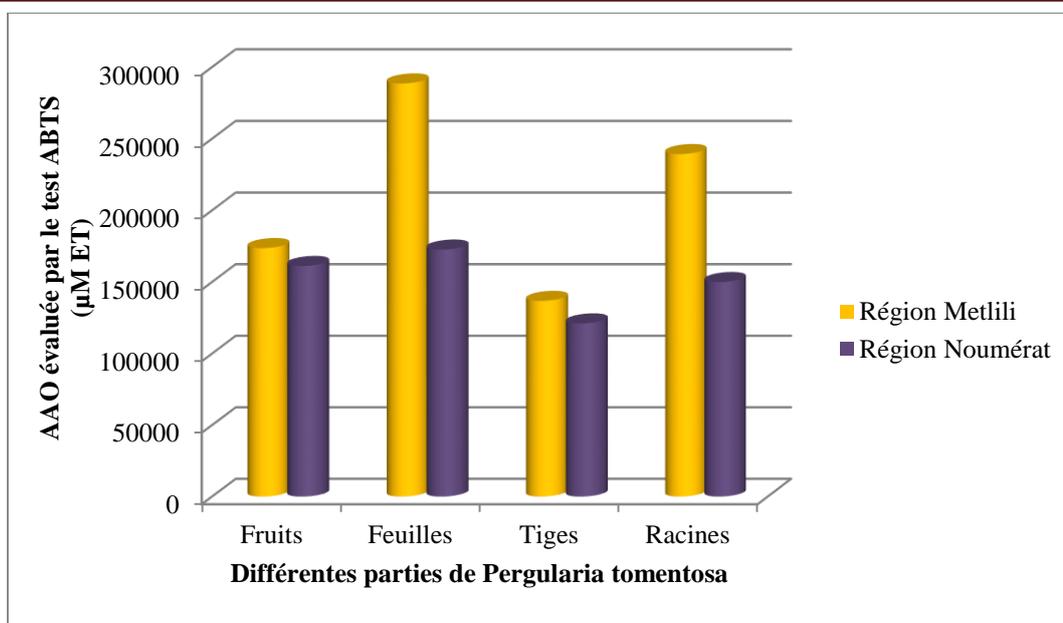
C= concentration ; IC<sub>50</sub>=concentration inhibitrice de 50% de l'ABTS<sup>•+</sup>.

Les meilleurs pouvoirs anti-oxydants sont ceux des fruits, des tiges et des racines de *Pergularia tomentosa* récoltée de la région de Noumérat avec des IC<sub>50</sub> respectives de 1.58 mg/ml, 1.10 mg/ml et 1.82 mg/ml. En comparaison avec le standard Trolox (0.038 mg/ml) ce pouvoir anti-oxydant reste nettement inférieur.

Pour la région de Metlili le meilleur pouvoir anti-oxydant est observé pour l'extrait des feuilles avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 1.63 mg/ml, qui est supérieur à celle de Trolox (0.038 mg/ml).

Nous pouvons classer les extraits selon leurs activité anti-oxydante par ordre de réactivité décroissante : Trolox > Extraits des tiges (Noumerat) > Extraits des racines (Noumerat) > Extraits des feuilles (Mettili) > Extraits des racines (Mettili) > Extraits des fruits (Noumerat) = Extraits des feuilles (Noumerat) > Extraits des tiges (Mettili) > Extraits des fruits (Mettili).

La figure 14 présente l'activité anti-oxydante des différentes parties fraîches de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumérat.



**Figure 14** : Activité anti-oxydante des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

Les résultats obtenus montrent que les différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée de la région de Metlili sont dotées d'un pouvoir anti-oxydant plus important que celui de la région de Noumérat.

Les meilleur pouvoir anti-oxydant sont enregistrés pour l'extrait des feuilles et des racines de la région de Metlili avec 288540.9 µM ET et 239276.5 µM ET respectivement.

Les extraits des tiges des deux régions présentent une faible activité anti-oxydante qui est 136777.6 µM ET pour la région de Metlili et 121046,7 µM ET pour la région de Noumérat.

Le tableau IV présente l'activité anti-oxydante des différents extraits exprimés en  $IC_{50}$ .

**Tableau IV :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

Région Metlili			Région Noumérat		
Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<b>Fruits</b>	%inhibition= 15.95+24.33*C	0.8	Fruits	%inhibition= 15.52+53.22*C	0.64
<b>Feuilles</b>	%inhibition= 17.29+26.77*C	1.22	Feuilles	%inhibition= 20.53+20.88*C	1.41
<b>Tiges</b>	%inhibition= 14.98+27.69*C	1.26	Tiges	%inhibition= 13.37+23.16*C	1.58
<b>Racines</b>	%inhibition= 15.55+6.36*C	5.41	Racines	%inhibition= 12.17+19.02*C	1.98
<b>Trolox</b>	%inhibition=7.40+1.11*C		IC <sub>50</sub> =0.038 mg/ml		

C= concentration ; IC<sub>50</sub>=concentration inhibitrice de 50% de l'ABTS<sup>•+</sup>.

D'après les résultats obtenus, il apparaît clairement que les extraits hydroéthanoliques de la région de Noumérat enregistrent les meilleurs Concentrations inhibitrices par rapport à celles de la région de Metlili.

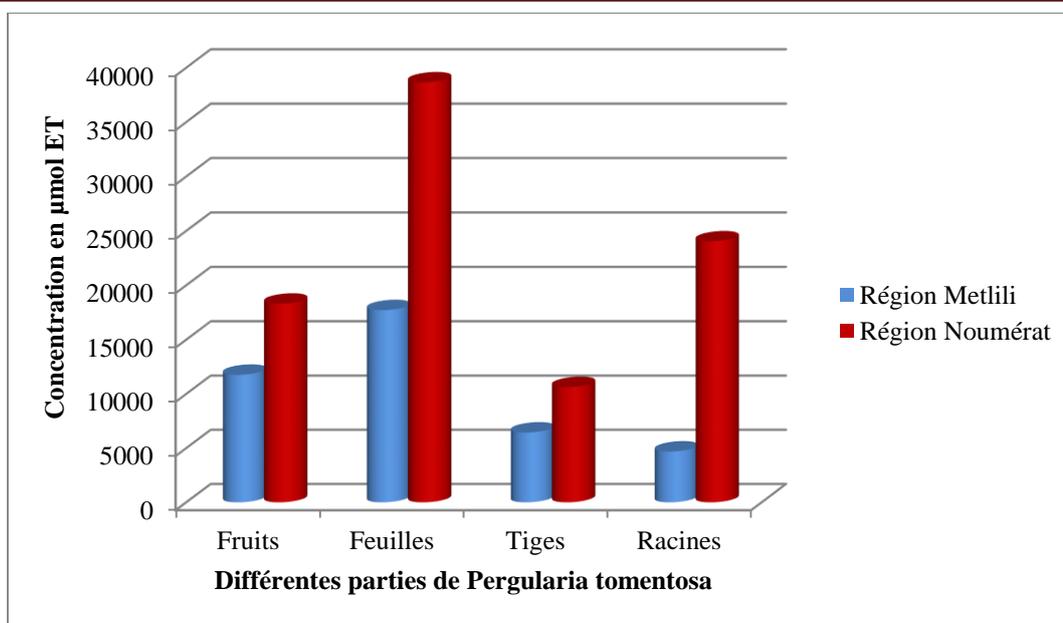
les faibles concentrations IC<sub>50</sub> sont enregistrées pour les extraits des fruits de *Pergularia tomentosa* pour les deux régions, qui sont 0.8 mg/ml pour la région de Metlili et 0.64 mg/ml pour la région de Noumérat, ce qui témoigne d'un pouvoir de piégeage des radicaux libres plus important mais reste inférieur à celui de Trolox (IC<sub>50</sub> = 0.038 mg/ml).

L'activité anti-oxydante la plus basse est enregistrée pour l'extrait des racines de la région de Metlili avec une IC<sub>50</sub> (5.41 mg/ml) hautement supérieur par rapport à la référence Trolox.

Une analyse de variance a été faite dans le but de comparer entre les deux sites de récoltes de la plante et les différents extraits. Cette analyse montre qu'il n'y a aucune différence significative dans tous les cas.

## VI.2. Test FRAP

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité anti-oxydante potentielle. Le Trolox, connu par son puissant pouvoir anti-oxydant, est donc utilisé comme référence afin d'évaluer l'activité anti-oxydante des extraits étudiés. Les résultats obtenus sont les suivants (Fig. 15 et 16).



**Figure 15 :** Pouvoir réducteur du fer des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Il apparaît à travers ces résultats que tous les extraits hydroéthanoliques des différentes parties de *Pergularia tomentosa*, récoltée dans les deux écotypes ont la capacité de réduire le fer. Les pouvoirs réducteurs les plus élevés sont ceux obtenus avec les extraits de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Noumérat. Pour cette région, l'extrait des feuilles a la capacité réductrice la plus importante suivi par celle de l'extrait des racines qui sont de l'ordre de  $38651.43 \pm 2732.80 \mu\text{M ET}$  et  $24037.22 \pm 2504.66 \mu\text{M ET}$  respectivement.

Pour l'écotype de Metlili, les pouvoirs réducteurs les plus élevés sont ceux des extraits des feuilles ( $17716.52 \pm 1361.74 \mu\text{M ET}$ ) et des fruits ( $11767.59 \pm 764.62 \mu\text{M ET}$ ).

La capacité réductrice la plus basse est enregistrée pour l'extrait hydroéthanolique des racines et des tiges de la région de Metlili avec  $4689.07 \pm 367.226 \mu\text{M ET}$  et  $6442.9 \pm 848.78 \mu\text{M ET}$  successivement.

D'après ces résultats nous pouvons déduire que les différents extraits de *Pergularia tomentosa* ont une activité anti-oxydante qui est exprimée en  $IC_{50}$ , ce paramètre a été défini comme une concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du fer.

Les valeurs des  $IC_{50}$  trouvées pour tous les extraits testés sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau V** : Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état sec.

Région Metlili			Région Noumerat		
Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<b>Fruits</b>	% de réduction = -2.46+6.38*C	7.45	Fruits	% de réduction = -5.31+5.10*C	8.76
<b>Feuilles</b>	% de réduction = -0.55+6.46*C	7.65	Feuilles	% de réduction = 0.41+3.95*C	15.26
<b>Tiges</b>	% de réduction = 2.15+4.74*C	10.09	Tiges	% de réduction = 0.62+6.42*C	7.69
<b>Racines</b>	% de réduction = 1.18+5.27*C	9.26	Racines	% de réduction = 3.45+3.28*C	14.16
<b>Trolox</b>	% de réduction = 0.31+0.03*C		IC <sub>50</sub> =1.65 mg/ml		

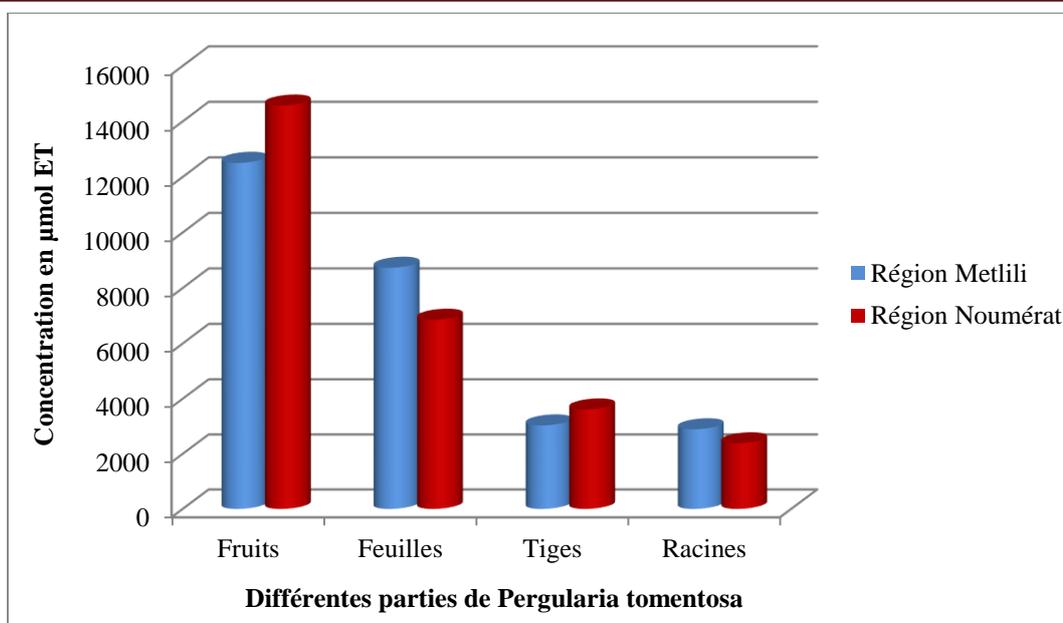
C= concentration ; IC<sub>50</sub>=concentration réductrice de 50% du fer.

D'après les résultats représentés dans le tableau V, nous observons que les activités anti-oxydantes des extraits hydroéthanoliques des fruits (IC<sub>50</sub>= 7.45 mg/ml), des feuilles (IC<sub>50</sub>= 7.65 mg/ml) et des racines (IC<sub>50</sub>= 9.26 mg/ml) de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Metlili sont les plus élevées en comparaison avec celles de la région de Noumerat. Pour cette dernière, l'activité anti-oxydante la plus importante est celle des tiges (IC<sub>50</sub>= 7.69 mg/ml).

En comparant les concentrations IC<sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* avec celle de Trolox (IC<sub>50</sub>= 1.65 mg/ml), nous déduisons que l'activité anti-oxydante de tous nos extraits est inférieure à celle de la référence Trolox.

Si nous classons nos extraits selon l'activité antioxydante par rapport au Trolox, nous obtiendrons l'ordre décroissant suivant : Trolox > Extraits des fruits (Mettlili) > Extraits des feuilles (Mettlili) > Extraits des tiges (Noumerat) > Extraits des fruits (Noumerat) > Extraits des racines (Mettlili) > Extraits des tiges (Mettlili) > Extraits des racines (Noumerat) > Extraits des feuilles (Noumerat).

Le classement des extraits selon la méthode d'ABTS est totalement différent du classement obtenu par la méthode de réduction du fer (FRAP). En général tous les extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Noumerat et Metlili possédant une activité anti-oxydante.



**Figure 16** : Pouvoir réducteur du fer des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

D'après les résultats illustrés dans la figure 16, il s'avère que la capacité de réduire le fer diminue de l'ordre de : extrait des fruits > extrait des feuilles > extrait des tiges > extrait des racines, pour les deux écotypes Metlili et Noumérat.

Les pouvoirs réducteurs les plus importants sont enregistrés pour les extraits des fruits de *Pergularia tomentosa* pour les deux régions, qui sont  $14568.49 \pm 511,29 \mu\text{M ET}$  pour la région de Noumérat et  $12504.96 \pm 1583,03 \mu\text{M ET}$  pour la région de Metlili.

Ces résultats mis en évidence que les extraits ont une activité antioxydante exprimée en  $\text{IC}_{50}$ , et qui est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau VI :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* à l'état frais.

Région Metlili			Région Noumérat		
Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	Extraits	Équation de la régression linéaire	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<b>Fruits</b>	% de réduction = -0.50+7.54*C	6.31	Fruits	% de réduction = 5+6.43*C	6.99
<b>Feuilles</b>	% de réduction = -3.36+6.15*C	7.58	Feuilles	% de réduction = -2.62+4.53*C	11.42
<b>Tiges</b>	% de réduction = -1.56+2.96*C	16.36	Tiges	% de réduction = 2.36+1.83*C	26.03
<b>Racines</b>	% de réduction = 1.79+0.69*C	69.86	Racines	% de réduction = -1.35+4.10*C	11.86
<b>Trolox</b>	% de réduction = 0.31+0.03*C		IC <sub>50</sub> =1.65 mg/ml		

C= concentration ; IC<sub>50</sub>=concentration réductrice de 50% du fer.

Les résultats obtenus montrent que les meilleures activités anti-oxydantes sont ceux de *Pergularia tomentosa* récoltée de la région de Metlili. Pour cet écotype, l'extrait des fruits, des feuilles et des tiges ont le meilleur pouvoir anti-oxydant avec des IC<sub>50</sub> égales à 6.31mg/ml, 7.58 mg/ml et 16.36 mg/ml successivement.

Pour la région de Noumérat, l'activité anti-oxydante la plus importante est celle des fruits (IC<sub>50</sub>= 6,99 mg/ml).

En comparant l'activité anti-oxydante des différents extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* avec celle de Trolox (IC<sub>50</sub>= 1.65 mg/ml), nous constatons que cette activité est faible par rapport à l'anti-oxydant Trolox.

La plus faible activité a été enregistrée chez l'extrait des racines pour la région de Metlili vaut 69.86 mg/ml qui est hautement inférieur en comparaison avec la référence Trolox.

Le classement des extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa* selon leur potentiel anti-oxydant obtenu par la méthode d'ABTS est complètement différent à celui obtenu par la méthode de FRAP.

Statistiquement, on n'observe pas une différence significative entre les différents extraits et même entre les deux régions.

## Discussion générale

Les végétaux, en particulier les plantes sahariennes ont développés de nombreuses adaptations morphologique, physiologique et biochimique pour faire face aux conditions extrêmes de leur environnement. La compréhension des mécanismes d'adaptation surtout biochimique de ces plantes peut nous aider à conserver et préserver les écosystèmes sahariens caractérisés par leur fragilité par des programmes de rétablissement de la couverture végétale et aussi à exploiter ces informations dans le développement de l'agriculture saharienne. Plusieurs études ont été réalisées sur les adaptations morphologique et physiologique des plantes dans les régions arides mais la réponse chimique de ces plantes est rarement étudiée (Chehema, 2005 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Hadj Allal, 2014).

L'étude phytochimique de la plante (*Pergularia tomentosa*.) montre sa richesse en différentes classes des composés phénoliques. Nous avons comparé les quantités des composés phénoliques des différentes parties de *Pergularia tomentosa*. les résultats rapportés indiquent qu'il y a des différences significatives entre elles. La richesse de la partie aérienne, en particulier les feuilles en composés phénoliques est probablement dûe au fait que cette partie est le siège de plusieurs fonctions telles que la photosynthèse et aussi elle est plus exposée aux différents agents stressants biotiques et abiotiques surtout les rayonnements ultra-violet.

Pour cela, la présence de certaines classes des composés phénoliques en grande quantité dans les feuilles surtout les tanins semble être formé un écran empêchant ainsi l'altération de cet organe par ces rayonnements. Aussi, les flavonoïdes participent à la protection des tissus jouant un rôle d'écran *vis-à-vis* des rayonnements solaires nocifs par accumulation dans les cellules épidermiques de la plante (Crozier *et al.*, 1997 ; Grotewold, 2006 ; Stobieck *et al.*, 2006).

En plus, on peut également noter que les flavonoïdes contribuent à la coloration des plantes (Fleurs, fruits, feuilles) par leur rôle des pigments qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques (Mukohata *et al.*, 1978 ; Grace *et al.*, 1996 ; Bruneton, 1999) et ils interviennent dans la maturité des fruits (Park et Cha, 2003 ; Subsamanian *et al.*, 2007 ; Yang *et al.*, 2008), ainsi que dans l'attraction des animaux pour la pollinisation et la dispersion des graines.

La présence des flavonoïdes avec une quantité importante dans les racines peut être expliquée par leur rôle dans la longueur et la croissance des poils absorbants (Taylor et Grotewold, 2005). Comme ils interagissent d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance (Ghedadba *et al.*, 2015).

Les flavonoïdes jouent un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites synthétisés par la plante en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Ghedadba *et al.*, 2015). En plus, certaines molécules de cette classe participent dans le phénomène de mycorhization. L'étude réalisée par Maleš *et al.* (2010) a montré qu'il y a des différences dans les teneurs des composés phénoliques et que les feuilles et les graines sont les plus riches en flavonoïdes et tanins en comparaison avec les autres parties d'*Inula candida* L. Appel (1993) a signalé que cette différence est en relation étroite avec le stade de développement de la plante, la reproduction, la résistance aux maladies, aux prédatations et parasitisme ainsi que les interactions compétitives.

La quantité des composés phénoliques dépend essentiellement aux conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique de la récolte (Park et Cha, 2003), et la durée de sa conservation (Özgüven et Tansi, 1998). En outre, le séchage a une influence très importante sur la quantité des composés phénoliques. Il apparait aussi que la température de séchage a un effet remarquable sur les métabolites secondaires qui sont très sensibles selon l'étude réalisée par Fathi et Sefidkon (2012) qui a montré que la température de séchage a un effet significatif sur le rendement d'extraction des métabolites secondaires en point de vue quantitative et qualitative.

Les différences enregistrées entre les deux écotypes sont probablement dues aux différences des propriétés physicochimiques de sol. En effet, Medinski (2007) a prouvé que les propriétés physicochimiques de sol ont une influence sur le métabolisme de la plante. L'interaction plante-sol semble avoir un grand effet sur la composition phénolique de la plante. La carence de sol en certains éléments essentiels (N, K, P) ou bien la présence de certains d'autres en quantité énorme met la plante dans un état de stress conduit à la formation excessive des radicaux libres conduisant à l'altération des différents tissus. Pour sortir de cet état de stress les plantes produisent les molécules aromatiques en particulier les polyphénols en quantité importante.

Ces composés constituent la principale substance d'interaction du règne végétal avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions *vis-à-vis* des organismes pathogènes. Ils participent aussi de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix *et al.*, 2005).

L'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits hydroéthanoliques des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumérat par la méthode de réduction

de radical cation ABTS<sup>•+</sup> et la méthode de réduction de fer (FRAP) ont révélé que les deux écotopes présentent un pouvoir anti-oxydant remarquable. En comparaison avec la référence trolox, le pouvoir anti-oxydant de *Pergularia tomentosa* reste faible.

Les résultats obtenus montrent que les extraits hydroéthanoliques des différentes parties de *Pergularia tomentosa* ont une activité anti-oxydante importante en particulier les fruits. Cette activité anti-oxydante constatée, est due à une production des métabolites secondaires (Gagandeep, 2006). L'analyse chimique des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les régions de Metlili et Noumerat confirme l'existence de propriétés anti-oxydantes révélées par les tests ABTS et FRAP, dont les résultats obtenus montrent que la richesse des fruits en polyphénols surtout en flavonoïdes. Ces derniers sont des composés phénoliques connus par leurs puissantes activités anti-oxydantes (Barreca *et al.*, 2011). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de donner un atome d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (Le *et al.*, 2007).

# *Conclusion*

## Conclusion générale

Les plantes spontanées développées sur des milliers d'années s'adaptent et s'harmonisent parfaitement avec toutes les conditions, notamment en milieux arides. Le présent travail s'est intéressé à la réponse adaptative de *Pergularia tomentosa* sous les conditions des différents écotypes dans les régions de Metlili et Noumérat ainsi que la caractérisation biochimique des extraits hydroéthanoliques des différentes parties de cette plante par la quantification de certaines classes des composés phénoliques (les phénols totaux, les flavonoïdes, les acides-phénols et les tanins condensés) et l'évaluation de leurs pouvoir anti-oxydant en utilisant deux méthodes (ABTS et FRAP).

L'extraction des composés phénoliques est effectuée par un système de solvant éthanol/eau : 80/20 (v/v) et avec un rapport solide/liquide de 1/10 (p/v). La détermination de rendement d'extraction a montré que les extraits des différentes parties de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Noumérat ont les meilleurs rendements, en particulier l'extrait des feuilles avec 12,34%. Par ailleurs les meilleurs rendements d'extraction de la plante fraîche sont ceux obtenus de *Pergularia tomentosa* de la région de Metlili, surtout les racines avec 5.67%.

Le dosage de certains groupes des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, acides phénols et les tanins condensés) de *Pergularia tomentosa* fait apparaître qu'il y a des différences significatives entre les extraits obtenus pour la même région et aussi entre les extraits de *Pergularia tomentosa* issue des deux régions. Les extraits les plus riches en composés phénoliques sont ceux des fruits et des feuilles de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Noumérat avec des taux respectifs de 171.32 mg EAG/g et 73.99 mg EAG/g pour les polyphénols totaux, 6.12 mg ER/g et 15.00 mg ER/g pour les flavonoïdes, 5189.23 µg EAC/g et 4061.69 µg EAC/g pour les acides-phénols et 44.27 mg EC/g et 10.52 mg EC/g pour les tanins condensés. Cette variation de la teneur des composés phénoliques entre les deux sites est probablement dûe à l'influence des facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique, sécheresse, sol...etc.).

L'évaluation de l'activité anti-oxydante en utilisant deux méthodes chimiques : le piégeage du radical cation ABTS<sup>•+</sup> et la réduction du fer, a révélé une réponse anti-oxydante importante pour tous les extraits hydroéthanoliques de *Pergularia tomentosa*. Les résultats obtenus ont montré qu'il n'y a pas des différences significatives entre les extraits de *Pergularia tomentosa* récoltée dans les deux sites. En effet, l'extrait des tiges séchées de *Pergularia tomentosa* récoltée dans la région de Noumérat présente le meilleur pouvoir inhibiteur d'ABTS<sup>•+</sup> avec une IC<sub>50</sub>=1,10 mg/ml.

Pour la région de Noumérat, l'extrait des fruits frais présente une activité inhibitrice de radical cation d'ABTS<sup>•+</sup> la plus importante avec une IC<sub>50</sub>= 0,64 mg/ml. Les IC<sub>50</sub> des différents extraits restent faibles en comparaison avec l'anti-oxydant standard le Trolox qui a une IC<sub>50</sub> égale à 0,038 mg/ml.

En ce qui concerne l'activité anti-oxydante déterminée par la méthode de FRAP, il est à noter que les extraits des fruits sec et frais pour la région de Metlili présentent les meilleurs pouvoirs réducteurs de fer qui sont respectivement IC<sub>50</sub>= 7,45 mg/ml et 6,31 mg/ml. Cette remarquable activité réductrice de ces extraits est probablement dûe à la présence des molécules ayant la capacité de donner un électron telles que les flavonoïdes riches en groupements hydroxyles libres.

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré qu'il y a des différences entre les différentes parties de *Pergularia tomentosa* et aussi entre les deux régions (Mettlili et Noumérat) en ce qui concerne la quantité des composés phénoliques ainsi que le pouvoir antioxydant. Ces résultats montrent que la répartition des composés phénoliques n'est pas homogène en point de vue quantitative et qualitative dans la plante, ce qui nous permet de suggérer l'importance de certaines classes des composés phénoliques pour les différentes parties de la plante. Les différences enregistrées entre les extraits de *Pergularia tomentosa* des deux régions peuvent être dûes aux différences entre ces deux écotypes. L'écotype de Noumérat est un lit d'Oued tandis que Metlili est une zone anthropique.

Les plantes sont entourées d'un grand nombre d'ennemies considéré comme un stress biotique incluant les agents pathogènes (bactéries, virus, insectes) les herbivores et le stress abiotique incluant le stress salin et le stress thermique ...etc. Sachant que les plantes synthétisent les composés chimiques qu'on appelle la phytochimie pour se protéger contre les agressions de leur environnement. Elles synthétisent les flavonoïdes pour sa défense contre la lumière Ultra-violet, et contre les agents pathogènes et les tanins contre les herbivores, nous pouvons conclure que cette notion de phytochimie est une forme de réponse et d'adaptation de ces plantes à leurs biotopes.

Les résultats de ce travail ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances biologiquement actives qui aident la plante à s'adapter aux différents types de stress. Ce travail peut être approfondi par :

- L'étude phytochimique : isolation, caractérisation, et identification de métabolites secondaires de *Pergularia tomentosa*, en utilisant des techniques d'identification plus performantes (chromatographies couplées à des techniques spectroscopiques telles que la masse et la RMN) ;

- Détermination des différentes propriétés physico-chimiques de sol dans ces différentes régions ;
- Etude de la réponse morphologique et physiologique des différentes parties de cette plante au stress.

# *Références bibliographiques*

---

## Références bibliographiques

- Acheuk F. and Doumandji-Mitiche B., 2013.** Insecticidal activity of alkaloids extract of *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) against fifth instar larvae of *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius 1781) (Orthoptera: Acrididae). *International Journal of Science and Advanced Technolog*, 3 (6), 8-13.
- Al-Qura'n S., 2005.** Ethnobotanical survey of folk toxic plants in southern part of Jordan. *Toxicon*, 46 (2), 119-129.
- AL-Said M.S., Hifnawy M.S., Mcphail A.T. and Mcphail D.R., 1988.** Ghalakinoside, a cytotoxic cardiac glycoside from *Pergularia tomentosa*. *Phytochemistry*, 27 (10), 3245-3250.
- AL-Said M.S., Abu-Jayyab A. and Hifnawy M.S., 1989.** Biochemical studies on ghalakinoside, a possible antitumor agent from *Pergularia tomentosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 27 (1), 235-240.
- Amirouche R. et Misset M.T., 2009.** Flore spontanée d'Algérie, différenciation écogéographique des espèces et polyploïdie. *Cah Agric*, 18 (6), 474-480.
- Appel H.M., 1993.** Phenolics in ecological interactions : the importance of oxidation. *Journal of Chemical Ecology*, 19 (7), 1522-1552.
- Babaamer Z.Y., Sakhri L., Al-Jaber H.I., AL-Qudah M.A. and Abuzarga M.H., 2012.** Two new taraxasterol-type triterpenes from *Pergularia tomentosa* growing wild in Algeria. *Journal of Asian Natural Products Research*, 14 (12), 1137–1143.
- Barmo S. et Amani A., 2010.** Contribution à l'état des connaissances de quelques plantes envahissantes au Niger. REPUBLIQUE DU NIGER, CABINET DU PREMIER MINISTRE.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E. and Berset C., 1995.** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens WissTechnol*, 18, 25-30.
- Barreca D., Bellocco E., Caristi C., Leuzzi U. and Kumquat G.G., 2011.** Fortunella japonica Swingle juice : Flavonoid distribution and antioxidant properties. *Food Research International*, 44, 2190-2197.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>e</sup> ed, Tec et Doc- Lavoisier, Paris, 1120 p.

**Budic-Leto I., Lovric T., Pezo I. and Klujusuric J.G., 2005.** Study of Dynamics of Polyphenol Extraction During Traditional and Advanced Maceration Processes of the Babic Grape Variety. *Food Technology and Biotechnology*, 43 (1), 47-53.

**Cai Y., Luo Q., Sun M. and Corke H., 2004.** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74, 2157–2184.

**Cehma A., 2005.** Etude floristique et nutritive des parcours camelin du Sahara septentrional Algérien, cas des régions d’Ouargla et Ghardaïa. Thèse Doctorat d’état, Université de Annaba, 178 p.

**Cehma A., 2006.** Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien, Laboratoire de protections des écosystèmes en zones arides et semi-arides, Université Kasdi Merbah-Ouargla. Ed Dar El Houda, Algérie, 146 p.

**Cheynier V., 2005.** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin.Nutr*, 81, 223-229.

**Conservation des Forêts Ghardaïa, 2017.**

**Crozier A., Jensen., Michael E.J., Lean, Morag S. and Mcdonald., 1997.** Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 761 (1-2), 315-321.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend. Biol*, 331, 372-379.

**Fathi E. and Sefidkon F., 2012.** Influence of Drying and Extraction Methods on Yield and Chemical Composition of the Essential Oil of *Eucalyptus sargentii*. *J. Arg. Sci.Tech*, 14, 1035-1042.

**Faye B., 1997.** Guide de l’élevage du dromadaire. Ed SANOFI, Santé Nutrition Animale, 126 p.

**Faye B., Ben El Koumi M., Seint Martin J., Boni B. et Dya M., 1999.** Guide de l'élevage camelin. Ed SONOFI, EMVT Montpellier, 180 p.

**Gagandeep M. and Kalidhar S.B., 2006.** Chemical constituents of *Crataeva nurvala* (Buch-ham) leaves. *J. Ph. Sc*, 68, 804-806.

**Gauthier-Pilters H., 1969.** Observations sur l'écologie du dromadaire en moyenne Mauritanie. Extrait du bulletin de l'I.F.A.N. série A. n°4.

**Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., Aberkane M.C., Bousselsela H. et Oueld-Mokhtar S.M., 2015.** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.

**Grace K. P., Paulo M. D. and Sergio G., 1996.** Electronic structure of hydroxylated derivatives of the flavylum cation. *Journal of Molecular Structure Theochem*, 363, 87-96.

**Grotewold E., 2006.** The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review on Plant Biology*, 57, 761-780.

**Hadj Allal F. Z., 2014.** Contribution à l'étude du genre *Tamarix*, aspects botanique et phytoécologique dans la région de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université de Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 170 p.

**Hammiche V. et Gueyouche R., 1988.** Plantes médicinales et thérapeutique. 1<sup>e</sup> partie : Les plantes médicinales dans la vie moderne et leur situation en Algérie. Annales de l'INA El Harrach, Alger, 12 (1), T2, 419-433.

**Hammiche V., Merad R. et Azzouz M., 2013.** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, 1<sup>er</sup> ed., Springer-Verlag, Paris, 393 p.

**Hassan S.W., Umar R.A., Ladan M.J., Nyemike P., Wasagu R.S.U., Lawal M. and Ebbo A. A., 2007.** Nutritive Value, Phytochemical and Antifungal Properties of *Pergularia tomentosa*. (Asclepiadaceae). *International Journal of Pharmacology*, 3 (4), 334-340.

**Hmeyada A., 2009.** Contribution à l'étude des plantes médicinales de Mauritanie. 17<sup>e</sup> ed., Ann. Univ. Lomé (Togo), 9-27.

**Hussein H., Kamel A., Abou-Zeid M., EL-Sebae H. and Saleh M. A., 1994.** Uscharin, the most potent molluscicidal compound tested against land snails. *Journal of Chemical Ecology*, 20 (1), 135-140.

**IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, 2005.** A guide to medicinal plants in North Africa. IUCN Centre for Mediterranean Cooperation. Málaga, Spain. 256 p.

**Kemassi A., Darem S., Cherif R., Boual Z., Sadine S. E., Aggoune M. S., Ould El Hadj-Khelil A. et Ould El Hadj, M.D., 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.

**Kim D.O., Jeong S. W. and Lee C. Y., 2003.** Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326.

**Koo H., Pedro L.R., Jaime A.C., Yong K.P. and William H.B., 2002.** Effects of Compounds Found in Propolis on *Streptococcus mutans* Growth and on Glucosyltransferase Activity. *Antimicrob. Agents Chemother*, 46 (5), 1302-1309.

**Le K., Chiu F. and Ng K., 2007.** Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105 (1), 353-363.

**Levitt J., 1980.** Responses of plants to environmental stresses. Chilling, freezing and high temperature stresses, 2<sup>e</sup> ed., Academic Press, New York, USA, 607 p.

**Maiza K., Brac de la Perrière R.A. et Hammiche V., 1993.** Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. Médicaments et aliments, l'approche ethnopharmacologique. Actes du 2<sup>e</sup> Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11<sup>e</sup> Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg (Allemand), 196-171.

**Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lavoisier, Paris, 192 p.

**Maleš Ž., Kroata H.P., Lina P. and Iva B., 2010.** Quantitative analysis of phenolic compounds of *Inula candida* (L.) Cass. *Periodicum Biologorum*, 112 (3), 307-310.

**Maman S., 2003.** Contribution à l'étude de l'écologie de *Pergularia tomentosa* et son impact sur les ressources sylvopastorales au niveau du massif forestier de Daddaria (Mainé Soroa). Mémoire d'Ingénieur. IPR/IFRA de Katibougou (Mali), 61 p.

**Medjber-Teguig T., 2014.** Etude de la composition floristique de la région du Souf (Sahara Septentrional Algérien). *Algerian journal of arid environment*, 4 (1), 53-59.

**Mukohata Y., Nakabayashi S. and Higashida M., 1978.** *FEBS Lett*, 85, 215-218.

- Neuwinger H.D., 1996.** African Ethnobotany Poisons and Drugs Chemistry, Pharmacology, Toxicology. Chapman and Hall, Germany. 941 p.
- Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., 2003.** Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional Est). *Courrier du Savoir*, 3, 47-51.
- Özcelik B., Deliorman Orhan D., Özgen S. and Ergun F., 2008.** Antimicrobial Activity of Flavonoids against Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ES $\beta$ L)-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Trop. J. Pharm. Res*, 7 (4), 1151-1157.
- Ozenda P., 1977.** Flore du Sahara. 2<sup>e</sup> ed., C.N.R.S, Paris, 622p.
- Ozenda P., 1983.** Flore du Sahara. 2<sup>e</sup> ed., C.N.R.S, Paris, 622 p.
- Ozenda P., 1991.** Flore et végétation du Sahara. 3<sup>e</sup> ed., C.N.R.S, Paris, 662 p.
- Özgülven M. and Tansi S., 1998.** Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L as influenced by ecological and ontogenetical variation. *The Turkish journal of agriculture and forestry*, 22, 537-542.
- Park H. J. and Cha H. C., 2003.** Flavonoids from Leaves and Exocarps of the Grape Kyoho. *Korean journal of biological society*, 7, 327-330.
- Piacente S., Masullo M., De Nève N., Dewelle J., Hamed A., Kiss R. and Mijatovic T., 2009.** Cardenolides from *Pergularia tomentosa* display cytotoxic activity resulting from their potent inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *J. Nat. Prod*, 72 (6), 1087-1091.
- Quezel P. et Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1<sup>e</sup> ed., ICNRS, Paris, 558 p.
- Quezel P. et Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 2<sup>e</sup> ed., C.N.R.S, Paris, 788 p.
- Quezel P., 1965.** La végétation du Sahara du Tchad à la Mauritanie. Masson et Cie, Paris, 333p.
- Ramade F., 2003.** Eléments d'écologie, écologie fondamentale. 3<sup>e</sup> ed., Dunod, Paris, 690 p.
- Schmelzer G.H. et Gurib-Fakim A., 2013.** Ressources végétales de l'Afrique tropicale. 2<sup>e</sup> ed., CTA, PROTA, Wageningen, Pays-Bas, 417p.

- Shinkafi S.A., 2013.** Antidermatophytic activities, phytochemical screening and Chromatographic studies of *Pergularia tomentosa* and *Mitracarpus scaber* Zucc (Leaves) Used in the Treatment of Dermatophytoses. *International Research Journal of Microbiology*, 4 (1), 29-37.
- Shui G. and Leong L. P., 2006.** Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, 97, 277–284.
- Singleton V.L. et Rossi J.A., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult*, 16, 144-158.
- Spigno G. and De faveri D.M., 2007.** Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineerin*, 78 (3), 793-801.
- Stobiecki M., Skiryecz A., Kerhoas L., Kachlicki P., Muth D., Einhorn J. and Mueller- Roeber B., 2006.** Profiling of phenolic glycosidic conjugates in leaves of *Arabidopsis thaliana* using LC/MS, *Metabolomics*, 2 (4), 197-219.
- Subsamanian S., Stacey G. and Yu O., 2007.** Distinct crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in plant science*, 12 (7), 282-285.
- Sun B., Ricardo-Da-Silva J. M. and Spranger I., 1998.** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric. Food Chem*, 46 (10), 4267-4274.
- Talwar G.P. and Sirvastava L.M., 1989.** Textbook of Biochemistry and Human Biology. 3<sup>e</sup> ed., Prentice-Hall of India Pvt. Ltd, India, 1328 p.
- Taylor P.L. and Grotewold E., 2005.** Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology*, 8 (3),317-323.
- Toutain G., 1979.** Eléments d'agronomie saharienne, de la recherche au développement. I.N.R.A, Paris, 276 p.
- Unesco Organisation des nations unies pour l'éducation, la science et la culture, 1960.** Les Plantes Médicinales des Régions Arides. 7<sup>e</sup> ed., Oberthur, Rennes, Paris, 99 p.
- Yang R. Y., Lin S. and Kuo G., 2008.** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition*, 17 (S1), 275-279.

## **Webographie**

TuTiempo. Données climatiques : Algérie, page consulté le 24 Mars 2017. [En ligne], URL : <https://fr.tutiempo.net/climat/algerie.html>.

# *Annexes*

## Annexe 1

Composition biochimique du *Pergularia tomentosa*

## ✚ Métabolites primaires

**Tableau VII :** Composition en métabolites primaires des différentes parties de *Pergularia tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétal	Lipides (%)	Protéines (%)	Glucides (%)
Feuilles	6,83 ± 0,76	6,39 ± 0,17	53,27 ± 1,75
Tiges	2,17 ± 0,76	4,74 ± 0,14	56,92 ± 1,27
Racines	2,67 ± 0,29	3,35 ± 0,48	61,31 ± 2,84

## ✚ La composition minérale

**Tableau VIII :** Composition minérale de *Pergularia tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007).

Organe végétal	Phosphore (ppm)	Potassium (ppm)	Sodium (ppm)	Magnésium (%)	Calcium (%)
Feuilles	1,85 ± 0,05	2,97 ± 0,210	4,13 ± 0,31	0,32 ± 0,06	0,25 ± 0,010
Tiges	7,07 ± 0,06	215,0 ± 10,00	2,03 ± 0,15	0,15 ± 0,030	0,16 ± 0,01
Racines	8,13 ± 0,06	167,30 ± 5,03	2,33 ± 0,15	0,25 ± 0,008	0,08 ± 0,003

**Tableau IX** : composition en métabolites secondaires des différents organes de *Pergularia tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007).

Organe végétale	Métabolites secondaires
Feuilles	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alcaloïdes,</li> <li>- Glycosides cardiaques,</li> <li>- Glycosides cyanogènes,</li> <li>- Saponines,</li> <li>- Flavonoïdes,</li> <li>- Tanins.</li> </ul>
Tiges	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alcaloïdes,</li> <li>- Glycosides cardiaques,</li> <li>- Glycosides cyanogènes,</li> <li>- Saponines,</li> <li>- Flavonoïdes,</li> <li>- Tanins.</li> </ul>
Racines	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Glycosides cyanogènes,</li> <li>- Glycosides cardiaques,</li> <li>- Saponines,</li> <li>- Tanins.</li> </ul>

Usages traditionnels de *Pergularia tomentosa*Tableau X : Utilisations traditionnelles du *Pergularia tomentosa*

Régions	Partie utilisée	mode d'utilisation	Usages	Références
Sahara septentrional algérien	Feuilles et fleurs	Décoction	Angine, teigne, dermatose	Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003).
	Partie aérienne	Décoction	Hypoglycémiant	Kemassi <i>et al.</i> (2014).
Tassili N'ajjer	Racine	Usage interne	Les Frissons, bronchite, constipation,	Hammiche et Maiza (2006).
	Partie aérienne	Décoction et usage interne Décoction et usage externe	Helminthiases Abortive Maladies de la peau : dermatose, allergie et dépilatoire	
Mauritanie	/	/	Morsures venimeuses, tuberculose, maux de dents	Hmeyada (2009).
Afrique du Nord	/	/	Avortement	
Sahara central	/	/	La tuberculose et les hémorroïdes	Schmelzer et Gurib-Fakim (2013).
Côte d'Ivoire	feuille	Jus	Collyre, les maux de tête.	
Milieu rural	/	/	Tannerie	

## Annexe 2

## Courbes d'étalonnages

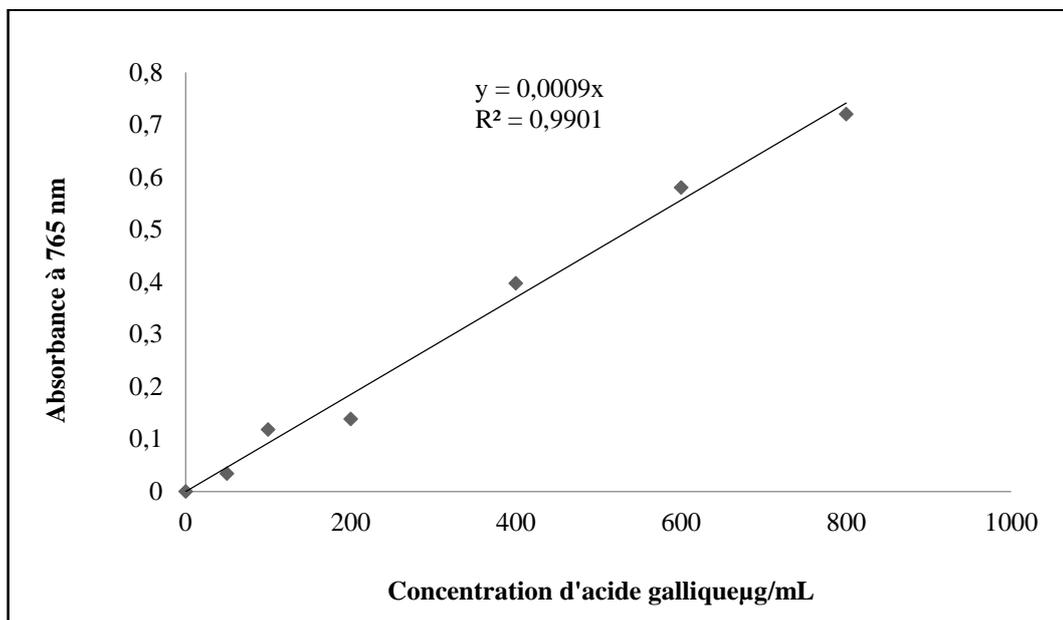


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

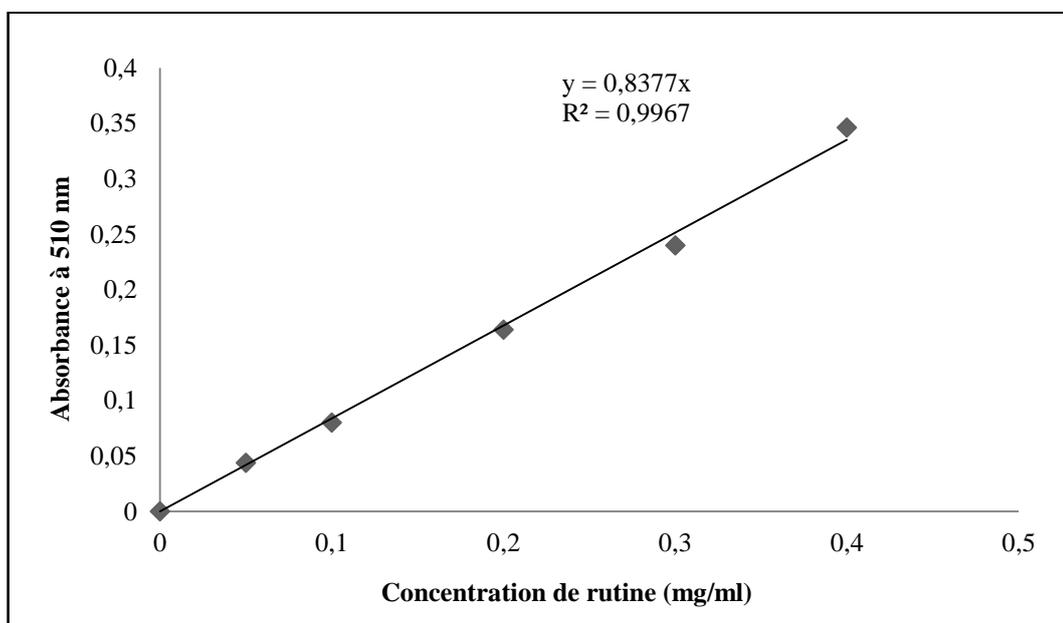
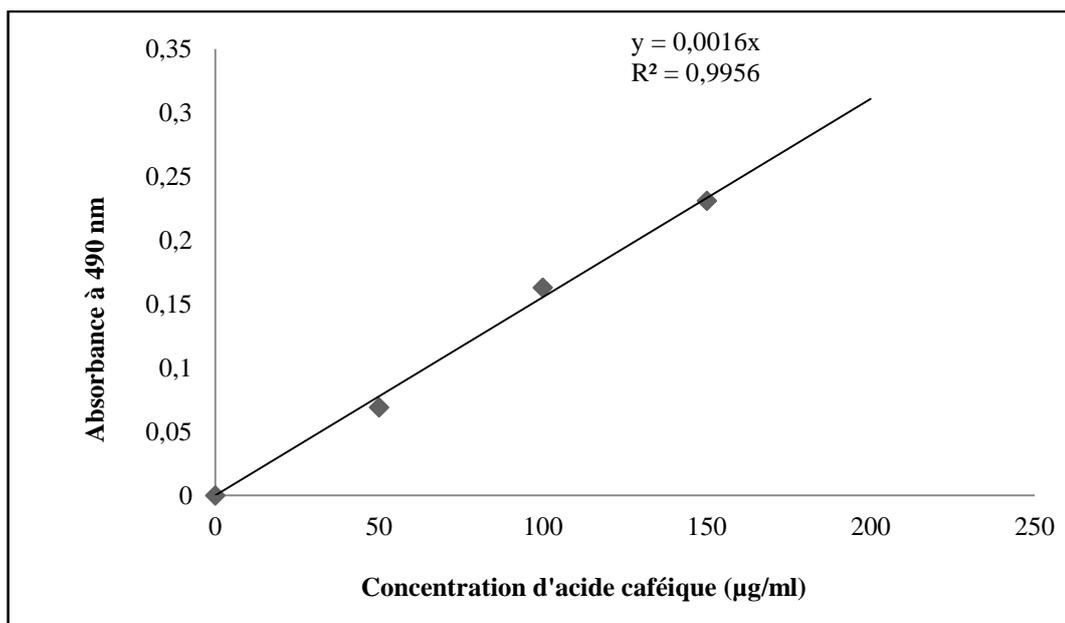
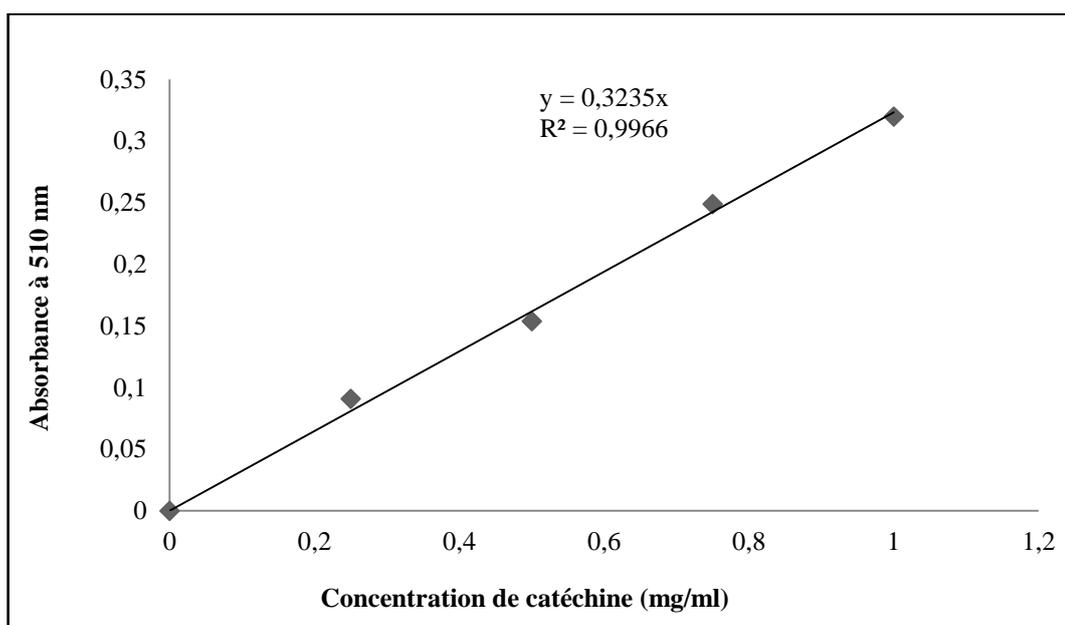


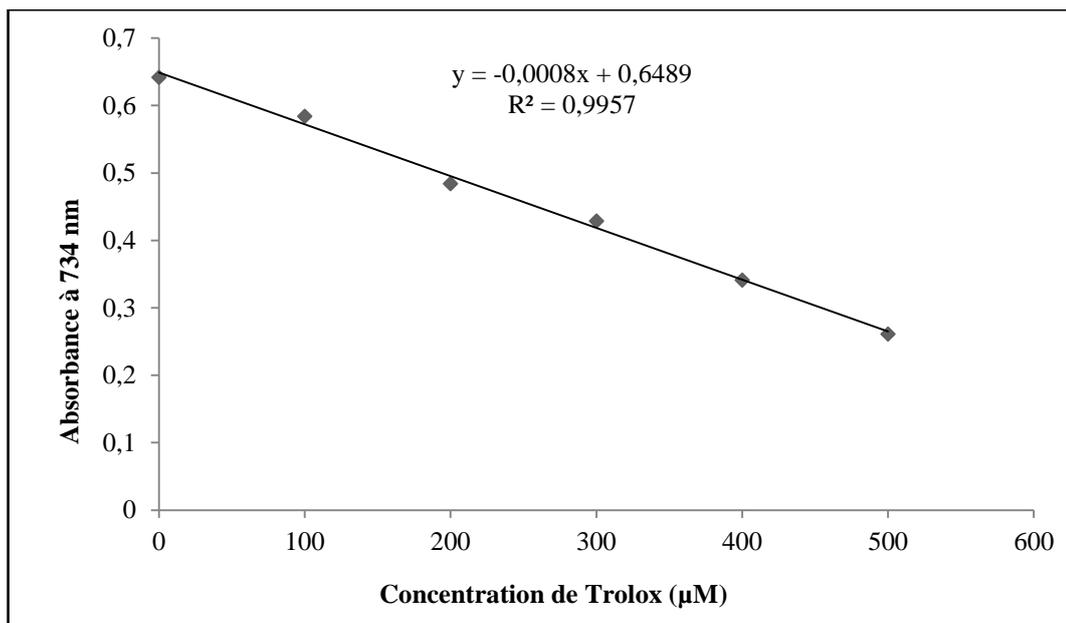
Figure 18 : Courbe d'étalonnage de rutine pour le dosage des flavonoïdes.



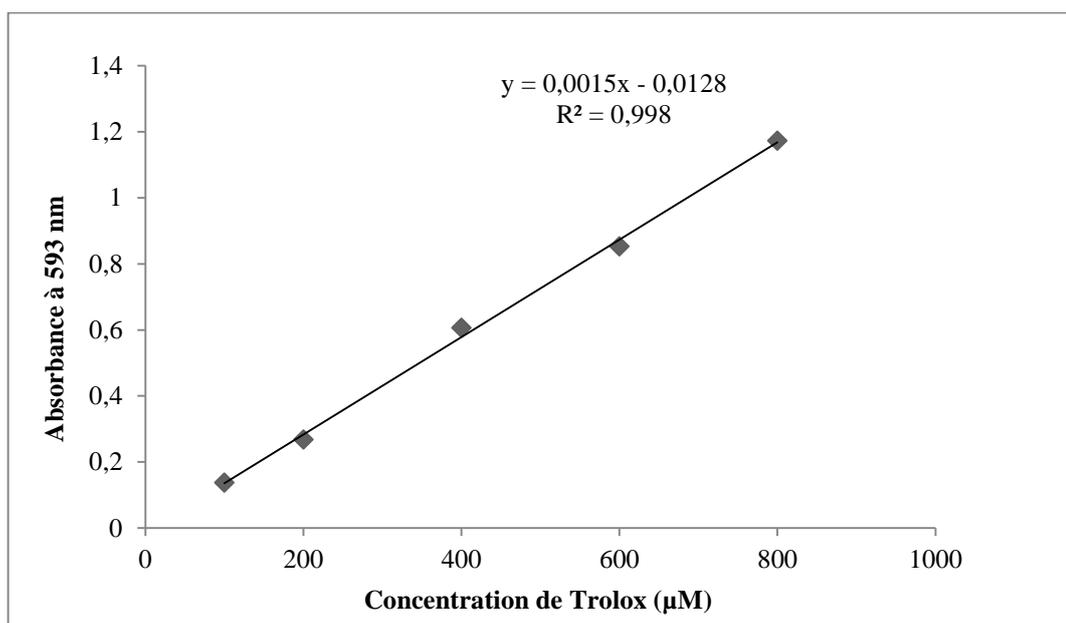
**Figure 19 :** Courbe d'étalonnage d'acide caféique pour le dosage des acides-phénols.



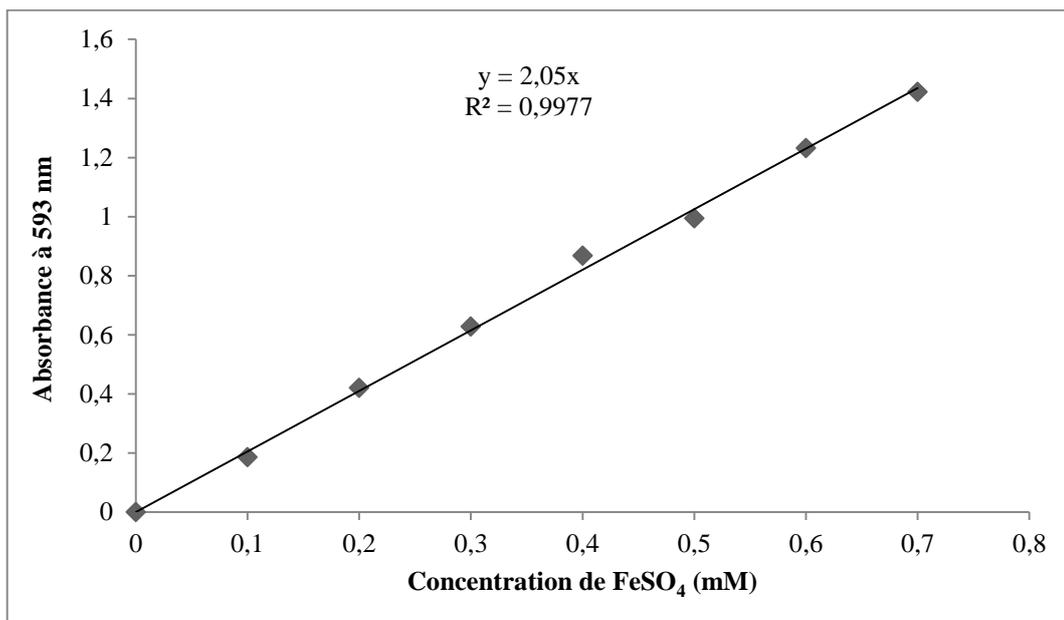
**Figure 20 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.



**Figure 21** : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le test à l'ABTS.



**Figure 22** : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le test FRAP.



**Figure 23** : Courbe d'étalonnage de FeSO<sub>4</sub> pour le test FRAP.

## Annexe 3

## Analyses statistiques

## Polyphénols totaux

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
organe	3	18510.642	6170.214	5.969	<b>0.013</b>
état	1	163.939	163.939	0.159	0.699
région	1	8355.161	8355.161	8.083	<b>0.017</b>

## Flavonoïdes

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
organe	3	18510.642	6170.214	5.969	<b>0.013</b>
état	1	163.939	163.939	0.159	0.699
région	1	8355.161	8355.161	8.083	<b>0.017</b>

## Acides phénols

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
organe	3	21835539.827	7278513.276	6.838	<b>0.009</b>
état	1	2784541.773	2784541.773	2.616	0.137
région	1	2996932.033	2996932.033	2.816	0.124

## Les tanins condensés

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
organe	3	1500.722	500.241	5.715	<b>0.015</b>
état	1	305.096	305.096	3.485	0.091
région	1	28.266	28.266	0.323	0.582

## ABTS

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
organe	3	4.695	1.565	1.415	0.295
état	1	0.020	0.020	0.018	0.897
région	1	1.092	1.092	0.987	0.344

## FRAP

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
organe	3	822.966	274.322	1.162	0.372
état	1	361.856	361.856	1.533	0.244
région	1	65.570	65.570	0.278	0.610

## Matrice de corrélation

Variables	polyphénols	flavonoïdes	acides phénols	tanins	ABTS	FRAP
polyphénols	<b>1</b>	0.402	<b>0.775</b>	<b>0.645</b>	-0.270	-0.223
flavonoïdes	0.402	<b>1</b>	0.492	0.396	-0.010	-0.120
acides phénols	<b>0.775</b>	0.492	<b>1</b>	<b>0.887</b>	-0.395	-0.283
tanins	<b>0.645</b>	0.396	<b>0.887</b>	<b>1</b>	-0.339	-0.193
ABTS	-0.270	-0.010	-0.395	-0.339	<b>1</b>	<b>0.898</b>
FRAP	-0.223	-0.120	-0.283	-0.193	<b>0.898</b>	<b>1</b>