

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



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

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En : Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : TEGGAR Meriem
GUESSOUM Nadjat
Thème

**Activités antioxydantes, antibactériennes et anti- α -amylases
de divers extraits d'*Anvillea radiata* récoltés dans la région de
Ghardaïa**

Soutenu publiquement, le 24 / 06 / 2019 , devant le jury composé de :

Mr. BOURAS N.	Professeur	Univ. Ghardaia	Président
M ^{elle} : TELLI A.	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Directeur de mémoire
M ^{elle} : BELLABASSI O.	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaia	Examineur 1

Promotion : 2019

Remerciements

En premier lieu, nous remercions ALLAH, le Tout Puissant qui nous a donné le courage, santé et la patience pour réaliser cette étude.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à notre encadreur Mademoiselle Allia TELLI, pour avoir encadré patiemment ce travail, pour leurs précieuses remarques constructives et leur suivi pour mener à terme ce travail.

Nous remercions chaleureusement Mr. le professeur BOURAS Noureddine, d'avoir accepté de présider ce jury et d'apporter ses appréciations sur notre travail.

Et mademoiselle BELLABASSI Ouarda, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous remercions l'ensemble des enseignants qui ont participé de près ou de loin dans notre formation.

Nous tenons à remercier vivement : Hicham, Bachir, Noureddine, Souhila et Khouloud, les ingénieurs du laboratoire de l'université pour leur aide, leur patience et leur gentillesse.

On n'oublie pas nos très chers parents qui ont toujours été là pour nous, pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amies, qui ont toujours encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma très chère mère,

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différentes obstacles.

A mon très cher père,

Qui je souhaite une bonne santé.

A mon cher mari,

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma petite fille Hadjer,

A mes très chers frères Ishak et Yaâkoub et mes beaux-frères

A mes chères sœurs Hafsa, Zineb & Chaima,

A ma belle-mère et mes belles- sœurs Yamina, Zineb & Fatima,

Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

A mes grands-mères et ma belle tante Aicha,

A tous mes chères ami(e)s El allia, Fatima, Yamina et Halima,

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A toute ma famille,

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Meriem

DIDICACE

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que : Je dédie cette thèse à:

A Ma tendre Grand-Mère HADA: Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père Abdelkader: Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

Mon adorable mère REBHA qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur.

A mes chers beaux parents, A mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses.

A mes belle sœurs : IMANE, AMIRA

A la famille Guessoum et Souilem.

À mes amis de toujours en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble : Rekia, Zineb, Hanan, KHadidja, Souad, Karima, Fatima, Kenza, Houda, Yousra, Souhila, Bouchera, Saida, Zahira, Safa

À tous les étudiantes de la promotion de Biologie section de Biochimie Appliqué 2018/2019. A tous ce qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire

Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour

NaDjEt

Activités antioxydantes, antibactériennes et anti- α -amylases de divers extraits d'*Anvillea radiata* récoltés dans la région de Ghardaïa

Résumé

Les recherches actuelles sont focalisées sur les molécules douées d'activités biologiques d'origine naturelle. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et anti- α amylase des différents extraits de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* de la famille d'Asteraceae provenant de la région de Ghardaïa, qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle en l'Algérie. L'extraction des principes actifs de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* est effectuée par macération à froid en utilisant trois solvants de différentes polarités (méthanol, acétate d'éthyle et éther de pétrole). L'analyse phytochimique des différents extraits est effectuée par le criblage phytochimique et par la quantification de quelques classes des composés phénoliques. Plusieurs activités biologiques ont été évaluées à savoir l'activité anti-oxydante en utilisant trois tests (ABTS, FRAP et blanchissement du β -carotène), l'activité antibactérienne par la diffusion sur milieu gélosé et par microdilution et l'activité antidiabétique par la mesure de l'inhibition de l' α -amylase. Les résultats obtenus ont montré la richesse de l'espèce étudiée en composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, coumarines ... etc.) et terpéniques (saponosides et stéroïdes). Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tanins condensés sont avec l'extrait méthanolique qui sont de l'ordre de $81,38 \pm 19,16$ mg EAG/g, $16,37 \pm 0,89$ mg ER/g, $4542,00 \pm 8,49$ μ g EAC/g et $33,97 \pm 1,06$ mg EC/g respectivement. L'extrait méthanolique d'*Anvillea radiata* a les meilleures capacités inhibitrice du radical cation ABTS^{•+}, réductrice de fer et inhibitrice de blanchissement du β -carotène avec des CI₅₀ égales à $153,48 \pm 10,02$ μ g/ml, $95,88 \pm 9,13$ μ g/ml et $172,94 \pm 14,88$ μ g/ml respectivement comparables à celles des antioxydants standards utilisés. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, l'extrait d'acétate d'éthyle présente le potentiel pouvoir inhibiteur de la croissance bactérienne sur les deux souches testées (*S. aureus* et *E. coli*) avec CMI égale à 0,33 mg/ml. La meilleure activité inhibitrice de l' α amylase a été enregistrée avec l'extrait méthanolique où la valeur de CI₅₀ est égale à $76,31 \pm 5,60$ μ g/ml qui est inférieure à celle de l'acarbose. En conclusion, les résultats obtenus peuvent justifier l'utilisation traditionnelle de cette espèce pour traiter les maladies inflammatoires, infectieuses et du diabète.

Mots clés : *Anvillea radiata*, criblage phytochimique, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité anti- α amylase.

Antioxydant, antibacterial and anti- α -amylase activities of various extracts of *Anvillea radiata* harvested in Ghardaïa region

Abstract

Current research is focused on molecules endowed with biological activities of natural origin. The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity, the antibacterial and anti- α -amylase activities of various extracts of *Anvillea radiata* aerial part the (Asteraceae) from the region of Ghardaïa, which is widely used in traditional medicine in Algeria. The extraction of the active ingredients of *Anvillea radiata* aerial part was carried out by cold maceration using three solvents of different polarities (methanol, ethyl acetate and petroleum ether). Phytochemical analysis of the various extracts is performed by phytochemical screening and quantification of some phenolic compounds classes. Several biological activities were evaluated namely the antioxidant activity using three tests (ABTS, FRAP and bleaching of β -carotene), the antibacterial activity by diffusion on agar medium and by microdilution method and the antidiabetic activity by the measurement of α -amylase inhibition. The obtained results showed the richness of the studied species in phenolic compounds (tannins, flavonoids, coumarines ... etc.) and terpene (saponosides and steroids). The highest contents of total polyphenols, flavonoids, phenolic acids and condensed tannins are obtained with the methanolic extract which are in the order of 81.38 ± 19.16 mg EAG / g, 16.37 ± 0 , 89 mg ER / g, 4542.00 ± 8.49 μ g EAC / g and 33.97 ± 1.06 mg EC / g respectively. The methanolic extract of *Anvillea radiata* has the best inhibitory capacity of the ABTS^{•+} radical cation , iron reducing power and β -carotene bleaching inhibitory effect with IC₅₀ equal to 153.48 ± 10.02 μ g/ml, 95.88 ± 9.13 μ g/ml and 172.94 ± 14.88 μ g/ml respectively comparable to those of the standard antioxidants used. As regard to the antibacterial activity, the ethyl acetate extract has the potential capacity to inhibit bacterial growth. on both strains tested (*S. aureus* and *E. coli*) with MIC equal to 0.33 mg/ml. The best inhibitory activity of α -amylase was recorded with the methanolic extract where the IC₅₀ value of 76.31 ± 5.60 μ g/ml, which is lower than that of acarbose. In conclusion, the obtained results may justify the traditional use of this species to treat inflammatory problems, infectious diseases and diabetes.

Key words: *Anvillea radiata*, phytochemical screening, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity, anti- α -amylase activity.

تقييم النشاط المضاد للأوكسدة، للبكتيريا والمضاد لألفا أميلاز لمختلف المستخلصات لنبتة النقد *Anvillea radiata* " المحصودة من منطقة غرداية.

الملخص

تركز البحوث الحالية على الجزيئات التي تتمتع بالأنشطة البيولوجية ذات الأصل الطبيعي. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأوكسدة ، والنشاط المضاد للبكتيريا ومضاد الألفا أميلاز لمختلف المستخلصات للجزء الهوائي من نبتة النقد "*Anvillea radiata*" من عائلة Asteraceae المأخوذة من منطقة غرداية، التي يتم استخدامها بكثرة في الطب التقليدي في الجزائر. حيث تم استخلاص المكونات النشطة للجزء الهوائي للنبتة النقد "*Anvillea radiata*" المنقوعة في المذيبات الثلاثة المختلفة القطبية (الميثانول ، أسيتات الإيثيل والإيثر البترولي). يتم إجراء التحليل الكيميائي النباتي لمختلف المستخلصات عن طريق الفحص الكيميائي النباتي وتقدير بعض أقسام المركبات الفينولية. تم تقييم العديد من الأنشطة البيولوجية وهي النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام ثلاثة اختبارات (ABTS ، FRAP وتبييض β كاروتين) ، والنشاط المضاد للبكتيريا عن طريق نشرها على وسط أجار والتخفيف الجزئي والنشاط المضاد للسكر من قبل قياس تثبيط الألفا أميلاز. ظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ثراء النوع المدروس في المركبات الفينولية (العفص ، الفلافونويد ، الكومارين ... إلخ) والتربين (الصابونويدات والستيرويدات). توجد أعلى نسبة للمحتويات الكلية من البوليفينول والفلافونويد والأحماض الفينولية والعفص المكثف مع المستخلص الميثانولي الذي يصل إلى 81.38 ± 19.16 ملغ / غ ، 16.37 ± 0 ، 89 ملغ / ER ، 4542.00 ± 8.49 ميكروغرام EAC / غ و 33.97 ± 1.06 ملغ / EC غ على التوالي. يتمتع المستخلص الميثانولي من *Anvillea radiata* بأفضل السعة المثبطة لجذر ABTS • + الكاتيون ، ومخفض الحديد وتبييض β كاروتين مع IC 50 يساوي 153.48 ± 10.02 ميكروغرام / مل ، 95.88 ± 9.13 ميكروغرام / مل و 172.94 ± 14.88 ميكروغرام / مل على التوالي مقارنة بمضادات الأوكسدة المستخدمة. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا ، فإن مستخلص أسيتات الإيثيل لديه القدرة على تثبيط نمو البكتيريا في السلالتين المختبرتين (*S. aureus* و *E. coli*) مع CMI يبلغ 0.33 ملغ / مل. تم تسجيل أفضل نشاط مثبط للألفا أميلاز مع المستخلص الميثانولي حيث تساوي قيمة 5.60 ± 76.31 IC 50 ميكروغرام / مل وهي أقل من قيمة الأكاربوز. في الختام، قد تبرر النتائج التي تم الحصول عليها الاستخدام التقليدي لهذا النوع لعلاج الأمراض الالتهابية والمعدية ومرض السكري.

الكلمات المفتاحية: *Anvillea radiata* ، الفحص الكيميائي النباتي ، البولي فينول ، نشاط مضادات الأوكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا، نشاط مضادات ألفا الأميلاز.

Tables des matières

Tables des matières

Liste des figures.....	I
Liste des photos.....	Ii
Liste des tableaux.....	Iii
Liste des abréviations.....	Iv
Introduction.....	1
Chapitre I: Matériel et méthodes.....	7
I. Matériel et méthodes.....	7
I.1. Matériel	7
I.1.1. Matériel végétal	7
a. Choix de la plante.....	7
b. Description botaniques et systématique.....	7
c. Ecologie et répartition géographique.....	9
d. Médecine traditionnelle et connaissances locales.....	9
e. Récolte	10
f. Séchage et broyage.....	10
I.1.2. Souches bactériennes testées.....	10
I.2. Méthodes.....	10
I.2.1. Extraction.....	10
I.2.2. Détermination du rendement d'extraction.....	11
I.2.3. Analyses phytochimiques.....	11
I.2.3.1. Criblage phytochimique.....	11
a. Tanins.....	11
b. Flavonoïdes.....	12
b1. Anthocyanes.....	12
b2. Réaction à la cyanidine.....	12
c. Coumarines.....	12
d. Quinones libres	12
e. Alcaloïdes	13
f. Terpénoïdes.....	13
g. Saponosides : test de mousse.....	13
h. Stéroïdes.....	13
i. Composés réducteurs	13
I.2.3.2. Quantification de quelques classes des composés phénoliques	14
a. Dosage des polyphénols totaux.....	14
b. Dosage des flavonoïdes.....	14
c. Dosage des acides phénols.....	15
d. Dosage des tanins condensés et proantocyanidines.....	15
I.2.4. Evaluation des activités biologiques.....	15
I.2.4.1. Activité anti-oxydante.....	16
a. Test d'ABTS.....	16
b. Pouvoir réducteur du fer (FRAP, <i>Ferric Reducing Ability of Plasma</i>).....	17
c. Test de blanchissement de β -carotène.....	18
I.2.4.2. Activité antibactérienne.....	19
a. Préparation de l'inculum.....	19
b. Méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.....	19

c. Méthode de micro-dilution en milieu liquide.....	20
I.2.4.3. Inhibition de l' α -amylase.....	21
I.3. Analyses statistiques.....	21
Chapitre II: Résultats et discussion.....	
II. Résultats et discussion.....	22
II.1. Rendement d'extraction.....	22
II.2. Analyse phytochimique.....	23
II.2.1. Screening phytochimique.....	23
II.2.2. Quantification de quelques classes des composés phénoliques.....	25
II.2.2.1. Teneur en polyphénols totaux.....	25
II.2.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	27
II.2.2.3. Teneur en acides phénols.....	29
II.2.2.4. Teneur en tanins condensés.....	30
II.3. Activités biologiques.....	32
II.3.1. Activité anti-oxydante.....	32
II.3.1.1. Piégeage du radical-cation ABTS ⁺	33
II.3.1.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)	36
II.3.1.3. Inhibition de blanchissement du β -carotène.....	39
II.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	42
II.3.2.1. Par diffusion sur milieu gélosé	42
II.3.2.2. Par micro-dilution sur milieu liquide (détermination de CMI).....	46
II.3.3. Inhibition de l'alpha amylase	50
Conclusion générale.....	54
Références bibliographiques.....	56
Annexe.....	I

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Oxydo-réduction de l'ABTS en ABTS-+.	17
2	Réaction de la réduction de Fe ³⁺ -TPTZ en Fe ²⁺ -TPTZ de la réduction	18
3	Rendements d'extraction différents extraits des d' <i>A. radiata</i> .	22
4	Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	25
5	Teneur en flavonoïdes des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	28
6	Teneur en acides phénols des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	29
7	Teneur en tanins condensés des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	31
8	Activité anti-oxydante déterminée par l'inhibition de radical cation ABTS ⁺ par différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	33
9	Pouvoir réducteur de fer déterminé par le test FRAP des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	37
10	Evolution de l'absorbance des mélanges réactionnels de blanchiment du bêta-carotène en fonction du temps en présence des différents extraits d' <i>A. radiata</i> et de BHT.	40
11	Pourcentages d'inhibition de blanchiment du bêta-carotène en présence des différents extraits d' <i>A. radiata</i> et de BHT.	40
12	Pourcentages d'inhibition de l'alpha-amylase en présence des différents extraits d' <i>A. radiata</i> et de l'acarbose.	50

Liste des photos

N°	Titre	Page
1	<i>Anvillea radiata</i> .	8
2	Fleur et feuilles d' <i>A. radiata</i> .	8
3	Inhibition de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> par différentes concentrations des extraits de MeOH, AcEt et EtPe d' <i>A. radiata</i> .	47
4	Inhibition de la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> par différentes concentrations des extraits de MeOH, AcEt et EtPe d' <i>A. radiata</i>	47

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Résultats de criblage phytochimique des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	23
2	CI ₅₀ (µg/ml) de test d'ABTS des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	34
3	CI ₅₀ (µg/ml) du test FRAP des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	37
4	CI ₅₀ (µg/ml) du test de blanchissement du β-carotène des différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	41
5	Diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance de <i>S aureus</i> et <i>E. coli</i> testées par différents extraits d' <i>A. radiata</i> .	43
6	Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) (en mg/ml) des différents extraits d' <i>Anvillea radiata</i> .	46
7	CI ₅₀ d'inhibition de l'α-amylase par les différents extraits d' <i>Anvillea radiata</i> et l'acarbose.	51

Liste des abréviations

ABTS:	Acide 2,2-Azino-Bis-3-ethylbenzoThiazoline-6-Sulfonique
AcEt:	Acétate d'éthyle
ATCC:	American Type Culture Collection
BHT:	Butylated hydroxytoluène (butyrylhydroxytoluène)
CI 50:	Concentration inhibitrice de 50%
CMI:	Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO:	Dimethylsulfoxyde
EAC:	Equivalent d'acide caféique
EAG:	Equivalent d'acide gallique
EC:	Equivalent de catéchine
ER:	Equivalent de rutine
EtPe:	Ether de pétrole
FRAP:	Ferric Reducing Antioxidant Power
H₂SO₄:	Acide sulfurique
HCl:	Acide chlorhydrique
MeOH:	Méthanol
TPTZ:	2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine
UFC:	Unité Formant Colonie
OMS:	organisation mondiale de la santé
OH•:	radical hydroxyl
μM ET/g:	micromolaire équivalent Trolox par gramme

Introduction

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer... (Ouis, 2015) mais aussi de se soigner. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leur utilisation pour le traitement de différentes maladies chez les êtres vivants et en particulier l'Homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (Svoboda et Svoboda, 2000).

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé estime que le recours à aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire est environ 80% (WHO, 2002).

La médecine traditionnelle est fréquemment pratiquée surtout en milieu rural du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne de ces populations (Zeggwagh *et al*, 2013).

Les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international. Les remèdes traditionnels à base de plantes ont été longtemps employés sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques (Bahorun, 1997).

L'isolement de principes actifs datant du XIX^e siècle, en améliorant la connaissance des structures a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue. Cette thérapeutique officielle accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type (Bahorun, 1997).

La médecine traditionnelle est fondée sur la symptomatologie. Le mélange de plantes est indiqué pour soulager une douleur ou un symptôme donné et non pour soigner une maladie. La traduction de ces données symptomatiques brutes en termes de médecine étiologique est délicate et le recours d'un médecin est souvent indispensable à la caractérisation de la maladie. Le traitement varie selon le comportement du malade, ses dires, le rang social avec la prise en compte de son histoire familiale. De plus, le tryptique aliment-

médicament-poison rend difficile la catégorisation entre principes actifs et toxiques qui peuvent être employés, à dessein, simultanément.

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont donc pour mission d'élucider la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, à la description et l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles. L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles des plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques (Gurib-Fakim, 2006).

Récemment, un problème majeur lié aux conditions de l'environnement et au mode de vie de l'être humain est à l'origine d'une augmentation de stress oxydant dans l'organisme. Ce stress se traduit par une production importante des espèces réactives oxygénées (ERO). Malgré leur importance pour l'organisme, car elles interviennent en particulier dans la défense de l'organisme contre les invasions microbiennes, mais le déséquilibre entre la génération de ces ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs installés au niveau des tissus est le stress oxydant, et comme conséquences l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Aravodis, 2005).

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes. L'excès de radicaux libres non neutralisés conduit à des problèmes dans l'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus (Bennamara, 2017).

Le stress oxydant est impliqué donc dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, sclérose latérale amyotrophique et vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. (Montagnier *et al.*, 1998).

Les causes essentielles de ce stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...) ou d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène (Favier, 2003).

Pour se protéger des effets délétères d'espèces oxygénées activées (EOA), l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

Un autre problème de la santé est émergé ces dernières années, qui est la résistance développée par les microorganismes contre les antibiotiques ce qui conduit à l'émergence des maladies infectieuses considérées comme éradiquées.

Tous ces problèmes conduisent à la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses d'origine naturelle. Cette recherche est basée sur la répartition des plantes médicinales et sur les études ethnobotaniques qui permettent de réaliser des inventaires de plantes d'une zone ou d'un pays, puis par des études phytochimiques et pharmacologiques, de ce fait la valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays. Il existe environ 300 000 espèces de plantes à fleurs sur terre, on estime que seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leurs activités biologiques (Verpoorte *et al.*, 2002), ce qui fait que les plantes constituent un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré.

Plusieurs plantes sahariennes, fréquemment utilisées dans la pharmacopée traditionnelle, se sont vues reconnaître un effet thérapeutique contre différentes maladies telles le diabète qui a connu une émergence avec le changement de mode de vie et des régimes alimentaires de la population algérienne (Kandouli, 2018).

La flore algérienne compte près de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques (Quezel et Santa, 1963), reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. La connaissance des constituants chimiques des plantes facilite l'étude de leur activité biologique et un meilleur contrôle de qualité en vue d'une préparation pharmaceutique.

La famille des Asteraceae est parmi les familles botaniques les plus importantes à cause de nombre important des espèces connues par leurs vertus thérapeutiques. Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Asteraceae (anciennement appelées Composées ou Compositae) est une famille botanique appartenant aux Dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 endémiques. C'est une des familles la plus importante des Angiospermes. Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes (Crete, 1965). En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces (Quezel et Santa, 1963).

Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes ornementales (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc.) (Mahdjar, 2013).

Les Asteraceae sont des arbustes à feuillage persistant, des sous-arbrisseaux, des plantes herbacées vivaces, des plantes herbacées annuelles ou bisannuelles. Les caractères décrits ci-dessous sont ceux rencontrés le plus fréquemment mais il faut être conscient de la grande hétérogénéité de cette famille. Les feuilles sont simples, alternes ou opposées. Elles sont lobées ou dentées. Les canaux résinifères ou laticifères sont caractéristiques de la famille. Il en est de même pour l'inflorescence en capitule qui est un assemblage de nombreuses petites fleurs indépendantes entourées d'un involucre de bractées. L'ensemble donne l'impression d'une fleur unique. Les capitules sont généralement distribués en cymes, voire en épis ou en capitules composés. Le calice se transforme très souvent en aigrette avec des poils ou des barbes. Le fruit à une graine est souvent coiffé de l'aigrette. Le fruit est un akène généralement surmonté d'un pappus provenant du calice après la fécondation. Son rôle est de favoriser la dispersion des graines par le vent (anémochorie) (Fouché *et al.*, 2000).

Cette immense famille est utile dans de nombreux domaines: plantes alimentaires (tournesol); plantes insecticides (pyrèthre); plantes médicinales (camomille) (kandouli, 2018).

Anvillea radiata Cos. & Dur. est une espèce de la famille des Asteraceae. C'est une espèce endémique du Sahara. Cette espèce est très connue et très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies : le diabète, les maux de l'estomac, le microbe de l'appareil génital des femmes et la toxicité... (Maiza *et al.*, 1993 ; Chehma, 2006).

L'analyse phytochimique de différentes parties de la plante a été l'objet de quelques études (Djellouli *et al.*, 2013, Mebarki *et al.*, 2013). Ces auteurs ont mis en évidence la présence des flavonoïdes, des saponines, des alcaloïdes, des tannins, des acides gras, des terpènes et stéroïdes.

D'autre étude a montré la présence des 13 flavonoïdes chez l'*Anvillea radiata* quatre aglycones et neuf flavonols glycosidés, sont : hispiduline, népétine, jaceosidine, spinacetin, spinacetin 7-glucoside, patuletin 7-diglucoside, spinacetin 3-diglucoside, kaempferol 6-methylether 3-glucoside, quercetin 3-glucoside, patuletin 3-diglucoside, isorhamnetin 3-diglucoside, quercetin 3-rhamnoglucoside et quercetin 3-diglucoside 7- glucoside (Dendougui *et al.*, 2006). Des flavonols comme 6-methoxykaempferol 3-galactoside, 6-methoxykaempferol 3-galactoside 7,4-dimethylether, kaempferol 3- rhamnoglucoside, spinacetin 3-rhamnoglucoside ont été isolés à partir de l'*Anvillea garcini* (Ulubelen *et al.*, 1979).

Certains auteurs ont pu isolés quelques germacranolides chez l'*Anvillea garcini* : 9 α hydroxy-1 β ,10 α -epoxyparthenolide, 9 β -hydroxyparthenolide, 9 β -hydroxy-1 β ,10 α epoxyparthenolide, cis-partenolid-9-one (Sattar et Phail *et al.*, 2000, Sattar *et al.*, 1996, Rustaiyan et al., 1986 ; Tyson et al.,1981). *Anvillea radiata* est une source de sesquiterpène lactone 9 α - hydroxyparthenolide (El Hassany *et al.*, 2004), qui a différentes activités : antibactérienne, cytotoxique, antitumoral et antifongique (Mebarki *et al.*, 2013 ; Moumou *et al.*, 2014) et anticancereuse (Moumou *et al.*, 2014), des autres sesquiterpenes ont été ésolés : parthenolide-9-one, 8 α ,9 α -Epoxyparthenolide (El Hassany *et al.*, 2004), et 9 β -hydroxyparthenolide (Moumou *et al.*, 2014).

La caractérisation de l'huile essentielle de l'*anvillea radiata* afait l'objet d'une seule étude (El Hanbali *et al.*, 2007). L'analyse chimique par GC/MS de ces huiles relève une prédominance de 6-oxocyclonérolidol (66.6%) et 6-hydrocyclonérolidol (11.4%). Ces auteurs rapportent également que ces huiles essentielles possèdent une excellente activité antibactérienne.

Dans ce contexte et dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles du Sahara, cette étude vise à évaluer différentes activités biologiques des extraits d'*Anvillea radiata* ainsi que la quantification des différentes classes des composés phénoliques.

Ce mémoire est organisé en deux chapitres précédés par une introduction bibliographique sur l'espèce étudiée. Le premier est consacré à la présentation de la méthodologie du travail qui renferme le choix et la description botanique du matériel végétal étudié, les techniques d'extraction et d'analyses utilisées ainsi que les protocoles des tests biologiques. Le deuxième chapitre sera réservé à la présentation de tous les résultats obtenus dans notre étude et de leur discussion. Une conclusion générale viendra achever le présent travail dans laquelle différentes perspectives de recherches seront évoquées.

Chapitre I: Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

a. Choix de la plante

Le choix de l'espèce *Anvillea radiata* dans cette étude a été guidé par son usage dans la pharmacopée traditionnelle et par les études phytochimiques répertoriées dans la littérature. En effet, cette espèce est très utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter les problèmes digestives et dermatologiques (Fekchich et Elachouri, 2014), comme cholagogue (Merzouki *et al.*, 2000) et le diabète. Les études expérimentales effectuées sur cette espèce ne sont pas très nombreuses, mais elles montrent sa richesse en composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes (Dendougui *et al.*, 2006). En plus, le travail réalisé par Kharjul *et al.* (2012) a révélé l'efficacité de l'extrait éthanolique d'*Anvillea radiata* présente une potentielle activité antidiabétique par la diminution de la glycémie chez les rats diabétiques. L'étude réalisée par Telli (2017) a montré que la décoction d'*Anvillea radiata* a diminué significativement la glycémie et quelques d'autres paramètres biochimiques chez des souris diabétiques.

La présente vise à évaluer quelques activités biologiques de différents extraits d'*Anvillea radiata* en utilisant des solvants de différente polarité pour l'extraction.

b. Description botaniques et systématique

Anvillea radiata est une espèce de la famille des Asteraceae. C'est un petit arbuste très ligneux. Très ramifié de 20 à 50 cm de haut. Les feuilles sont vert-bleuté, en forme de triangle allongé, atténuées à la base en pétiole et à limbe fortement denté. Le capitule est grand, de 4 à 5 cm de diamètre y compris les longues ligules. Il est entouré de feuilles supérieures rayonnantes qui se transforment progressivement en bractées qui sont coriaces. Les fleurs sont de couleurs jaune-orangé. Les paillettes du réceptacle sont tronquées au sommet et prolongées en une sole. Les akènes du capitule sont prismatiques, ceux de la périphérie possèdent trois angles et ceux de centre quatre angles. Cette espèce est endémique au Sahara et s'installe dans les dépressions sablo-argileuses (Ozenda, 2004). la plante dégage un léger parfum agréable (Boullard 2001; Quezel 1963). Elle fleurit généralement au

printemps, mais peut fleurir toute l'année (Alaoui Boukhris, 2016). La période de floraison est en avril à mai (Chehema, 2006).



Photo 1: *Anvillea radiata*.



Photo 2: Fleur et feuilles d'*A. radiata*.

D'après Quézel et Santa (1963), la classification qu'occupe *Anvillea radiata* Coss. & Dur. est la suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Anvillea*

Espèce : *Anvillea radiata* Coss. & Dur.

Nom vernaculaire en Arabe : Noug, Arfej, Herf, Ain Bagra et chadjeret el-dhab, en langues berbères : kramoch, Tahtit et Aktkal, et en Targui : Akadkad (Halimi, 1997 ; IUCN, 2005 ; Qadah, 2013)

c. Ecologie et répartition géographique

Cette vivace plante accepte une grande variété de sols et de sols graveleux d'oueds, situés dans les environs (plateaux rocheux parsemés de petits cailloux) et dans les dayas (petites dépressions sablo-argileuses). On le trouve fréquemment sur les sols sablo-argileux des petites dépressions. Il tremble dans des conditions climatiques rigoureuses avec moins de 100 mm de précipitations par an (IUCN, 2005).

C'est une plante endémique de la famille des Asteraceae qui pousse principalement dans les steppes d'Afrique du nord (Maroc et Algérie) et que l'on trouve dans les régions du Moyenorient (Mebarki *et al*, 2013). En Algérie, cette espèce est trouvée dans les monts Tassili (IUCN, 2005), les régions de Ouargla (Oued El Hadj M *et al*, 2003), El Djelfa, Bechar, Naâma (Djellouli *et al*, 2013), El Golia (El Hassany *et al.*, 2004) et Ghardaïa (Chehema, 2006).

d. Médecine traditionnelle et connaissances locales

Selon la tradition locale, l'infusion (ou la macération) des feuilles et des tiges d'*A. radiata* sont utilisées dans le traitement des pathologies broncho-pulmonaires (refroidissement pulmonaire) et digestive. Les pousses de cette espèce, en infusion à froid ou à chaud, sont utilisés comme remède contre le diabète, les maux de l'estomac, le microbe de l'appareil génital des femmes et la toxicité (Maiza *et al.*, 1993 ; Chehema, 2006).

Ghourri *et al.*, (2012) ont signalé que la poudre des feuilles d'*Anvillia radiata* mélangée au beurre des chèvres est utilisée comme des suppositoires pour traiter le froid du dos. Ils ont aussi décrit l'usage de cette poudre contre les maux gastriques. Les capitules ou bien les tiges feuillées en mélange avec celles d'*Artemisia abrotanum*, d'*Artemisia atlantica* et d'*Artemisia herba alba*, en décoction dans l'eau minérale, sont utilisées contre la pyélonéphrite et la cystite (Benkhniq *et al.*, 2016).

Les graines broyées et mélangées avec l'huile d'olive, du miel ou des dattes broyées (pour masquer l'amertume) sont excellentes pour le rhume (IUCN, 2005).

Cette espèce peut être utilisée sous forme des suppositoires en mélange avec la nigelle (*Nigella sativa*), le cresson (*Nasturtium officinale*) et le *Maerua crassifolia* dans le traitement de l'influenza aussi. Cette préparation est déconseillée pour les enfants et les femmes

enceintes. IUCN (2005) a indiqué que cette espèce est bon pâturage, en particulier au stade de la floraison, car elle améliore la performance zootechnique et favorise la croissance.

e. Récolte

La récolte du matériel végétal (partie aérienne) a été effectuée durant le mois de janvier 2019 dans la région d'Oued Nechou et de Sahara de Metlili (Ghardaïa).

f. Séchage et broyage

Après la récolte, le matériel végétal a été séché à l'air libre et à l'abri de la lumière et d'humidité pendant trois semaines. Puis, ce matériel a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine juste avant l'extraction. Cette poudre a été stockée à l'obscurité dans des flacons sombres jusqu'à son utilisation.

I.1.2. Souches bactériennes testées

Deux souches bactériennes seulement ont été utilisées dans cette étude pour évaluer l'activité antibactérienne, il s'agit de *Staphylococcus aureus* (ATCC.25923) cocci Gram+ et d'*Escherichia coli* (ATCC.25922) bacille Gram - ont été fournies par le laboratoire de l'institut Pasteur à Alger.

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction

Pour extraire les principes actifs de l'espèce étudiée, une macération à froid est adoptée en utilisant trois solvants de différente polarité : méthanol, acétate d'éthyle et éther de pétrole. Pour l'extraction, un poids de 10 g de matériel végétal est mélangé avec 100 ml de solvant pendant 24 heures. Le matériel végétal est mis en contact avec le solvant 3 fois pour l'épuiser. Après la filtration, les trois filtrats sont mélangés et concentrés par le rotavapor (Heidolph) à 50 °C pour le méthanol et 45 °C pour l'acétate d'éthyle et l'éther de pétrole. Les résidus secs obtenus sont dissouts dans 10 ml de méthanol ou d'eau/DMSO (diméthyle sulfoxyde) puis conservés à +4 °C jusqu'à leur utilisation. Les résidus dissouts dans l'eau/DMSO sont utilisés pour l'évaluation des activités antibactérienne et anti alpha amylase.

I.2.2. Détermination du rendement d'extraction

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

$$R (\%) = (PSe / PSmv) * 100$$

R (%) : Rendement d'extraction en (%)

PSe : Poids sec d'extrait (g)

PSmv : Poids sec de matériel végétal (g)

I.2.3. Analyses phytochimiques

I.2.3.1. Criblage phytochimique

Pour mettre en évidence la présence de quelques métabolites dans les différents extraits d'*A. radiata*, plusieurs tests ont été utilisés en se basant sur les propriétés physico-chimiques de ces métabolites.

a. Tanins

Pour mettre en évidence la présence des tanins, un volume de 2 ml de chaque extrait est mélangé avec quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ (1%). Le mélange est incubé pendant 15 min à 50°C. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noir (Trease et Evans, 1987).

Pour différencier les tannins catéchiqes des tanins galliques, nous avons utilisé le réactif de Stiasny (10 ml de formol à 35%+ 5ml d'acide chlorhydrique). Un volume de 30 ml d'extrait est mélangé avec 15 ml de réactif de Stiasny, ensuite la solution est chauffée à reflux au bain marie pendant 15 à 30 minutes. L'apparition d'un précipité de couleur rose claire montre la présence des tanins catéchiqes (Mibindzou Mouellet, 2004).

b. Flavonoïdes

b1. Anthocyanes

À 2 ml de chaque extrait, on ajoute 2 ml d'HCl (2N), puis 2 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH). Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (Ribereau-Gayon, 1982).

b2. Réaction à la cyanidine

Pour mettre en évidence les flavonoïdes, on utilise la réaction à la cyanidine. Un mélange renferme 5ml d'extrait, et 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée et acide chlorhydrique en volumes égales de 5 ml) est préparé., Quelques copeaux de magnésium ainsi qu'un ml d'alcool isoamylique sont ajoutés à ce mélange. L'apparition d'une coloration sur la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence des flavonoïdes libres (génine) :

- la couleur rose-orangée indique la présence des flavones.
- la couleur rose-violacée indique la présence des flavanones.
- la couleur rouge indique la présence des flavonols et des flavanonols.

Les leucoanthocyanes sont mis en évidence par la réaction de la cyanidine mais sans l'ajout des copeaux de Mg. Le mélange est chauffé au bain-marie pendant 10 min. Le développement d'une coloration rouge cerise ou violacée indique la présence des leucoanthocyanes et la teinte brune-rouge indique la présence des catéchols (Mibindzou Mouellet, 2004).

c. Coumarines

La présence des coumarines est mise en évidence par le test décrit par Diallo (2000). Ce test consiste à mélanger 2 ml de l'infusé à 5% (p/v) et de 3 ml de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines.

d. Quinones libres

Les quinones libres sont révélés par le test décrit par Dohou (2004) qui consiste à ajouter quelques gouttes de NaOH (1%) à 5 ml d'extrait. Si ce mélange développe une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet, révèle la présence des quinones libres.

e. Alcaloïdes

Un mélange réactionnel renfermant 5 ml d'acide chlorhydrique à 1% et 1 ml d'extrait est préparé. Ce mélange est chauffé au bain marie puis est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer (1,36 g HgCl₂ ; 5 g KI ; eau distillée q.s.p 100 ml), l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner (2g KI ; 1,27 g d'iode ; eau distillée q.s.p 100 ml). La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

f. Terpénoïdes

Pour mettre en évidence la présence des terpénoïdes, il y a plusieurs méthodes. Dans ce travail, deux méthodes ont été utilisées qui sont:

- ✓ **Test de Libermann-Burchard** : Ce test consiste à ajouter à 5 ml d'extrait 2 ml d'anhydride acétique et 1 ml d'acide sulfurique. L'apparition d'une couleur mauve ou violette indique que le test est positif (Kablan *et al.*, 2008).
- ✓ **Deuxième test** consiste à mélanger 5 ml d'extrait avec 2 ml de Chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes (Kablan *et al.*, 2008).

g. Saponosides : test de mousse

Dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait aqueux est agité énergétiquement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante supérieur à 1 cm indique la présence de saponosides (Daoudi *et al.*, 2015).

h. Stéroïdes

Dans une capsule, on introduit 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de l'extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H₂SO₄ concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (Harborne, 1998).

i. Composés réducteurs

La présence des composés réducteurs est mise en évidence par la liqueur de Fehling. Ce test consiste à traiter 1 ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 2 ml de la liqueur de

Fehling puis les tubes sont chauffés au bain marie à 40°C. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Trease et Evans, 1987).

I.2.3.2. Quantification de quelques classes des composés phénoliques

a. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). Cette méthode est basée sur la réduction des acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) par les phénols qui sont oxydés (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

Un volume de 40 μ l de l'extrait ou d'acide gallique (0-800 μ g/ml) est mélangé avec 1,8 ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée). Un volume de 1,2 ml de la solution de Na_2CO_3 (7,5 %) est ajouté au mélange après 5 min. Après une homogénéisation vigoureuse puis un repos de 60 min à l'obscurité, à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (SpectroScan 40). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique EAG/g de poids sec (PS) de matériel végétal, avec 3 répétitions de manipulation (figure 4) (Shui et Leong, 2006).

b. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes est effectuée selon la méthode de Kim *et al.* (2003). Cette méthode est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et la soude (NaOH), entraînant ainsi la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm (Beddou, 2015).

Le mélange réactionnel est préparé par l'ajout de 0,3 ml d'une solution de nitrite de sodium $NaNO_2$ (5%) à 1 ml de l'extrait dilué cinq fois. Après 5 min, 0,3 ml de solution de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ (10%) est ajouté. Le mélange est laissé au repos pendant 5 min, puis 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium 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 (SpectroScan 40). La gamme étalon est préparée avec la rutine (0,05-0,5 mg/ml) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine ER/g de poids sec de matériel végétal, avec 4 répétitions de manipulation (Telli, 2017).

c. Dosage des acides phénols

L'estimation des acides-phénols est effectuée selon la méthode d'Arnou décrite par Szauffer Hadjrych (2004). Un volume de 1 ml d'échantillon est mélangé à 5 ml de l'eau distillée, puis 1 ml d'HCl (0,5 M), 1 ml de réactif d'Arnou (solution aqueuse de molybdate de sodium 10 (p/v) et nitrite de sodium 10% (p/v)) et 1 ml d'hydroxyde de sodium (1 M) ont été additionnés. Le volume du mélange réactionnel est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (SpectroScan 40). L'acide caféique a été utilisé comme référence pour la préparation de la courbe d'étalonnage avec des concentrations allant de 0 à 200 µg/ml. Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide caféique EAC/g de poids sec de matériel végétal, avec 3 répétitions de manipulation (Telli, 2017).

d. Dosage des tanins condensés et proantocyanidines

Les tannins condensés, également connus sous le nom de proanthocyanidines dérivés polymériques de flavan-3-ol, sont déterminés par la méthode de Sun *et al.* (1998) est celle de la vanilline-HCl. qui consiste à dépolymériser les tannins en milieu acide, et après réaction avec la vanilline, à les transformer en antocyanidols de couleur rouge facilement analysables à 510 nm (Beddou, 2015).

La méthode décrite par Sun *et al.* (1998) est celle de la vanilline-HCl. A 0,2 ml de l'extrait, 1 ml de la solution fraîchement préparée de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCl (98:2, v/v) est ajouté. Après incubation à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (SpectroScan 40). L'étalonnage est réalisé avec de la catéchine (de 0 à 1 mg/ml) et le taux des tanins condensés est calculé en mg en équivalent de catéchine EC/g de poids sec de matériel végétal, avec 3 répétitions de manipulation (Telli, 2017).

I.2.4. Evaluation des activités biologiques

Pour mettre en évidence l'efficacité des différents extraits d'*Anvillea radiata* et pour justifier l'utilisation traditionnelle de cette espèce nous avons évalué différentes activités biologiques à savoir l'activité anti-oxydante, l'activité antimicrobienne et l'activité inhibitrice de l'alpha amylase.

1.2.4.1. Activité anti-oxydante

Dans cette étude, plusieurs tests ont été utilisés pour déterminer la capacité anti-oxydante des différents extraits d'*Anvillea radiata*, qui sont le test à l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique acid) et celui de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) ainsi que le test de blanchissement de bêta carotène.

a. Test d'ABTS

Cette méthode introduite par Miller et Rice-Evans (1993) est basée sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical cation ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La solution du radical cation ABTS^{•+} est obtenue en mélangeant l'ABTS (7 mM) avec un oxydant le persulfate de potassium (2,45 mM) incubées à 23 °C pendant 12 à 16 heures, à l'obscurité, la solution donne une couleur bleue intense. La solution d'ABTS^{•+} est diluée avec l'éthanol (80%) jusqu'à l'obtention une absorbance égale à 0,700±0,020 à 734 nm (Cai *et al.*, 2004). Un volume de 3,9 ml de cette solution est mélangé avec 0,1 ml de l'échantillon testé, préparé à différentes concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 200, 400, 800 µg/ml). Le mélange est agité vigoureusement. Après un repos de 6 min à 23 °C, l'absorbance est mesurée à 734 nm. L'activité anti-oxydante est déterminée par la mesure de la capacité des composés testés à diminuer l'intensité de la coloration obtenue à partir de l'ABTS^{•+} en la comparant avec un antioxydant de référence, le Trolox (acide 6 hydroxy-2,5, 7, 8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) (0-500 µM) dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E sans la chaîne aliphatique. La réduction de l'ABTS^{•+} (Figure 3) conduit à la décoloration de la solution ABTS^{•+} (Re *et al.*, 1999). Plus l'absorbance finale est faible, plus la valeur TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) est élevée, ce qui signifie l'efficacité de l'antioxydant. les résultats sont exprimés en µM ET/g de poids sec de matériel végétal (Schlesier *et al.*, 2002).

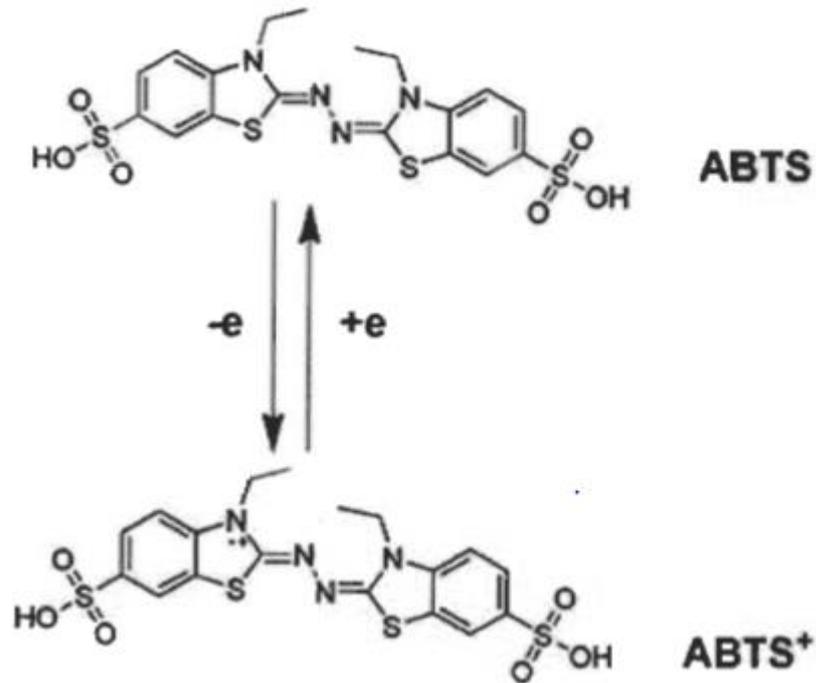


Figure 1: Oxydo-réduction de l'ABTS^{•+} en ABTS (Christopher *et al.*, 2014).

b. Pouvoir réducteur du fer (FRAP, *Ferric Reducing Ability of Plasma*)

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer (le passage de la forme ferrique au ferreux) (Pellegrini *et al.*, 2003). Elle consiste à observer après quatre minutes le changement d'absorbance à 593 nm dû à la réduction du complexe Fe³⁺-TPTZ (fer-2, 4,6-tripyridyl s-triazine) en Fe²⁺-TPTZ et à l'apparition d'une couleur bleue (Benzie et Strain, 1996; Roginsky et Lissi, 2005) (Figure 2).

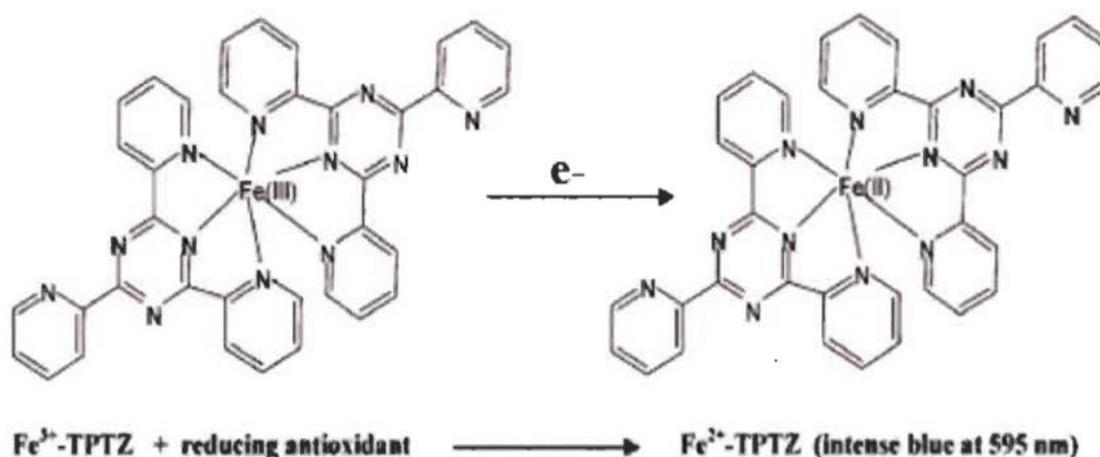


Figure 2: Réaction de la réduction de $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}$ en $\text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}$ de la réduction (Prior *et al.*, 2005).

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) est déterminé dans les différents extraits, selon la méthode de Benzie et Strain (1996) avec de légères modifications (Jaitak *et al.*, 2010). Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine ferrique (TPTZ- Fe^{3+}) au ferreux (TPTZ- Fe^{2+}), une forme colorée obtenues en présence d'un agent antioxydant (Figure 4). 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_3 (20 mM) en proportion de 10 : 1 : 1 (v/v) respectivement. 1 mg de chaque extrait sec est dissouts dans 5 ml d'éthanol aqueux (70%) puis dilué pour obtenir différentes concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g/ml}$). 50 μl de ces solutions 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'éthanol aqueux à 70% (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.

c. Test de blanchissement de β -carotène

Dans ce test l'activité anti-radicalaire des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène. Les acides gras polyinsaturés, comme l'acide linoléique, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle ce qui génère des radicaux peroxydes (Favier, 2003). Ces radicaux vont oxyder le β -carotène entraînant la disparition de sa couleur rouge, mais en présence d'un antioxydant ces radicaux sont neutralisés.

Le pouvoir des différents extraits à inhiber la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique est déterminé par la méthode décrite par Kelen et Bektas (2007). Une solution stock de β -carotène/acide linoléique est préparée. 0,5 mg de β -carotène a été dissous dans 1 ml de chloroforme, la solution obtenue est introduite dans un ballon contenant 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 20. Le chloroforme est évaporé au rotavapor (Heidolph). Ensuite 100 ml d'eau oxygénée sont ajoutés avec agitation vigoureuse. 350 μ l de l'extrait ou d'un antioxydant de référence (butylhydroxytoluène BHT) solubilisé dans du méthanol (2 mg/ml) sont additionnés à 2,5 ml de l'émulsion précédente. Le mélange est incubé à température ambiante, 48 heures et l'absorbance est mesurée à 490 nm après 20 min durant les deux premières heures puis après 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h et 48 h. Les capacités anti-oxydantes des différents échantillons ont été comparées avec celles des antioxydants de référence (butylhydroxytoluène BHT, α -tocophérol et quercétine) (telli, 2017). L'inhibition de la peroxydation des lipides (IPL) est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{IPL}\% = \frac{\text{teneur en } \beta\text{-carotène après 2 heures de l'essai}}{\text{teneur initiale de } \beta\text{-carotène}} \times 100$$

I.2.4.2. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne est faite par deux méthodes, une qualitative (diffusion sur milieu gélosé) est basée sur la mesure du diamètre de la zone d'inhibition et l'autre quantitative (micro-dilution) permet la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice).

a. Préparation de l'inculum

Une pré-culture des souches est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée par spectrophotomètre à 0,5 McFarland, ce qui correspond à $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (DO entre 0,08 et 0,1 à 625 nm).

b. Méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé

Dans cette méthode, la surface de l'agarest inculée avec l'inculum normalisé (turbidité ajusté entre 0,08 et 0,12 à 625 nm) de microorganisme testé. Ensuite, des disques en papier watman n° 1 (de 6 mm de diamètre) imprégnés d'une quantité bien déterminée de l'extrait étudié, sont placés sur la surface de la gélose. une fois que les disques sont placés sur la gélose, les boîtes de pétri sont incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après cette

incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition (diamètre de disque compris) est mesuré en mm et noté (NCCLS, 2004a ; NCCLS, 2004b ; ASM ,2005).pour chaque extrait, une série de dilution a été effectuée afin de déterminer la plus petite concentration capable d'inhiber la croissance microbienne (1,1/2, 1/4,1/8, 1/16, et 1/32, 0). Des antibiotiques ont été utilisés comme témoin positif : acide nalidixique (AN), ampicilline (AMP), Tetracycline (TE) et Amikacine (AK), l'eau/DMSO comme témoins négatifs.

c. Méthode de micro-dilution en milieu liquide

Pour déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice) des différents extraits végétaux, ce test est réalisé en utilisant une microplaque de 96 puits selon la méthode décrite par Perumal et al. (2012). Tous les puits sont remplis avec 100 µl de bouillon de Muller Hinton stérile. Un volume de 50 µl de la gamme de dilution de l'extrait testé (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32) est ajouté dans les puits des lignes B jusqu'à G. Les colonnes de 1 à 4 sont utilisées pour l'extrait méthanolique, les suites (5 à 8) pour l'extrait d'acétate d'éthyle et les restes (9 à 12) pour l'extrait d'ether de pétrol. Les puits de la ligne H ont servi pour les témoins positifs (Gentamycine de 5 mg/ml). La rangée A ne renferme aucun extrait ni agent antimicrobien. Enfin, 100 µl de la suspension bactérienne contenant 10^8 UFC/ml sont additionnés à tous les puits et bien mélangés. Les microplaques sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. La CMI des différents extraits est détectée après l'ajout de 50 µl d'une solution d'INT (0,2 mg/ml) à tous les puits et incubés à 37 °C pendant 30 min. L'iodonitrotétrazolium chloride (INT), initialement de couleur jaune, est un indicateur de la croissance microbienne après sa réduction en formazane de couleur rouge rosé. La croissance bactérienne est déterminée en observant le changement de la couleur d'INT (rouge rosée de formazane quand il y a croissance et une solution claire et quand il n'y a pas de croissance). La CMI correspond a la plus faible concentration en agent actif capable d'inhibé totalement la croissance d'un microorganisme donné (NCCLS, 2004c ; NCCLS, 2004d ; Perumal *et al.*, 2012 ; SFM, 2014 ; Telli, 2017). Chaque microplaque contient une souche différent, la 1^{er} plaque pour *E. coli* la 2^{ème} pour *S. aureus*.

Hamada et Ladjel (2015) ont proposé une classification de l'extrait de plante sur la base de leurs valeurs de CMI :

Forte inhibition : CMI <500 µg / ml

Inhibition modérée : 600 µg / ml <CMI <1500 µg / ml

Faible inhibition : CMI > 1600 µg / ml.

I.2.4.3. Inhibition de l'α-amylase

L'étude de l'activité inhibition de l'α-amylase par les différents extraits est effectuées selon la méthode décrite par Apostolidis *et al.* (2007). l'amylase utilisé dans cette étude est d'origine porcine (EC 3.2.1.1). Le milieu réactionnel est constitué de 500 µl de chaque extrait à différentes concentrations et 500 µl de tampon phosphate de potassium 0,02 M (PH 6,9) contenant du NaCl 0,006 M) et de l'α-amylase (0,5 mg/ml). L'ensemble est incubé à 25 °C, pendant 10 min. Après cette prés-incubation, 500 µl d'une solution d'amidon (1%) dans le même tampon phosphate sont ajoutés. Les mélanges réactionnels sont de nouveau incubés à 25 °C, 10 min. la réaction est arrêtée avec 1 ml de réactif coloré d'acide dinitrosalicylique DNS (1g DNS, 20ml NaOH 2 M, 30g tartrate double de Na et K dissouts dans 100 ml d'eau distillée. Les mélanges sont placés pendant 5min au bain-marie bouillant puis refroidis à température ambiante.

Après dilution 10 fois avec de l'eau distillée, l'absorbance est mesurée à 540 nm. Le Glucor (Acarbose) a été utilisé comme standard (0 à 100 µg/ml) (Telli, 2017). Le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Atémoin} - \text{Aextrait} / \text{Atémoin}) \times 100$$

I.3. Analyses statistiques

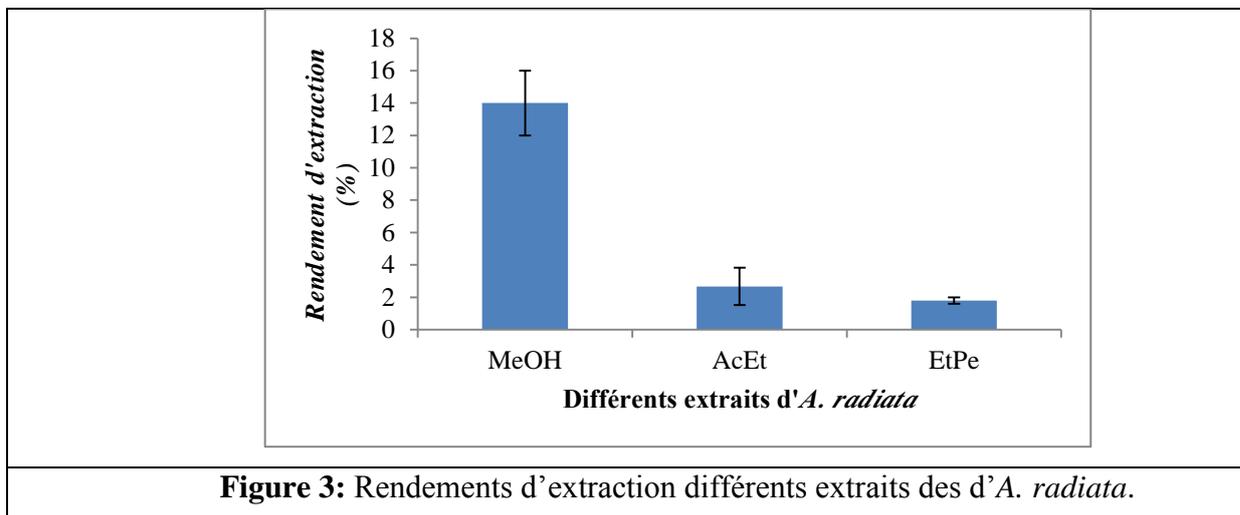
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± écart type de trois répliques analytiques. Le test de Mood a été réalisé pour évaluer la variabilité entre les paramètres étudiés. La régression linéaire a été utilisée comme modèle afin de déterminer CI₅₀. Le coefficient de corrélation de Person a été calculé pour déterminer la corrélation entre les méthodes de l'activité anti-oxydante et l'influence de différents solvants. Toutes les analyses ont été réalisées avec XLSTAT 2019.

***Chapitre II: Résultat
et discussion***

II. Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction pour chaque extrait d'*A. radiata* est déterminé et les résultats sont présentés dans la figure 3.



Selon la figure 3, il apparaît que l'extrait méthanolique (MeOH) d'*Anvillea radiata* a le rendement le plus élevé égal à 14±2%, suivi par celui de l'extrait d'acétat d'éthyle (AcEt) (2,67±1,15%), alors que l'extrait de l'éther de pétrole (EtPe) a enregistré le rendement le plus faible qui est de l'ordre de 1,8± 0,2%.

La comparaison entre les rendements des différents extraits montre qu'il y a des différences significatives entre les trois extraits d'*A. radiata* ($P < 0,05$; $\alpha = 0,05$).

Il ressort de ces résultats que la polarité du solvant a une influence sur la quantité des substances extraites. En effet, le méthanol est solvant polaire permet l'extraction de tous les composés polaires présents dans le matériel végétal et par conséquent un rendement important. A l'opposé, l'acétate d'éthyle (moyennement polaire) et l'éther de pétrole (apolaire) ont permis l'extraction des composés moyennement polaires ou apolaires, pour cela leurs rendements d'extraction sont faibles en comparaison avec celui de méthanol.

Ces résultats suggèrent que les principaux composés d'*A. radiata* sont généralement de forte polarité et solubles dans le méthanol (Abarca-Vergas *et al.*, 2016).

Le rendement n'est que relative et semble être lié à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage, la période de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées (Saoud, 2016).

D'après Hayouni *et al.* (2007), la nature du solvant est l'un des paramètres les plus susceptibles d'influencer le taux d'extraction.

Bouchouka (2016) à obtenu un rendement de 16,42 % dans l'extrait hydrométhanolique d'*A. radiata* qui est proche à notre résultat, alors que Sabrou et Houari (2018) ont obtenu un rendement très élevé pour l'extrait méthanolique d'*A. radiata* dépassant 33%. Par contre, Saoud (2016) a trouvé que le rendement d'acétate d'éthyle d'*Anvillea radiata* qui est égal à 0,21%, est faible en comparaison avec notre résultats

De nombreux facteurs influencent le rendement qui sont la teneur, les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique de l'espèce, les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturelles et l'âge du matériel végétal (Bourkhiss *et al.*, 2011 ; Aberchane *et al.*, 2001).

II.2. Analyse phytochimique

II.2.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est une étape essentielle dans l'étude phytochimique des plantes, car il nous a permis de mettre en évidence la présence de tel ou tel métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux, ce qui , par conséquent, nous a aidé à choisir les méthodes d'extraction, de purification et de l'évaluation des activités biologiques.

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les différents extraits préparés à partir de la partie aérienne d'*A. radiata* en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résultats de criblage phytochimique des différents extraits d'*A. radiata*.

Composés	MéOH	AcEt	EtPe
Tannins gallique	+	+	-
Tanins catéchiques	+	+	-
Flavonoïdes	+	+	-

Anthocyane	-	-	-
Cyanidine	+	-	-
Flavones flavones	-	-	-
Flavonones	+	-	-
Flavonols et flavanonols	-	-	-
catéchols	+	-	-
leucoanthocyanes	-	-	-
Coumarines	+	+	+
Quinones libres	+	+	+
Alcaloïdes			
Mayer	-	-	-
Wagner	-	-	-
Terpènoïdes	+	+	+
Stéroïdes	+	+	+
Saponosides	+	+	+
Composés réducteurs	-	-	-

+ : présence ; - : absence

Il ressort des résultats présentés dans le tableau 1 que l'extrait méthanolique d'*Anvillea radiata* est le plus riche en différentes catégories des métabolites secondaires (tanins, cyanidines, flavonones, catécholes, coumarines, quinones libres, terpènoïdes, stéroïdes et sponosides). Cependant, les métabolites qui sont présents dans les deux autres extraits, sont les coumarines, les quinones, les terpènoïdes et les stéroïdes.

Il est aussi à noter l'absence des anthocyanes, des leucoanthocyanes, des alcaloïdes et des composés réducteurs dans les trois extraits d'*A. radiata*. Ces résultats montrent que le méthanol peut extraire la majorité des composés présents dans la partie aérienne d'*A. radiata*, alors que les deux autres solvants ne peuvent extraire que les composés moyennement polaires ou apolaires.

Nos résultats ne sont pas en accord avec les résultats obtenus par Djellouli *et al.* (2013), qui ont mis en évidence la présence des alcaloïdes et l'absence des quinones et des coumarines. Mebarki *et al.*, (2013) ont montré l'absence des anthocyanosides, des alcaloïdes et des composés réducteurs dans les extraits des feuilles d'*A. radiata*, mais ils ont montré la

présence des tanins, des flavonoïdes, des acides gras, des stérols et des saponines. Aussi, Hamada et Ladjel (2015) ont signalé l'absence des alcaloïdes chez cette espèce.

Il apparaît que plusieurs facteurs peuvent influencer la composition chimique des plantes. En effet, Kone *et al.* (2009) ont signalé que cette variation peut être due à la situation géographique, l'organe prélevé, la période et le moment de la récolte et les conditions de stockage.

En plus, dans cette étude nous avons utilisé des solvants de différentes polarités. La polarité du solvant a une grande influence sur la quantité et la qualité des substances extraites à partir du matériel végétal (Nacz et Shahidi, 2004 ; Iloki-Assanga *et al.*, 2015).

II.2.2. Quantification de quelques classes des composés phénoliques

II.2.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées parce qu'ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobiennes. Les teneurs en polyphénols totaux, exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique, de différents extraits d'*A. radiata* sont présentées dans la figure 4.

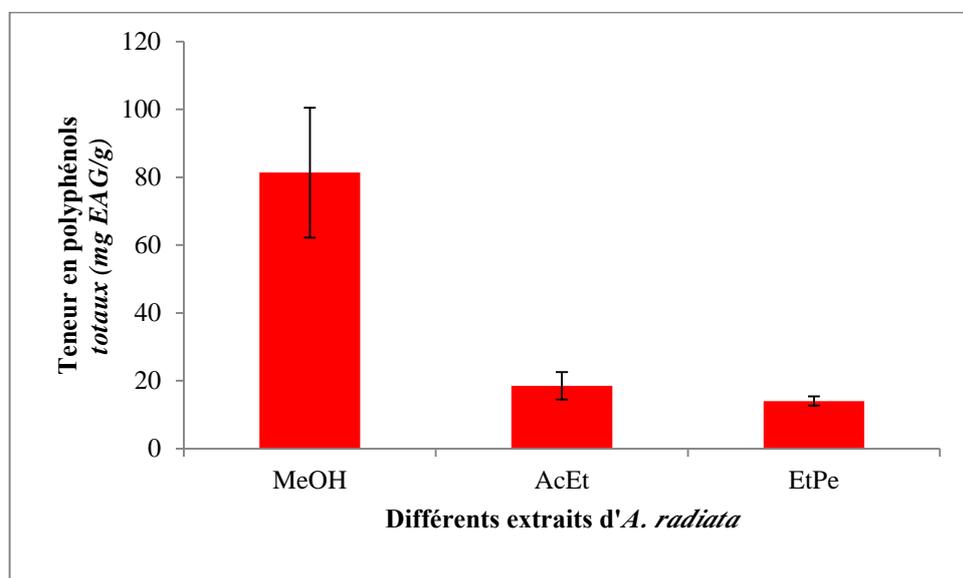


Figure 4 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d'*A. radiata*.

Au regard des résultats présentés dans la figure 4, nous constatons que les teneurs en polyphénols totaux varient considérablement entre les différents extraits et en relation étroite avec la nature du solvant d'extraction utilisé. Le taux le plus important en composé phénoliques est enregistré pour l'extrait MeOH qui est de l'ordre de $81,38 \pm 19,16$ mg EAG/g

de matière végétale sèche. Les deux autres extraits ont des teneurs très faibles en comparaison avec l'extrait méthanolique qui sont $18,52 \pm 4,05$ mg EAG/g pour l'extrait d'AcEt et $14,03 \pm 1,37$ mg EAG/g pour l'extrait d'EtPe.

Statistiquement, il y a des différences significatives entre les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits d'*A. radiata* ($P < 0,018$; $\alpha = 0,05$).

Comme la partie utilisée est la partie aérienne qui est le lieu de la photosynthèse. Il apparaît que la richesse de cette partie en polyphénols peut être expliquée par le fait que ces composés interviennent dans la protection des organes photosynthétiques contre les effets nocifs des rayonnements solaires, en particulier les rayonnements ultra-violet (Telli, 2017).

Les différences enregistrées dans la quantité des composés phénoliques entre les trois extraits peuvent être attribuées à la nature du solvant utilisé pour l'extraction. En effet, Naczka et Shahidi (2004) et Iloki-Assanga *et al.* (2015) ont indiqué que la solubilité des composés phénoliques dépend principalement de la polarité du solvant d'extraction, du degré de polymérisation des molécules à extraire, de longueur de chaînes carboniques et du nombre de la position des groupements hydroxyles.

Selon plusieurs études, le méthanol est considéré comme le meilleur extracteur des composés phénoliques, en particulier en système de solvant avec l'eau (Perez *et al.*, 2007 ; Bouchouka, 2016).

Néanmoins, Boulkroun (2012) a noté que les teneurs obtenues avec les solvants purs sont faibles par rapport à celles obtenues avec les solvants dilués, qui pourrait s'expliquer par la faible solubilité des composés phénoliques dans les solvants purs.

Bien que le dosage des composés phénoliques par la méthode Folin-Ciocalteu est peu coûteux, simple et rapide comme la coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'échantillon (Ribéreau-Gayon, 1968), mais l'inconvénient est que le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux composés phénoliques et peut réagir avec d'autres composés non-phénoliques notamment les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'ascorbate, l'acide tartrique et les sulfites (Prior *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2005), en plus de certaines substances inorganiques qui peuvent également réagir avec le réactif de Folin pour donner des concentrations élevées ce qui faussent les résultats (Prior *et al.*, 2005).

L'étude réalisée par Beddou (2015) a montré que la partie aérienne d'*A. radiata* est riche en polyphénols et les résultats obtenus sont comparables à nos résultats allant de 95,513±7,908 mg EAG/g jusqu'à 198,951±21,505 mg EAG/g des extraits hydrométhanolique (70%) pour les différents organes de la plante.

Le résultat obtenu par Bouchouka (2016) la partie aérienne d'*A. radiata* a une teneur en polyphénols égale à 20,88 ± 0,08 mg EAG/g MS qui est faible en comparaison avec notre résultat de l'extrait méthanolique, mais elle est proche à la teneur obtenue avec l'extrait d'AcEt.

En ce qui concerne l'étude réalisée par Djeridane *et al.* (2010), nous constatons que le taux des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique d'*Anvillea radiata* est faible (14,36 mg EAG/g) par rapport à notre résultat.

Cependant, Hamada *et al.* (2015) ont indiqué que que la partie aérienne d'*A. radiata* a une teneur de en polyphénols totaux très élevée dépassant 572 mg EAG/g pour l'extrait hydrométhanolique. Bammou *et al.* (2015) ont aussi montré la richesse de l'extrait méthanolique de la partie d'*A. radiata* récoltée dans le sud du Maroc avec un taux de 216,31 ±6,14 qui est largement supérieure à notre résultat.

Le travail effectué par Sabrou et Houari (2018) sur cette espèce a exhibé des taux faibles en composés phénoliques des extraits méthanolique et d'AcEt en comparaison avec nos résultats.

II.2.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une classe importante des composés phénoliques. La quantification de cette classe permet de déterminer la contribution de ces composés dans différentes activités biologiques.

La figure 5 représente les résultats des teneurs en flavonoïdes des différents extraits d'*A. radiata*.

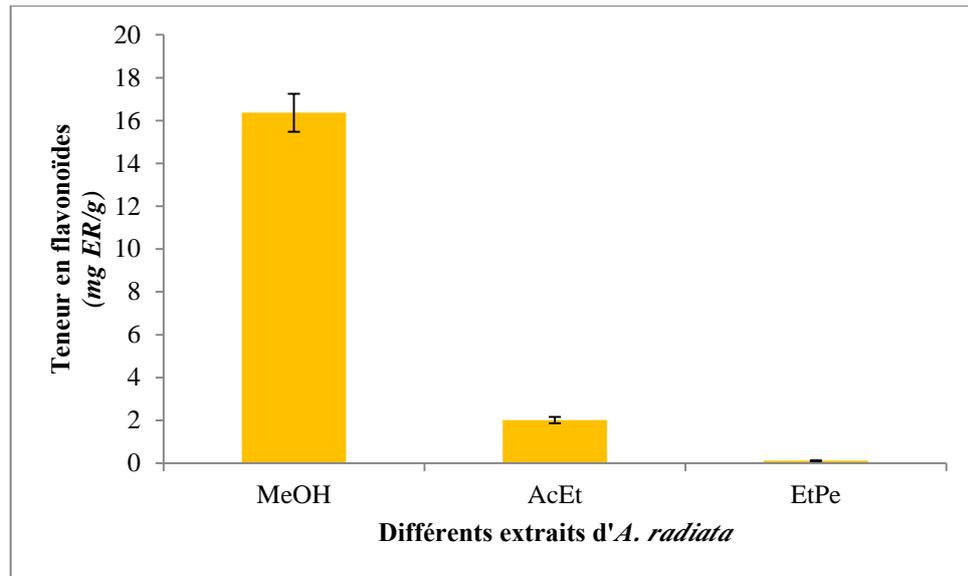


Figure 5 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits d'*A. radiata*.

Au vu des résultats présentés dans la figure 5, il apparaît que les teneurs en flavonoïdes les plus élevées sont obtenues avec l'extrait méthanolique, qui a un taux égal à $16,37 \pm 0,89$ mg ER/g, suivi par celle de l'extrait d'AcEt égale à $2,01 \pm 0,15$ mg ER/g. L'extrait d'EtPe a enregistré le taux le plus faible en flavonoïdes ($0,11 \pm 0,01$ mg ER/g).

Les analyses statistiques réalisées ont montré qu'il y a des différences significatives ($P < 0,05$; $\alpha = 0,05$) en teneur en flavonoïdes entre les différents extraits.

Le taux élevé des polyphénols et des flavonoïdes peuvent être du à l'augmentation du métabolisme des ces composés en réponse aux conditions climatiques extrêmes des ces plantes sahariennes. Aussi, la famille des Asteraceae est caractérisée par leur richesse en composés phénoliques en comparaison avec les autres familles botaniques (Djeridane *et al.*, 2006).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire (Telli, 2017) et même du nombre, du type et de la position de la liaison des glucides avec les flavonoïdes (Boulkroun, 2012).

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer

et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribereau-Gayon, 1968).

L'utilisation de solvants à polarité croissante permet de séparer les composés des extraits selon leur degré de solubilité et donc permet de séparer les flavonoïdes selon leurs degrés de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et triglycosylés) (Ciulei, 1982).

Il est important d'ajouter que le méthanol est le solvant qui extrait le mieux les antioxydant et les flavonoïdes (Sun *et al.*, 1998).

Ces résultats sont en concordance avec les travaux de Telli (2017) pour les extraits issus de la macération aqueuse et la macération acide, et supérieurs à ceux trouvés par Saoud (2016) pour l'extrait hydrométhanolique ($14,91 \pm 0,5$ mg EQ/g). Sabrou et Houari (2018) ont trouvé que les teneurs les plus élevées sont obtenues avec l'extrait méthanolique, qui a un taux égal à $17,60 \pm 1,78$ mg ER/g, suivi par ceux des extraits de dichlorométhane et d'AE qui sont de l'ordre de $4,15 \pm 0,74$ mg ER/g et $3,18 \pm 0,86$ mg ER/g respectivement. La teneur la plus faible est enregistrée pour l'extrait BuOH, qui est égale à $1,97 \pm 0,27$ mg ER/g.

II.2.2.3. Teneur en acides phénols

Les teneurs en acides phénols des différents extraits d'*A. radiata* ont été déterminées et les résultats sont présentés dans la figure 6.

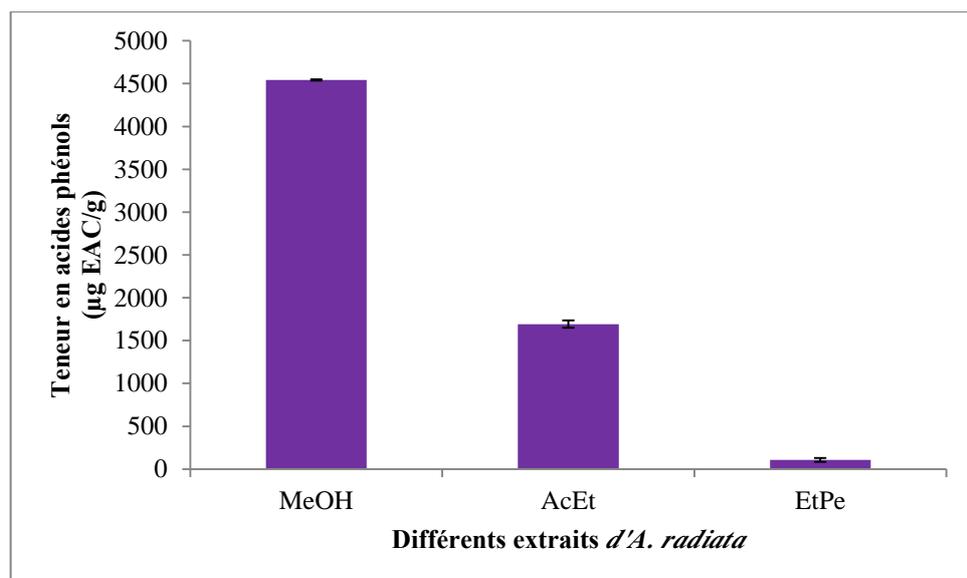


Figure 6: Teneur en acides phénols des différents extraits d'*A. radiata*.

Il ressort des résultats présentés dans la figure 6 que ces composés sont présents dans tous les extraits d'*Anvillea radiata* avec des concentrations différentes selon le solvant utilisé pour l'extraction. L'extrait MeOH possède la teneur la plus importante en acides phénols avec un taux de $4542,00 \pm 8,49 \mu\text{g EAC/g}$, suivi par celle de l'extrait d'AcEt ($1692,40 \pm 43,69 \mu\text{g EAC/g}$), tandis que l'extrait d'EtPe a la teneur la plus faible en acides phénols, qui est de $108,00 \pm 21,94 \mu\text{g EAC/g}$.

La comparaison entre ces trois extraits d'*Anvillea radiata* montre qu'il y a des différences significatives ($P < 0,05$; $\alpha = 0,05$).

La nature chimique, le degré de polymérisation, la diversité structurale et la variabilité des propriétés physico-chimiques peuvent influencer l'extraction des substances bioactives à partir de (Telli, 2017).

Notre résultat de la teneur en acides phénols obtenu avec l'extrait MeOH est supérieur à celui obtenu par Telli (2017) qui a reporté que la teneur en acides phénols pour la décoction d'*A. radiata* la plus importante ($3016,13 \pm 264,92 \mu\text{g EAC/g}$).

Les résultats obtenus par Sabrou et Houari (2018) sont très faibles en comparaison avec nos résultats, où la teneur plus importante en acides phénols est enregistrée pour l'extrait d'AcEt avec un taux de $283,87 \pm 30,54 \mu\text{g EAC/g}$, tandis que l'extrait MeOH a la teneur la plus faible en acides phénols, qui est de l'ordre de $69 \pm 3,14 \mu\text{g EAC/g}$.

II.2.2.4. Teneur en tanins condensés

La quantification des tanins condensés par la méthode de vanilline-HCl nous permet d'obtenir les résultats présentés dans la figure 7.

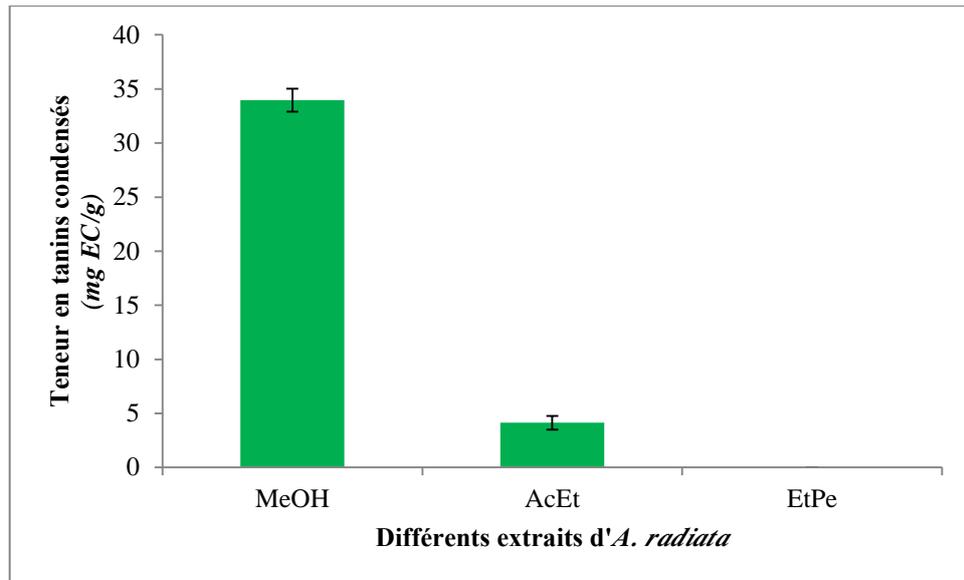


Figure 7 : Teneur en tanins condensés des différents extraits d'*A. radiata*.

Selon les résultats présentés dans figure 7, nous pouvons ressortir que l'extrait méthanolique est le plus riche en tanins condensés avec un taux de $33,97 \pm 1,06$ mg EC/g, alors que l'extrait de d'AcEt a le taux le plus faible qui est de l'ordre de $4,13 \pm 0,64$ mg EC/g. il est à noter que les tanins condensés sont absent dans l'extrait d'EtPe.

Le test de Mood de comparaison de plusieurs échantillons montre que les différences enregistrées entre les trois extraits d'*A. radiata* sont significatives ($P < 0,018$; $\alpha = 0,05$).

Les tanins condensés sont des oligo ou bien des polymères de flavane-3-ol dérivés de la (+) catéchine ou des nombreux isomères (Macheix, 2005). La présence d'un nombre suffisant de groupes hydroxyphénoliques permettent aux tanins de se combiner avec les protéines et alcaloïdes. Ces composés sont généralement amorphes, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Quettier-Deleu *et al.*, 2000).

La méthode de la vanilline-HCl est parmi les méthodes les plus utilisées dans la quantification des tanins condensés. Malgré sa simplicité et rapidité, cette méthode est très peu reproductible à cause de solvant utilisé, la nature et la concentration de l'acide, le temps de la réaction, la concentration de la vanilline et le type de standard utilisé (Telli, 2017).

Selon Telli (2017), les taux les plus élevés des tanins condensés d'*A. radiata* sont obtenus avec la décoction en utilisant la méthode de butanol-HCl dépassant $21,21$ mg EC d/g. Pour la méthode de la vanilline-HCl, les concentrations ne dépassent pas $14,56$ mg EC/g pour la décoction.

La teneur en tanin varie avec l'espèce végétale et ces variations peuvent être liées d'une part au degré de maturité et d'autre part au site de récolte (Bonner, 1974). L'acétone possède la capacité de solubiliser les tanins qui ne sont pas solubles dans le méthanol (Milcent et Chau, 2003).

Celle-ci a été confirmée par les travaux de Beddou (2015), où il a constaté que quelque soit l'organe étudié d'*A. radiata*, l'acétone aqueux possède les teneurs les plus élevées en tanins condensés, suivi de celles de méthanol et de l'infusé aqueux.

Sabrou et Houari (2018) ont indiqué que la teneur la plus importante en tanins condensés qui est égale à $4,63 \pm 5,85$ mg EC/g est obtenue avec l'extrait de butanol d'*A. radiata*, alors que les autres extraits ont des taux faibles des tanins condensés.

Au vu des résultats présentés ci-dessus, il ressort que l'extraction des composés phénoliques est une étape cruciale pour la valorisation des principes actifs, qui dépend du solvant d'extraction. Pour cela, la sélection d'un système de solvant approprié reste l'une des étapes les plus importantes dans l'optimisation d'extraction des polyphénols, des flavonoïdes et d'autres composés anti-oxydants (Zhao *et al.*, 2006).

II.3. Activités biologiques

L'objectif principal de la présente étude est d'évaluer différentes activités biologiques des extraits d'*Anvillea radiata* afin de confirmer ou affirmer l'utilisation traditionnelle de cette espèce. Les activités biologiques évaluées sont l'activité anti-oxydante, l'activité antibactérienne et l'activité anti-alpha amylase.

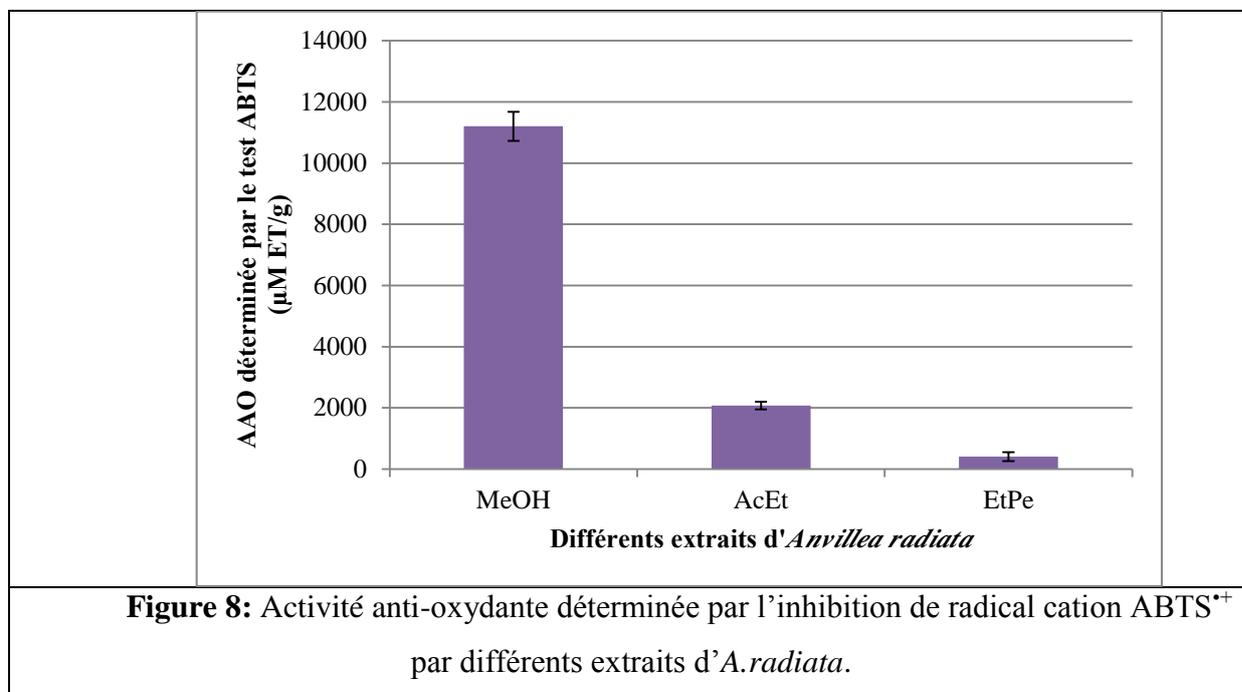
II.3.1. Activité anti-oxydante

Il y a plusieurs méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante, qui diffèrent sur le plan de leurs principes d'analyse et les conditions expérimentales et les antioxydants ont des contributions différentes au potentiel antioxydant total (Wojdyło *et al.*, 2007). Pour cela, il est nécessaire d'utiliser différents tests antioxydants complémentaires afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (Ksouri *et al.*, 2009).

Trois tests antioxydants ont été utilisés dans le présent travail pour la détermination de la capacité anti-oxydante des différents extraits d'*Anvillea radiata*, à savoir : ABTS, FRAP, test de blanchiment de β -carotène.

II.3.1.1. Piégeage du radical-cation ABTS^{•+}

La capacité des différents extraits d'*A. radiata* à inhiber le radical cation ABTS^{•+} est évaluée et les résultats exprimés en μM équivalent Trolox/g de poids secs de matériel végétal sont présentés dans la figure 8.



Selon les résultats présentés dans la figure 8, il apparaît que l'extrait MeOH a le pouvoir inhibiteur du radical cation d'ABTS^{•+} le plus important (11201,07 ± 476,72 $\mu\text{M ET/g}$), suivi par celui de l'extrait d'AcEt (2070,24 ± 125,49 $\mu\text{M ET/g}$). En ce qui concerne l'extrait d'EtPe, nous observons qu'il présente la plus faible capacité inhibitrice du radical cation d'ABTS^{•+} qui est égale à 404,61 ± 141,78 $\mu\text{M ET/g}$.

D'après les résultats de test de comparaison de Mood, nous constatons que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*A. radiata* sont significatives ($P < 0,027$; $\alpha < 0,05$).

L'activité anti-radicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical ABTS^{•+} « 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) » qui est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydant des échantillons. Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleue (Prouillac, 2006).

L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance. Cette diminution dépend de l'activité antioxydant des composés testés, du temps et de la concentration (Re et al., 1999).

Le test de corrélation effectué a révélé que l'activité anti-oxydante dans les différents solvants ne pas attribuée à sa richesse en composés phénoliques (annexes 19, 22 et 25). Ceux-ci peuvent être dus à la présence des autres composées ayant la capacité de donner des électrons, tels que les terpénoïdes (monoterpène et sesqueterpène) (Mohammedi, 2006 In Baba Ouyoub, 2017).

Les antioxydants naturels ou synthétiques permettent par transfert d'électron ou de proton à inhiber la production, à limiter la réaction de propagation ou à détruire les espèces réactives de l'oxygène, ce qui par conséquent à prévenir des maladies résultant de stress oxydatif (diabète, maladies cardiovasculaires, cancer, maladies neuro-dégénératives,...etc.) (Telli, 2017).

Les études effectuées sur le pouvoir antioxydant évalué par le test ABTS ont montré des résultats faibles en comparaison avec nos résultats. En effet, le travail réalisé par Telli (2017) a révélé une capacité anti-oxydante allant de $1445,22 \pm 138,82 \mu\text{M ET/g}$ à $1251,68 \pm 139,75 \mu\text{M ET/g}$ pour la décoction d'*Anvillea radiata* récoltée de trois écotypes différents.

Bouchouka (2016) a aussi obtenu un résultat très faible pour l'extrait hydromytanolique de la partie aierienne d'*Anvillea radiata* déterminée par le test ABTS egale a $22,01 \pm 1,27 \mu\text{M ET/g}$.

L'efficacité d'un antioxydant nateurel ou de synthèse est déterminée par le calcul de CI_{50} qui est calculée à partir de la régression linéaire de l'activité anti-oxydante en fonction de la concentration de l'extrait. Les concentrations des différents extraits d'*Anvillea radiata* ayant permis l'inhibition de 50% du radical cation d'ABTS^{•+} sont consignées dans le tableau 2.

Tableau 2: CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) de test d'ABTS des différents extraits d'*Anvillea radiata*

Extrait	MeOH	AcEt	EtPe	Trolox
IC₅₀	$153,48 \pm 10,02$	$249,77 \pm 25,05$	$523,41 \pm 32,53$	$189,97 \pm 20,04$

Le Trolox, utilisée comme antioxydant standard, a présenté une concentration de $189,97 \pm 20,04 \mu\text{g/ml}$ d'inhibition de 50% du radical cation d'ABTS^{•+}. La capacité de neutraliser 50% des radicaux libres pour les différents extraits d'*Anvillea radiata* allant de $153,48 \pm 10,02$ pour l'extrait méthanolique à $523,41 \pm 32,53 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait d'EtPe, et le classement du potentiel antioxydant était le suivant: MeOH > AcEt > EtPe.

Nous constatons que les CI50 des extraits qui sont supérieures à celle de standard le Trolox, signifiant que ces extraits sont moins efficace dans l'inhibition du radical cation d'ABTS^{•+}.

Cependant, dans cette étude, nous n'avons pas pu déterminer la concentration de ces antioxydants à l'état pur dans nos extraits. Néanmoins, nos résultats démontrent clairement qu'*A. radiata*, possède des propriétés antioxydantes très remarquables.

D'une manière générale, ces résultats sont en accord avec la littérature qui suggère que l'activité anti-oxydante des extraits végétaux dépend du type du solvant d'extraction et de sa polarité, dont la distribution des substances à activité anti-oxydante entre les différents extraits dépend de la polarité des extraits (Kang *et al.*, 2003).

La capacité antioxydant des extraits semble être influencée par les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes, il est évident que la forte activité des extraits est attribuées à leur richesse en composés phénoliques. En effet, les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les forme réactives de l'oxygène. donc considérées comme de bons marqueurs de pouvoir antioxydant (Beddou, 2015).

Cependant, il n'y a pas de corrélation positive entre la teneur en composés phénoliques et l'activité anti-oxydante évaluée par le rest ABTS.

Les résultats d'analyse phytochimique ont révélé que l'activité anti-oxydante dans les différents solvants ne pas attribuée seulement à sa richesse en composés phénoliques. Ceux-ci peuvent être dus à la présence des autres composées ayant la capacité de donner des électrons, tels que les terpénoïdes (monoterpène et sesqueterpène) (Mohammedi, 2006 *in* Baba Ouyoub, 2017). Une étude faite par Kang *et al.* (2003) a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits des végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

Selon Cai *et al.* (2004), il y a une relation entre le pouvoir antioxydant et la structure des composés phénoliques (nombre et position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule, glycosylation et présence d'autres groupements donneurs de protons).

En effet, Il est difficile d'expliquer la relation existant entre les antioxydants et l'activité anti-oxydante d'un végétal en se basant sur la seule analyse quantitative, du fait qu'il existe une relation non seulement avec le taux d'anti-oxydants mais aussi de l'interaction entre eux et avec d'autres constituants, d'où il est important de caractériser ces composés (Boulkroune, 2012 ; Beddou, 2015).

Les travaux réalisés par (Baddou, 2015) ont montré des valeurs de CI_{50} de $0,647 \pm 0,004$, $0,355 \pm 0,007$ et $0,370 \pm 0,013$ mg/ml de différentes parties d'extrait méthanolique *A.radiata* ; fleurs, feuilles et tiges respectivement.

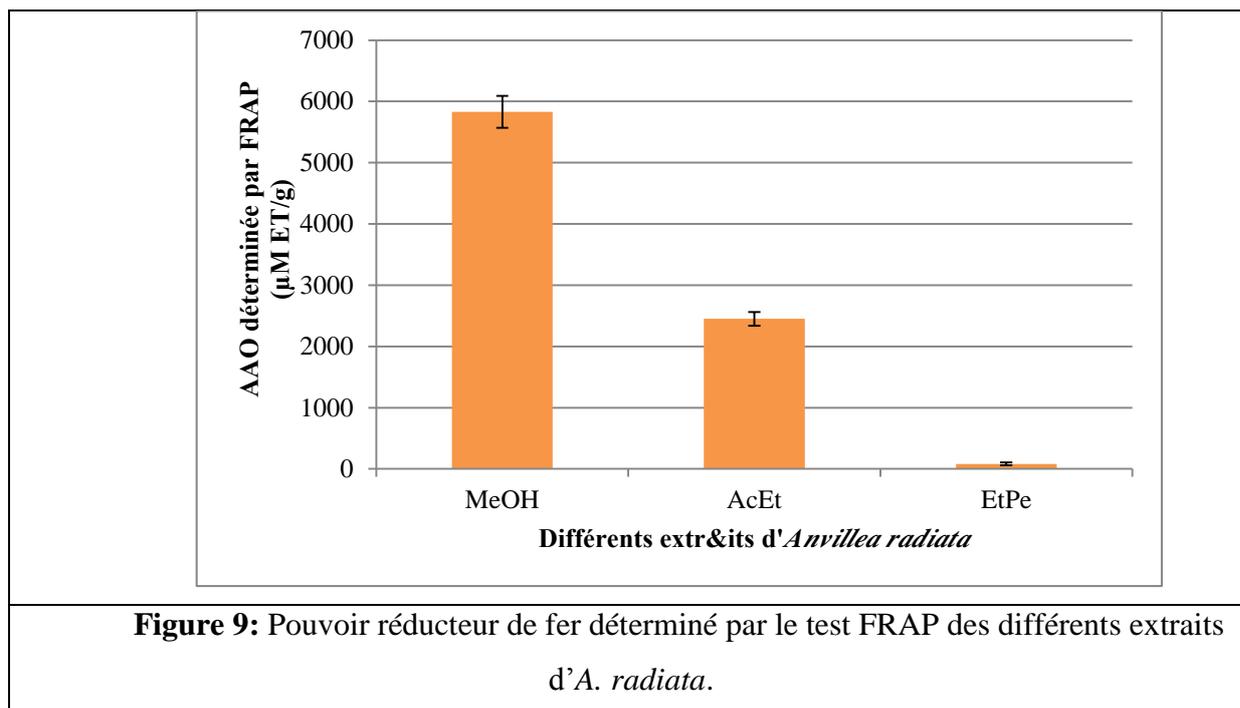
Saoud (2016) a rapporté que l'extrait d'acétate d'éthyle constitue un bon piègeur des radicaux libres en comparaison avec les autres extraits, sa concentration CI_{50} est égale à $0,001 \pm 0,002$ mg/ml, suivi par l'extrait butanolique ($0,002 \pm 0,001$ mg/ml) et l'extrait méthanolique ($0,0027 \pm 0,001$ mg/ml). L'extrait chloroformique est celui qui a enregistré la moins d'activité ($0,005 \pm 0,01$ mg/ml).

L'extrait obtenu par décoction de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* a une CI_{50} égale à $159,42 \pm 11,68$ µg/ml, qui est proche à celle de notre extrait méthanolique (Telli, 2017).

Lalam et Ouhammou (2018) ont montré que l'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* présente une activité inhibitrice vis-à-vis le radical $ABTS^{+}$ très importante, pour une concentration de 0,1 mg/ml 83% du radical est inhibé avec une CI_{50} égale à $0,0047 \pm 0,0003$ mg/ml.

II.3.1.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

La capacité des différents extraits d'*Anvillea radiata* à réduire le fer est évaluée et les résultats sont présentés dans la figure 9.



L'activité réductrice de fer la plus importante pour *Anvillea radiata* est enregistrée pour l'extrait MeOH qui est de l'ordre de 5830,42±261,68 µM ET/g, suivi par celle de l'extrait d'AcEt (2450,45±113,03 µM ET/g). A l'opposé, l'extrait d'EtPe a une capacité réductrice faible en comparaison avec les deux premiers extraits (81,64±24,09 µM ET/g).

Il est à noter que les différences observées entre les différents extraits de l'espèce étudiée sont significatives ($P < 0,05$; $\alpha = 0,05$)

Le pouvoir réducteur de fer des différents extraits d'*A. radiata* a été évalué et les résultats, exprimés en CI_{50} , sont illustrés dans le tableau 3.

Tableau 3: CI_{50} (µg/ml) du test FRAP de différents extraits d'*A. radiata*

	MeOH	AcEt	EtPe	Trolox
CI_{50} (µg/ml)	95,88±9,13	124,73±11,49	571,29±38,26	178,33±19,06

Au regard des résultats présentés dans le tableau 3, nous constatons que les extraits MeOH et d'AcEt présentent un puissant pouvoir réducteur de fer avec des valeurs de CI_{50} de 95,88±9,13 µg/ml et 124,73±11,49 µg/ml respectivement. Ces résultats sont inférieurs à celui obtenu avec l'antioxydant standard le trolox (CI_{50} =178,33±19,06 µg/ml). La capacité

réductrice de fer la plus faible est enregistrée pour l'extrait d'EtPe d'*Anvillea radiata* ($CI_{50}=571,29\pm 38,26 \mu\text{g/ml}$).

L'évaluation de l'activité anti-oxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible. Pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (ATTI, 2014).

La capacité anti-oxydante des extraits de plantes est largement dépendante de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests *in vitro*. (ATTI, 2014).

Les tanins galliques et les tanins catéchiques sont des polymères des composés phénoliques caractérisés par leur richesse en groupements hydroxyles et connus par leurs remarquables pouvoirs chélateur des ions métalliques et piègeur des radicaux libres. L'importante capacité réductrice d'ABTS⁺ et les ions de fer (Fe^{3+}) est probablement due au nombre élevé des groupements hydroxyles, en particulier en position ortho présents dans la structure des tanins que ce soit gallique ou catéchique (Koleckar *et al.*, 2008 *in* Telli, 2017).

La propriété anti-oxydante des flavonoïdes est conférée aux groupements hydroxyles des cycles B et C. Ces groupements peuvent agir comme des agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, piègeurs des radicaux et même chélateurs des ions métalliques (Carocho et Ferreira, 2013). Aussi, Re *et al.* (1999) et Mira *et al.* (2002) ont signalé que la structure catéchol du cycle B des flavonoïdes et la présence d'un groupement hydroxyle sur le carbone 3, un groupement carbonyle sur le C4 avec un système conjugué des doubles liaisons permettent aux flavones à réduire le radical cation d'ABTS⁺ et les ions de fer (Fe^{3+}).

Cependant, dans notre cas nous constatons qu'il n'y a pas de corrélation positive entre l'activité anti-oxydante évaluée par la mesure de pouvoir réducteur de fer et les teneurs en composés phénoliques.

Dans ce cas, on peut suggérer l'attribution d'autres composés bioactifs présents dans les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle dans la réduction de fer tels que les coumarines et les terpénoïdes.

L'étude de Bouchouka (2018) a montré que l'activité anti-oxydante d'extrait bruts d'*A. radiata* déterminée par le test FRAP est $28,68 \pm 0,43 \text{ mg ET/g MS}$.

Bougandoura (2011) a constaté que l'extrait d'AcEt possède une bonne action vis-à-vis de Fe^{3+} suivie par des extraits méthanoliques et butanoliques, alors que les extraits aqueux ne sont actifs qu'à partir des concentrations élevées. Saoud (2016) a aussi confirmé que l'extrait d'AcEt d'*A. radiata* est doté d'une capacité réductrice encourageante, suivi par l'extrait butanolique et méthanolique et dans la dernière classe l'extrait chloroformique.

En outre, Beddou (2015) a trouvé que l'extrait hydro-méthanolique des fleurs d'*A. radiata* présente le potentiel le plus important même mieux que les extraits aqueux, mais reste tous moins importante que les anti-oxydants standards. Tandis que Telli (2017), a montré que les extraits aqueux sont les meilleurs solvants pour extraire les anti-oxydants réducteurs de fer d'*A. radiata*.

Beddou (2015) a trouvé que la fraction d'acétate d'éthyle des fleurs d'*A. radiata* présente le pouvoir de réducteur de fer la plus élevée, avec CE50 nettement inférieurs à celle de la vitamine E (CE50=0,242±0,006 mg/ml).

L'organisme d'un humain adulte possède 4 g de fer dont environ 2/3 sous forme d'hémoglobine (transport de O_2 dans le sang). Dix pourcents supplémentaires sont sous forme de myoglobine (transport de O_2 dans les muscles) et une faible quantité dans plusieurs enzymes contenant du fer (Ex : les mon-oxygénases à cytochromes P 450). Le fer existe dans l'alimentation sous la forme oxydée Fe^{+3} . L'acide chlorhydrique sécrété par la paroi de l'estomac permet sa solubilisation et la vitamine C et/ou les polyphénols de l'alimentation réduisent une partie du Fe en Fe^{+2} et facilitent ainsi son absorption. Ils existent des maladies impliquant des anomalies du métabolisme de fer. En dessous du taux optimal, il y a risque d'anémie et au-dessus risque de stress oxydant (Ghedadba, 2015)

II.3.1.3. Inhibition de blanchissement du β -carotène

Pour déterminer la capacité des différents extraits d'*Anvillea radiata* à donner un proton à l'oxydant, nous avons utilisé le test de blanchissement du β -carotène.

Le pouvoir des différents extraits à inhiber la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique est déterminé par la mesure de l'abaissement de l'absorbance en fonction du temps et les résultats obtenus sont présentés dans la figure 10.

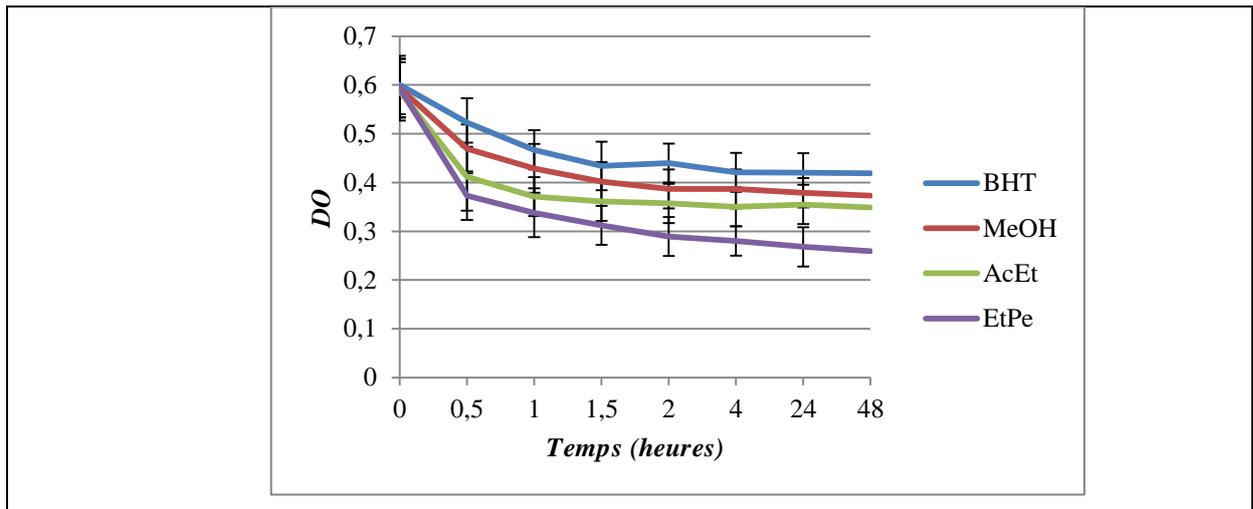


Figure 10 : Evolution de l'absorbance des mélanges réactionnels de blanchiment du bêta-carotène en fonction du temps en présence des différents extraits d'*Anvillea radiata* et de BHT.

D'après ces résultats, il apparaît qu'il y a une diminution des absorbances au cours du temps, ce qui prouve l'oxydation continue du β -carotène par les radicaux résultant de l'oxydation de l'acide linoléique par le peroxyde d'hydrogène. Cependant, la présence des extraits ou d'antioxydant standard (BHT) diminue différemment le degré de l'oxydation et par conséquent l'inhibition de la décoloration du β -carotène (Fig. 10).

Les pourcentages d'inhibition de blanchissement du β -carotène par le BHT ou par les extraits d'*Anvillea radiata* sont calculés et les résultats sont présentés dans le figure 11.

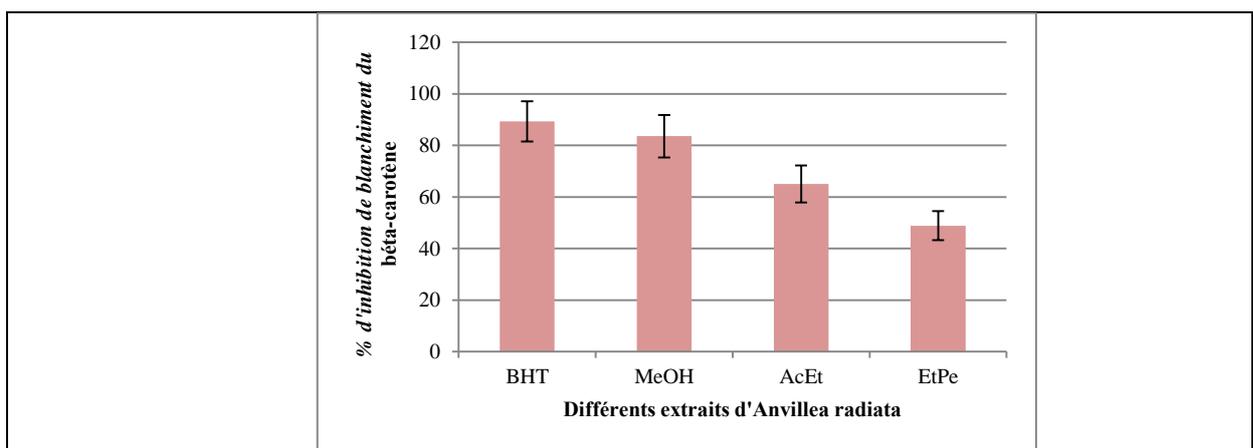


Figure 11 : Pourcentages d'inhibition de blanchiment du bêta-carotène en présence des différents extraits d'*Anvillea radiata* et de BHT.

L'activité inhibitrice de blanchissement du β -carotène d'*Anvillea radiata* la plus élevée est enregistrée avec l'extrait MeOH ($83,56 \pm 8,23\%$) mais reste inférieure à celle déterminée par l'antioxydant standard (BHT) ($89,33 \pm 7,79\%$), suivie par celle de l'extrait d'AcEt ($65,03 \pm 7,17\%$), alors que l'extrait d'EtPe présente une faible capacité inhibitrice de blanchissement du β -carotène ($48,87 \pm 5,67\%$) (Fig. 11).

L'analyse statistique effectuée montre qu'il y a des différences significatives entre les différents extraits d'*Anvillea radiata* ($P=0,05$; $\alpha=0,05$)

Le calcul de CI_{50} nous permet de déterminer l'extrait le plus efficace dans l'inhibition de blanchissement du β -carotène. Les résultats obtenus exprimés en $\mu\text{g/ml}$ sont regroupés dans le tableau 4.

Tableau 4: CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$) de test de blanchissement du β -carotène des différents extraits d'*A. radiata*.

Extrait	MeOH	AcEt	EtPe	BHT
CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	$172,94 \pm 14,88$	$180,21 \pm 8,65$	$322,75 \pm 13,03$	$145,67 \pm 15,98$

Au vue des résultats présentés dans le tableau 4, nous constatons que l'extrait MeOH a la capacité inhibitrice la plus importante de blanchissement du β -carotène qui est de l'ordre de $172,94 \pm 14,88 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur est supérieure à celle de l'antioxydant standard BHT ($145,67 \pm 15,98 \mu\text{g/ml}$). Les autres extraits d'AcEt et d'EtPe présentent une faible activité antioxydante avec des CI_{50} égale à $180,21 \pm 8,65 \mu\text{g/ml}$ et $322,75 \pm 13,03 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Le test de blanchissement du β -carotène est connu par sa faible reproductibilité, mais nous avons réalisé ce test afin d'évaluer la capacité des différents extraits de l'espèce étudiée à inhiber la peroxydation des lipides. Ce test mesure la capacité de l'antioxydant à transférer un atome d'hydrogène vers le radical alkoxyl ($RO\cdot$) ou peroxy ($ROO\cdot$) (Gupta, 2015). Les résultats obtenus ont montré l'efficacité de l'extrait méthanolique de l'espèce investiguée à inhiber le blanchissement du β -carotène en comparaison avec les autres extraits, mais reste faible en comparaison avec le standard utilisé.

Le β -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de la qualité de ces produits (Belyagoubi, 2012 ; Oyaizu, 1986 in Saoud, 2016). Cependant, dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend le β -carotène extrêmement

sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique dans un système d'émulsion aqueuse en résultant le blanchiment du β -carotène (Belyagoubi, 2012 ; Bougatef 2009 in Saoud, 2016). La présence des antioxydants comme les polyphénols réduisent l'ampleur de la destruction du β -carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système (Belyagoubi, 2012).

Les études précédentes effectuées sur *Anvillea radiata* ont montré que l'extrait d'AcEt a une CI_{50} égale à $0,014 \pm 0,01$ mg/ ml, qui est inférieure à celle de notre extrait (Saoud, 2016). L'extrait obtenu par décoction d'*Anvillea radiata* a un pourcentage d'inhibition de blanchissement du β -carotène dépassant 84% (Telli, 2017).

Le pouvoir antioxydant des différents extraits dépend de la réactivité, de la concentration et de la localisation des différents métabolites aux interphases (Apak *et al.*, 2007 in Telli, 2017).

Ces résultats montrent la richesse des différents extraits d'*Anvillea radiata* investiguée en molécules ayant la capacité à inhiber les agents oxydants par différents mécanismes.

II.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

Deux souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits d'*Anvillea radiata* en utilisant deux méthodes : une qualitative par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition en mm (méthode de diffusion sur milieu gélosé) et l'autre quantitative par la recherche de la plus faible concentration (CMI: concentration minimale inhibitrice), des extraits qui inhibent la croissance microbienne (méthode de micro-dilution sur milieu liquide).

II.3.2.1. Par diffusion sur milieu gélosé

La méthode de diffusion des disques a permis de mettre en évidence les pouvoir antimicrobiens des extraits de la plante étudiée sur les souches bactériennes choisies se traduit par l'apparition des zones d'inhibitions.

Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) de la croissance de *S. aureus* et *E. coli* testées par différents extraits d'*A. radiata*.

<i>S. aureus</i>	Dilution	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	DMSO
	Extrait							
	MeOH	12,17±2,47	8,17±1,15	7,41±1,68	6,28±0,10	6,02±0,03	6±0	6
	AcEt	11,49±0,91	7,02±1,65	6,35±0,61	6±0	6±0	6±0	6
	EtPe	6,64±0,35	7,66±2,20	6,46±0,76	6±0	6±0	6±0	6
<i>E. coli</i>	MeOH	6	6	6	6	6	6	6
	AcEt	6	6	6	6	6	6	6
	EtPe	6	6	6	6	6	6	6

Les résultats obtenus, illustrés dans le tableau 5, montrent que tous les extraits présentent des capacités inhibitrices de la croissance bactérienne plus au moins faible sur la souche *Staphylococcus aureus*.

Il apparaît que *S. aureus* est sensible à l'action de l'extrait méthanolique (12,17±2,47 mm) et l'extrait d'AcEt (11,49±0,91 mm) d'*A. radiata*, alors que l'extrait d'EtPe n'a aucune action sur cette souche (6,64±0,35 mm).

Selon les résultats présentés dans le tableau 5, nous constatons que la deuxième souche utilisée, *E. coli* résiste l'action de tous les extraits d'*Anvillea radiata* (6 mm).

Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Bouchouka (2016) où il a montré que l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* présente une activité antibactérienne moyenne sur *S. aureus* avec un diamètre de 12,94 ±0,35 mm. Ce qui est en bonne corrélation positive avec leurs teneurs en phénols totaux. De plus, nos résultats viennent consolider ceux rapportés dans la littérature que les terpénoïdes et les composés phénoliques montrent la plus grande activité antibactérienne et que la souche *S. aureus* est plus particulièrement sensible aux composés phénoliques (Cowan, 1999).

Aussi, le travail réalisé par Sabrou et Houari (2018) a montré la sensibilité de *S. aureus* à l'action des extraits méthanolique (19 ± 3 mm) et d'AcEt ($13,5\pm 0,71$ mm) d'*A. radiata*, mais ils sont presque inactifs sur *E. coli*.

Beddou et ses collaborateurs (2014) ont trouvé le même diamètre d'inhibition avec l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. radiata* à la concentration de 1 mg/disque vis-à-vis de la souche *S. aureus*. D'autre part, ces auteurs ont constaté l'absence de tout effet des différents extraits et de leurs fractions de *A. radiata* sur les bactéries à Gram (-). Une autre étude faite par Hamada et Ladjel (2015) a donné la même observation, ce qui confirme nos résultats. Des résultats quasi similaires ont été trouvés avec *A. radiata* du Maroc (Bammou *et al.*, 2015).

Les résultats des antibiotiques standards utilisés dans les mêmes conditions montrent que la plus forte activité a été obtenue par l'acide nalidixique et l'amikacine avec des diamètres des zones d'inhibition de croissance de 27,05 et 26,79 mm respectivement, ceux-ci contre *E. coli*. Aussi, l'inactivité de DMSO (témoin négatif) utilisé dans la solubilisation des résidus des extraits est testé. Où ses résultats n'ont révélé aucune activité inhibitrice.

Il est clair que l'activité antibactérienne de nos extraits reste inférieure à celle de l'antibiotique de référence: l'enrofloxacin. Cependant, ces extraits exercent une activité antibactérienne dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs mais des extraits bruts (Sanogo *et al.*, 2006; Werner *et al.*, 1998).

Les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis les microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999). Ils sont même des puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase (Djenidi, 2012). Ces molécules sont également responsables de l'inhibition des microbes résistants aux antibiotiques (Boutalbi, 2014).

Chabot (1992) a rapporté que les composés les moins polaires comme les flavonoïdes manquant le groupement hydroxyle sur leur cycle B sont plus actifs vis-à-vis des microorganismes que ceux portant le groupe OH. Par contre, Mori *et al.* (1987) ont trouvé que les flavonoïdes trihydroxylés 3',4',5' sur le cycle B et substitués 3-OH sont nécessaires pour l'activité antimicrobienne.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram positif par rapport aux Gram négatif (Tadeg *et al.*, 2005).

Cette résistance des bactéries Gram négatifs peut être due à la différence dans la membrane cellulaire des bactéries de ce groupe en effet la membrane externe de ce type de bactérie rend la surface externe très hydrophilique alors que la terminaison de l'acide téchoïque de la membrane externe par une partie lipidique chez les bactéries Gram positif peut faciliter la pénétration des composés hydrophobes (Boussada *et al.*, 2008).

Nos résultats sont en accord aussi avec ceux obtenus par Hamada et Ladjel (2015) qui ont démontré que l'extrait méthanolique était efficace contre les *S. aureus*. Mais une faible activité voire une résistance absolue a été observée contre les souches à Gram-négative (*P. aeruginosa* et *E. coli*). Ces légères différences peuvent expliquer la variation de l'activité antibactérienne d'un germe à l'autre.

Plusieurs études ont rapporté aussi que les extraits aqueux de différentes plantes de la famille des astéracées ne présentent aucune activité antibactérienne, alors que les extraits organiques et les huiles essentielles de ces plantes inhibent très significativement la croissance des souches testées (Candan *et al.*, 2003 ; Sokmen *et al.*, 2004 in Saoud, 2016) . Selon Candan et ses collaborateurs (2003), les substances hydrosolubles exercent un effet plus faible comparé à celui des substances non hydrosolubles. Cela réfère probablement à la capacité des molécules liposolubles de s'intercaler dans les membranes des cellules bactériennes et les endommager.

En outre, Qadah (2013) a révélé que l'extrait méthanolique d'*A. radiata* présente une activité inhibitrice de la croissance bactérienne sur *S. aureus* et *E. coli* en comparaison avec celle de l'extrait chloroformique. Beddou (2015), qui a étudié l'activité antibactérienne de différentes parties d'*A. radiata*, a trouvé que l'extrait AE des feuilles est le plus efficace contre tous les bactéries gram positifs en particulier *S. aureus*, même mieux que l'extrait chloroformique. Cependant, aucune activité inhibitrice de ces extraits contre *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Une inhibition de même sens a été détectée par Telli (2017), où elle a constaté que les *P. aeruginosa* suivi par les *S. aureus* sont les souches les plus sensibles à tous les extraits investigués d'*A. radiata* en comparaison avec *E. coli*.

En se basant sur toutes ces études, on peut dire que cette méthode est discutable et la lecture des boîtes reste subjective. L'un des raisons principales de ces différences est le détail de manipulation, surtout la quantité des extraits déposée sur les disques. Cela à part que le film bactérien soit très faible et à peine visible. En effet, les souches utilisées se sont révélées ne pas être extrêmement pures, quelque fois contaminées et certaines ne poussaient pas correctement lors de l'incubation à 37°C.

Le diamètre de zone d'inhibition diffère d'une souche bactérienne à une autre et d'un extrait à un autre. Ces différences peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que les facteurs inhérents ; conditions ambiantes, facteurs écologiques, variations saisonnières, méthodes d'extraction, préparation d'extrait, sensibilité des bactéries. De même, l'effet du solvant à extraire les compositions chimiques (Adouane, 2016).

II.3.2.2. Par micro-dilution sur milieu liquide (détermination de CMI)

Après la mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos extraits par la méthode des disques, nous avons essayé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMI relatives aux extraits les plus actifs sur les souches testées. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) (en mg/ml) des différents extraits d'*A. radiata*.

Extrait/ dilution	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
MeOH	16	8	4	2	1	0,5
AcEt	2,67	1,33	0,67	0,33	0,16	0,08
EtPe	1,8	0,9	0,45	0,22	0,11	0,05

Au vu et ont combinisant entre les résultats présenté dans le tableau 6 et les photos 3 et 4 nous constatons que les valeurs des CMI des extraits MeOH, AcEt et EtPe sont : 0,5; 0,33et 0,9 mg/ml respectivement pour *Escherichia coli*, alors qu'elles sont égales à 4, 0,33 et 1,8 mg/ml respectivement pour *Staphylococcus aureus*.

Les valeurs des CMI des trois extraits sont comprises entre 0.22 et 16 mg/ml, l'extrait d'AcEt a la même CMI pour les deux souches.

La croissance microbienne est déterminée en observant le changement de la couleur d'INT (rouge rosée de formazane quand il y a croissance et une solution claire quand il n'y a pas de croissance). La CMI correspond à la plus faible concentration en agent actif capable d'inhiber totalement la croissance d'un microorganisme donné (Telli, 2017).

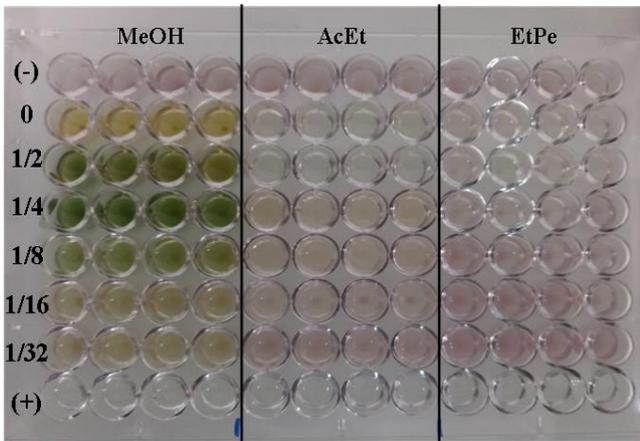


Photo 3 : Inhibition de la croissance d'*Escherichia coli* par différentes concentrations des extraits de MeOH, AcEt et EtPe d'*A. radiata*.

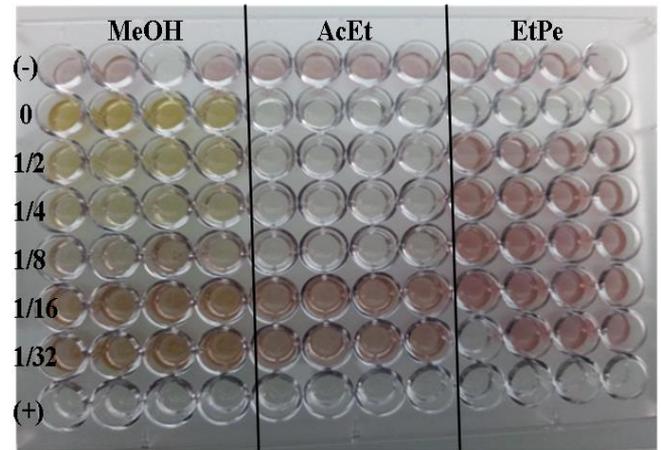


Photo 4: Inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par différentes concentrations des extraits de MeOH, AcEt et EtPe d'*A. radiata*.

Une interprétation globale des résultats montre que la majorité des valeurs des CMI concordent d'une manière générale avec celles des diamètres d'inhibition ; les extraits ayant induit une importante zone d'inhibition présentent des petites CMI sur les souches correspondantes. Il est à noter aussi que l'extrait MeOH est celui qui a enregistré l'activité excellente contre *E. coli* et *S. aureus*. L'extrait AE vient en deuxième position concernant son action sur les deux souches testées, et une faible activité a été remarquée pour l'extrait EtPe contre les deux souches testées.

Les résultats obtenus par Njume *et al.* (2011) et Sharief *et al.* (2017) ont montré que les extraits obtenus par les solvants organiques (méthanol, éthanol et acétate) ont une activité inhibitrice de la croissance microbienne plus importante que celle de l'infusion.

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes et les triterpénoïdes (Rojas *et al.*, 1992).

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan, 1999). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert, 1991).

Le mécanisme responsable à la toxicité des polyphénols sur les microorganismes inclue l'inhibition des enzymes par les composés oxydés, probablement à travers l'interaction des polyphénols, en particulier les quinones et les tannins, avec les protéines enzymatiques en se fixant sur leurs sites actifs, induisant l'inhibition de son l'activité (Cowan, 1999). En outre, Les flavonoïdes ont montré une grande activité antimicrobienne, la quercétine et d'autres composés réagissent essentiellement par l'inhibition de l'enzyme ADN-gyrase (Pereira, 2007). D'autres parts, les composés phénoliques peuvent aussi se lier aux molécules substrat rendant ces dernières moins accessibles aux enzymes (Al-Zoreky, 2009).

Selon Cowan (1999) Les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes.

Les substances qui peuvent inhiber la croissance des microbes et soient peu toxiques pour les cellules hôtes, sont considérées comme des candidates pour le développement des nouveaux médicaments antimicrobiens (Boulekbache *et al.*, 2013)

Des inhibiteurs naturels, extraits de nombreuses plantes, pour des microorganismes pathogènes ont été explorés, parmi lesquels on trouve les polyphénols qui ont reçu beaucoup d'attention ces dernières années. L'activité antimicrobienne des polyphénols, des tannins et des flavonoides est bien documenté (Al-Zoreky, 2009). En outre, les activités antimicrobiennes de ces extraits bruts sont difficiles à corrélés à un composé spécifique en raison de leur complexité et leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs ont signalé qu'il existe une relation étroite entre la composition chimique en composés, les plus abondants, et l'activité antimicrobienne (Djenane *et al.*, 2012).

L'effet excellent de l'extrait MeOH peut justifier par son richesse en tanins condensés (proanthocyanidines), analysés dans les tests précédemment. Ces molécules biologiquement actives, douées d'activités antibactériennes remarquables : *Klebsiella pneumonia*,

Plesiomonas shigelloides, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*. etc.) (Igor, 2002) .

En effet, L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie, ou addition) de différents composés. L'effet antibactérien de l'extrait AE peut être attribué aux acides gras et au phyto-estrogène, ou aux deux s'il y a synergie entre leur activité antibactérienne, par perforation de la membrane bactérienne et le flux rapide des composants cytosoliques (Ben Abbas, 2011).

De plus, certains phénols supérieurs comme l'acide ellagique et l'acide gallique pourrait être responsable de son activité antimicrobienne (Mahboub *et al.*, 2012).

En effet, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries tel que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Babayi *et al.*, 2004). Les bactéries testées sont de Gram+ et Gram-, ce qui indique que les flavonoïdes n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne. D'après un travail déjà réalisé dans ce sens, ces composés sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique (Adouane, 2016).

L'enveloppe des bactéries à Gram positif ne possède pas de récepteurs spécifiques ou de perméases facilitant ainsi la pénétration des biocides dans les cellules. Alors que la nature de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram négatif peut jouer un rôle de barrière vis-à-vis des agents chimiques.

L'étude réalisée par Beddou (2015) a montré que les extraits hexaniques des différentes parties (feuilles, fleurs et tiges) d'*Anvillea radiata* n'ont aucune activité inhibitrice sur la croissance des souches testées. Par contre, les extraits d'AE et de chloroforme des feuilles d'*Anvillea radiata* ont enregistré la même valeur de CMI (312 µg/ml) sur *S. aureus*.

Parallèlement, Hamada et Ladjel (2015) ont obtenu une CMI de l'extrait MéOH d'*Anvillea radiata* égale à 150 µg/ml contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*, mais une résistance absolue est constatée pour *E. coli*. De même, Telli (2017) a trouvé que l'extrait de l'hexane a une CMI égale à 3.03 µg/ml pour *E. coli*.

Bammou *et al.* (2015) ont trouvé que l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* présente des valeurs de CMI allant de 3,33 mg/ml à 6,66 mg/ml.

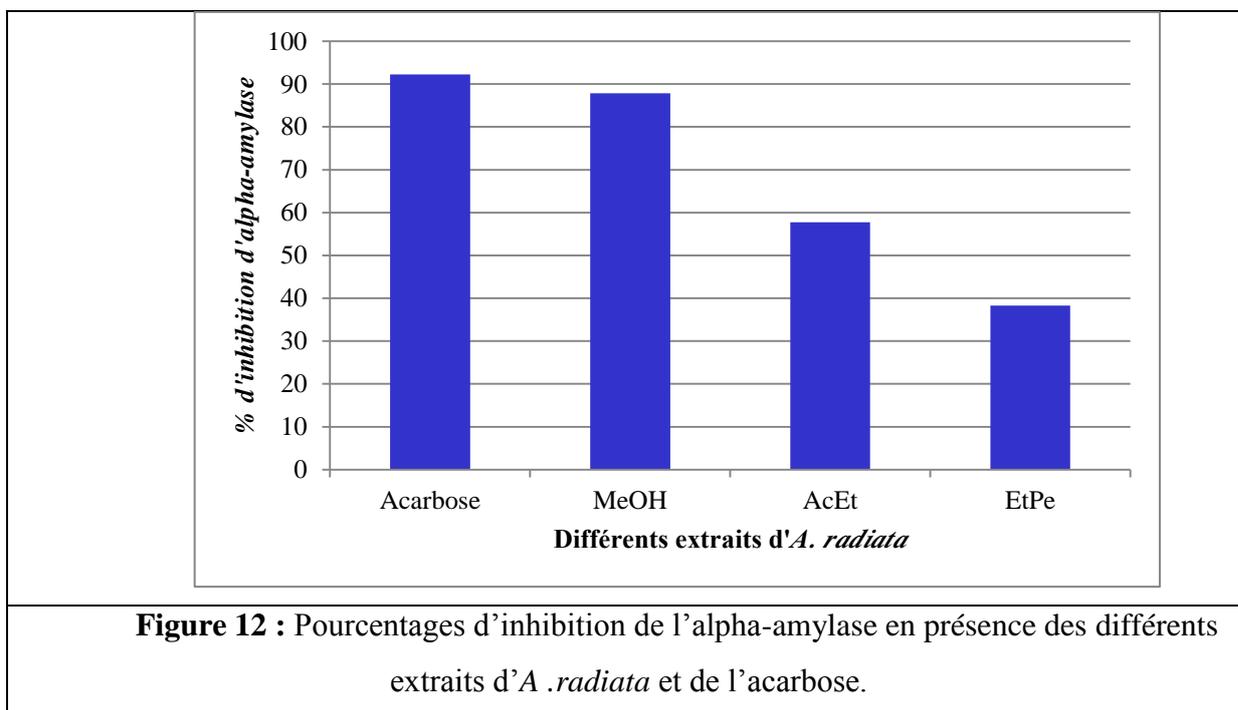
En fait, cet effet marqué sur *Escherichia coli* justifie l'usage traditionnel de la plante pour le traitement de la dysenterie dont elle est responsable (Bammou *et al.*, 2015).

Les résultats obtenus nous ont permis également de mettre en évidence les propriétés antibactériennes des extraits d'*A. radiata*, qui révèlent la présence de principes actifs antibactériens dans la partie aérienne ce qui justifie certains usages ethnopharmacologiques, surtout pour les troubles gastro-entériques, les maladies infectieuses et pulmonaires induits par ces souches. Mais, il serait par conséquent intéressant d'entreprendre des études de toxicité des extraits purifiés de cette plante afin de déterminer les doses thérapeutiques et les doses létales car les remèdes traditionnels souffrent beaucoup du problème de dosage (Qadah, 2013 ; Beddou, 2015).

D'après nos résultats, on déduit que la méthode de préparation de l'extrait et la polarité de solvant ont une influence sur la nature des molécules extraites et par conséquent sur leurs activités biologiques.

II.3.3. Inhibition de l'alpha amylase

L'action inhibitrice des différents extraits d'*Anvillea radiata* sur l'activité de l' α -amylase est présentée dans la figure 12.



Au vu des résultats présentés dans la figure 12, il apparaît clairement que l'extrait MeOH présente l'effet inhibiteur le plus remarquable avec un pourcentage d'inhibition égale à $87,83 \pm 9,33\%$, suivie par celui de l'extrait d'AcEt qui a un effet inhibiteur moyenne

(57,76±6,11%). L'extrait d'EtPe présente l'effet inhibitrice la plus faible par rapport aux autres extraits (38,27 ±4,37%).

L'acarbose est utilisé comme inhibiteur standard de l' α -amylase, les résultats obtenus prouvent que cette molécule fait inhibée 92,28±10,1% de l' α -amylase (figure 12).

Le tableau 7 regroupe les valeurs de CI_{50} des différents extraits dont 50% d'inhibition ont abouti.

Tableau 7: CI_{50} d'inhibition de l' α -amylase par les différents extraits d'*A. radiata* et l'acarbose.

Extrait	MeOH	AcEt	EtPe	Acarbose
CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	76,31±5,60	198,08±12,85	384,80±78,76	87,75±9,33

La plus faible valeur de CI_{50} d'*A. radiata* est enregistrée par l'extrait MeOH qui est égale à 76,31±5,60 $\mu\text{g/ml}$ qui est inférieure à celle de l'acarbose (87,75±9,33 $\mu\text{g/ml}$). Les autres extraits (AcEt et EtPe) ont des valeurs de CI_{50} plus élevées à celles de l'extrait méthanolique et de l'acarbose qui sont de l'ordre de 198,08±12,85 $\mu\text{g/ml}$ et 384,80±78,76 $\mu\text{g/ml}$ respectivement. Ces résultats montrent une activité inhibitrice modérée de ces deux extraits d'*Anvillea radiata*. A l'opposé

Les analyses statistiques montrent qu'il ya des différences significatives entre les différents extrait d'*Anvillea radiata* ($P<0,05$; $\alpha=0,05$)

Plusieurs études ont montrés que les extraits des plantes médicinales et en particuliers les extraits aqueux peuvent améliorer le taux de la glycémie, un des mécanismes possibles et l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase par déférents métabolites (Telli, 2017).

De nombreux principes actifs des plantes, appartenants aux différentes calasses métabolites (composés phénoliques, alcaloïdes, polysaccharides, terpénoïdes, peptides...etc), ont démontré plus actives contre l'hyperglycémie (Sales *et al.*, 2012).

Les composés phénoliques tels que les tanins, les acides phénols et les flavonoïdes ont la capacité d'inhiber l' α -amylase. Les tanins sont des puissants agents chélateurs des métaux. Aussi, ils peuvent former des complexes insolubles avec les protéines ce qui conduit à leur précipitation (Makkar *et al.*, 1987 ; Dawra *et al.*, 1988 ; Derbel et Ghedira, 2005). Ces

molécules ont un potentiel effet inhibiteur sur l' α -amylase. En effet, l'étude réalisée par Gonçalves *et al.* (2011) a prouvé que les tanins condensés ont la capacité à inhiber l' α -amylase et que cette capacité est en relation étroite avec le degré de polymérisation des tanins.

Les flavonoïdes constituent la classe la plus diversifiée chimiquement et la plus active biologiquement des métabolites secondaires avec plus de 4000 molécules identifiées (Nijveldt *et al.*, 2001; Treutter, 2006). De nombreuses études ont présenté l'effet inhibiteur de ces molécules sur l' α -amylase. La lutéoline, la myricétine et la quercétine sont des puissants inhibiteurs de l' α -amylase avec des valeurs de CI50 inférieures à 500 μ M (Tadera *et al.*, 2006). Le trans-chalcone (1,3-diphényl-2-propen-1-one) est un inhibiteur compétitif de l' α -amylase porcine avec K_i de 48 μ M (Najafian *et al.*, 2011). Lo Piparo *et al.* (2008) ont montré que les flavonols (quercétine) et les flavones (lutéoline) ont présenté une activité inhibitrice de l' α -amylase humaine qui dépend, d'un côté à la liaison hydrogène établie entre le groupement hydroxyle des flavonols et flavones et les résidus catalytiques du site actif de l'enzyme; de l'autre côté à la formation d'un système π conjugué qui stabilise l'interaction avec le site actif.

Il n'y a pas beaucoup d'études qui ont été établies sur l'activité inhibitrice de l' α -amylase des extraits de cette espèce ni sur le principe actif qui ont cette activité. Selon Telli (2017), la présence des différents métabolites (protéines, sucres, polyphénols, acides phénols, tanins condensés et hydrolysables) dans leur extraits ainsi que la corrélation existant entre ces paramètres nous permettent de dire ces métabolites participent dans l'inhibition de l' α -amylase.

Ces différentes molécules, qui sont présents dans nos extraits, sont responsables de l'inhibition de l' α -amylase réduisant ainsi la dégradation de l'amidon et diminuant l'absorption du glucose et par conséquent l'élévation de la glycémie postprandiale. Il est possible que ces composés participent en synergie dans l'inhibition de l' α -amylase. Ces résultats justifient l'utilisation de cette espèce comme une plante hypoglycémiante. Leur richesse en différents métabolites les rend prometteurs dans la découverte des nouvelles molécules antidiabétiques.

(Telli, 2017) l'étude de la partie aérienne de cete espèce montre que les extraits aqueux préparés par décoction et infusion présentent les effets inhibiteurs les plus remarquables avec des pourcentages d'inhibition de $88,89 \pm 9,06\%$ et $76,98 \pm 7,23\%$ respectivement à une concentration de l'extrait égale à 4000 μ g/ml, et l'acarbose utilisé

comme inhibiteur standard de l' α -amylase dans cette étude fait inhiber 100% l' α -amylase à une concentration inférieure à 250 $\mu\text{g/ml}$.

Kandouli (2018) a signalé que l'acarbose utilisé comme inhibiteur standard de l' α -amylase fait inhiber > 99 % l' α -amylase). il est à noter qu'une inhibition plus forte de l'activité de l' α -amylase a été rapportée pour l'extrait d'acétate d'éthyle (89,3 \pm 3,2%) et de butanol (55,2 \pm 1,2%) d'*A. radiata* contre les extraits d'EtPe de feuilles de *Phyllostachys edulis* et les auteurs ont conclu que les niveaux élevés de flavonoïdes contenus dans les fractions polaires peuvent agir en retardant la digestion de l'enzyme carbohydre et en interagissant directement avec l'amidon (Yang *et al.* 2014 in Kandouli, 2018).

Les résultats obtenus par Telli (2017) ont montré que les valeurs de CI_{50} de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* sont entre 801,43 \pm 73,33 $\mu\text{g/ml}$ et 3148,25 \pm 322,22 $\mu\text{g/ml}$ et celle de l'acarbose est 78,95 \pm 6,28 $\mu\text{g/ml}$.

La plupart des études sur les extraits des plantes ou les phytoconstituants qui peuvent contribuer au traitement du diabète ont focalisé au l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase, qui catalysent la digestion des glucides en glucose (Sales *et al.*, 2012 ; Etxeberria *et al.*, 2012 in Kandouli, 2018). Plusieurs membres appartenant à la famille des Asteraceae ont été proposés comme agents antidiabétiques fonctionnels (Sidhu et Sharma., 2013 ; Silva *et al.*, 2016), une propriétés associées au potentiel inhibiteur enzymatique de leurs de leurs constituants polyphénols, on particuliers les flavonoïdes (Silva *et al.*, 2016 in Kandouli, 2018).

Conclusion générale

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Dans ce travail, on s'est intéressé à l'analyse phytochimique et à l'étude des activités biologiques (antioxydante, antibactérienne et anti alpha-amylase) des différents extraits à polarité différentes de la partie aérienne d'*Anvillea radiata* Coss & Dur, de la famille Asteraceae, endémique du Sahara septentrional largement utilisées dans la médecine traditionnelle. Elle est parmi les espèces les moins étudiées tout en prenant en considération leur caractère endémique, récoltée dans la région d'Oued Nechou et de Sahara de Metlili-Ghardaïa. Ce travail est une contribution à une meilleure connaissance de cette espèce végétale.

L'extraction des principes actifs d'*Anvillea radiata* est effectuée par macération à froid en utilisant trois solvants de différentes polarités (méthanol, acétate d'éthyle et éther de pétrole).

Dans la première étape, un criblage phytochimique des différentes familles de métabolites a été effectué. Les résultats obtenus ont révélé que cette plante possède un éventail de substances potentiellement bioactives susceptibles d'être exploités à plusieurs échelles (pharmaceutique, alimentaire, cosmétique... etc), à savoir : les composés phénoliques (tanins, les flavonoïdes (flavonones), les catéchols, coumarines ...etc), terpéniques (stéroïdes et saponosides) avec des intensités variables.

Dans une deuxième étape, les analyses quantitatives des composés phénoliques testés montrent que l'extrait méthanolique accuse les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tanins condensés avec des taux de $81,38 \pm 19,16$ mg EAG/g, $16,37 \pm 0,89$ mg ER/g, $4542,00 \pm 8,49$ μ g EAC/g et $33,97 \pm 1,06$ mg EC/g de matière végétale sèche respectivement. Le second est l'extrait d'acétate d'éthyle comme meilleur extracteur, tandis que les plus faibles teneurs en ces différents composés phénoliques sont enregistrés pour l'extrait d'éther de pétrole et l'absence des tanins condensés dans cet extrait. La richesse de cette espèce en principaux métabolites secondaires lui confère des activités biologiques très intéressantes.

Tous les extraits ont révélé des réponses inhibitrices à différentes méthodes d'activité anti-oxydante utilisée (à piéger radical cation ABTS⁺, à réduire le fer et à protéger l'oxydation du β -carotène). L'intensité de cette activité varie en fonction de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction. L'extrait méthanolique a exhibé l'activité anti-oxydante la

plus importante exprimée en $\mu\text{M ET/g}$ pour les trois tests utilisés (ABTS, FRAP et blanchissement du β -carotène).

Les résultats de l'activité anti-oxydante exprimés en CI_{50} montre que l'extrait méthanolique d'*Anvillea radiata* présente une excellente capacité à inhiber le radical cation $\text{ABTS}^{*\cdot}$ $153,48 \pm 10,02 \mu\text{g/ml}$, à réduire le fer ($\text{CI}_{50} = 95,88 \pm 9,13 \mu\text{g/ml}$) et à inhiber le blanchissement du β -carotène ($\text{CI}_{50} = 172,94 \pm 14,88 \mu\text{g/ml}$). Ces valeurs sont nettement inférieures ou comparables à celles des antioxydants standards utilisés.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de ces différents extraits a également montré l'efficacité de ces extraits à inhiber la croissance bactérienne des deux souches testées. L'extrait méthanolique a révélé la bonne activité par la méthode de diffusion sur milieu gélosé avec une zone d'inhibition de $12,17 \pm 2,47 \text{ mm}$. La méthode de microdilution permet de montrer que l'extrait d'acétate d'éthyle a la forte activité vis-à-vis de *S. aureus* et *E. coli* avec des CMI de $0,33 \text{ mg/ml}$.

L'évaluation de l'activité antidiabétique est effectuée par la mesure de la capacité inhibitrice de l' α amylase. Les résultats obtenus ont révélé que l'extrait méthanolique a le pouvoir inhibiteur le plus important avec CI_{50} égale à $76,31 \pm 5,60 \mu\text{g/ml}$ qui est inférieure à celle de l'acarbose ($87,75 \pm 9,33 \mu\text{g/ml}$). Ces résultats justifient l'utilisation de cette espèce comme une plante hypoglycémiant. Leur richesse en différent métabolite le rend prometteur dans la découverte des nouvelles molécules antidiabétiques.

Finalement, les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel de la plante étudiée et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de certaines maladies inflammatoires et infectieuses et le diabète.

L'ensemble de ces résultats ne constitue qu'une première étape dans la recherche des sources naturelles des substances biologiquement actives. Des études approfondies sont nécessaires afin d'isoler et d'identifier les molécules responsables à ces activités. Cela permettrait de préparer des produits pharmaceutiques de grand intérêt thérapeutique.

Références
bibliographiques

A

Abarca-Vargas R., Peña Malacara C. F., Petricevich V. L. Characterization of chemical compounds with antioxidant and cytotoxic activities in bougainvillea x buttiana holttum and standl, (Var. rose) extracts. *Antioxidants*. 2016;5(4, article no. 45) doi: 10.3390/antiox5040045.

Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A, Bouayoune T. Influence de la durée et de la technique d'extraction sur le rendement et la qualité des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica manetti*). *Annales de la recherche forestière au Maroc* ISSN 0483-8009 CODEN AFRMA. : (2001), 34, 110- 118

Adouane, S. (2016). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de Magister. Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie. pp 210

Alaoui Boukhris M, Destandau E, El Hakmaoui A, El Rhaffari L, Elfakir C, (2016). A dereplication strategy for the identification of new phenolic compounds from *Anvillea radiata* (Coss. & Durieu), *Académie des sciences*. Published by Elsevier Masson SAS numéro 9 Vol 19:1124-1132

Al-Zoreky N.S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134:244–248.

Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik, S.E, Bektaşoğlu B, Berker K. I. & Özyurt D, (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12: 1496-1547

Aravodis E, (2005). Antioxidante potential of african medicinal plants. *Journal of biotechnologie*, vol 4: 128-133.

ASM. (2005). American Society for Microbiology. www.asm.org/

Atti I, (2014). Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout », mémoire du master académique, Université KASDI MERBAH Ouargla, Algérie, 61p.

B

Babayi H, Kolo I, Okogum J.I. et Ijah, U. J. J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogen microorganisms. *Biokemistri*. 16(2) : 102-105.

Baba Ouyoub F, (2017). Evaluation des activités biologiques de quelques extraits de *Zizyphus lotus* de la région de Ghardaïa. Mémoire de master. Université de Ghardaïa, Algérie. pp 46

Bahorun T, (1997) Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*, 83-94.

Bammou M, Sellam K, El Rhaffari L, Bouhlali E.D.T, Daoudi A, Ibijbijen J. & Nassiri L, (2015). Bioactivity of *Anvillea radiata* Coss & Dur. Collected from the southeast of Morocco. *European Scientific Journal*, vol. 11, N° 21:

Beddou, F., (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie. pp 143

Belyagoubi B. Nabila, (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.thèse de doctorat. Université de Telemcene.p51-52.

Ben Abbes F, (2011). Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L. ». Mémoire De Magister. Université Ferhat Abbas de Setif, Algérie. pp 79.

Benkhnigue O, Hachi M, Fadli M, Douira A, Zidane L. (2016). Catalogue of the medicinal plants used in the treatment of urinary infections in the area of Al-Haouz Rhamna (central Morocco). *European Journal of Botany Plant Sciences and Phytology*, 3(1), 1-49.

Bennamara F.Z, (2017) .StreSS oxydant Et pathologies humaines,thèse du Doctorat en Pharmacie

Benzahi K, (2001). Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon Dactylon* – L « Chiendent ». Mémoire de Magister. Université d'Ouargla, Algérie. pp 120.

Benzie I.F.F., Strain J.I. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.

Bonner, (1974). Thermodynamic properties of some concentrated plumer solutions, Vol 12, pp 51-73.

Bouchouka E, (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat à l'université Badji Mokhtar- Annaba, 114p.

Bougatef A, Hajji M, Lassoued I, Triki-Ellouz Y, Nasri M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food. Chem*, 114: 1198-1205.

Boulekbache-Makhlouf L, Slimani S, et Madani K, (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 41: 85– 89.

Boulkroun N, (2012). Etude de l'activité antioxydante d'une plante médicinale « *Matricaria pubescens* » : effets de la durée et du solvant d'extraction. Mémoire de Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia, Algérie. pp 54

Bourkhiss M, Hnach M, Lakhlifi T, Boughdad A, Farah A, Satrani B. Effet de l'Age et du Stade Végétatif sur la Teneur et la Composition Chimique des Huiles Essentielles de *Thuya* de Berbere. *Les technologies de laboratoire* : 2011, 6(23), 64-68

Boussada O, Ammar N, Saidana D, Chriaa J, Chraif I, Daami M, Helal A. N., Mighri Z. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of volatile components from capitula and aerial parts. *Microbial Research* 163: 87-95.

C

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

Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sökmen A, and Akpulat H.A (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 215-220.

Carocho M. & Ferreira I.C.F.R., 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51: 15-25.

Chabot, S., Bel-Rhlid, R., Chênevert, R. et Piché, Y. (1992). Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, by the activity of structurally specific flavono ; compounds under CO₂- enriched conditions. *New Phytol.* 122 : 461-467.

Chaouch N, (2001). Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah d'Ouargla, Algérie. pp 44.

Cehma A, (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Dar Elhouda. Aïn Mli'la, Algérie. 18 P.

Christopher R, Nyandoro S.S, Chacha M, De Koning C.B. (2014). A new cinnamoylglycotlavonoid, antimycobacterial and antioxidant constituents from *Heritiera littoralis* leaf extracts. *Natural Product Research*, 28(6): 351-358.

Ciulei J, (1982) Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Ministry of Chemical Industry. Romania. 67 p.

Cowan M, (1999). Plante products antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, vol 12: 564-582.

Crete P, (1965). Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2, 429 P.

D

Daoudi A, Sabiri M, Bammou M, Zair T, Ibijbijen J, & Nassiri L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences*, volume 87(1) : 8094-8104.

Dendougui H, M. Jay, F. Benayache, S. Benayache (2006); Flavonoids from *Anvillea radiata* Coss. & Dur. (Asteraceae). *Biochem. Systematics and Ecol.*, 34: 718- 720.

Djellouli M, Moussaoui H, Benmehdi L, Ziane A, Belabbes M, (2013). Ethnopharmacological study and Phytochemical Screening of Three Plants (Asterasea Family) From the Region of South West Algeria. *Asian J. Nat. & Appl Sci.*, 2: 159-165.

Djenane D, Yangüela J, Derriche F, Bouarab L, Roncales P, (2012) .Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Revue « Nature et Technologie »*, (07). 53 – 61.

Djeridane A, Yousfi M, Brunel J. M. and Stocker P, (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants, *Food and Chemical Toxicology*, 48(10): 2599-2606.

Djenidi, H. (2012). Etude du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.), essais de germination, extraction des polyphénols et activité antimicrobienne. Mémoire De Magister. Université Mohamed Kheider de Biskra, Algérie. pp 80.

E

El Hassany B, El Hanbali F, Akssira M, Mellouki F, Haidour A, Barrero A. F, (2004). Germacranolides from *Anvillea radiata*, *Fitoterapia* 75: 573– 576

El Hanbali F, El Hakmaoui F, ElRhaffari L, Akssira M,(2007). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Anvillea radiata* Coss Dur, natural product communication vol 2 n5 595-597.

F

Favier A, (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, pp 108-115.

Fakchich J, Elachouri M, (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of Ethnopharmacology*. 154, :76-87.

Fouché J. G., Marquet A. et Hambuckers A (2000). *Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament*. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman, 89-100.

G

Ghedadba N, (2015). Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* de Noé ex Coss. *Phytothérapie* : vol.13 ; 118-129

Gonçalves R., Mateus N. & Freitas V., 2011. Inhibition of α -amylase activity by condensed tannins. *Food Chemistry*, 125: 665-672.

Gupta D, (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *IJPSR*, 6(2): 546-566.

Gurib-Fakim A., (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27: 1 - 93.

H

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C., CHaPelle J.P. Le stress oxydant, *Rev Med Liege* 2007; 62 : volume 10 : Pr. J.P. Chapelle, Service de Biologie clinique, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique. pp 628-638

Halimi, A. K., (1997). دليل النباتات الطبية في الجزائر . وزارة الفلاحة والصيد البحري

Hamada D, et Ladjel S, (2015). Chemical composition, in-vitro anti-microbial and antioxidant activities of the methanolic extract of *Anvillea radiata* Asteraceae. *RJPBCS* 6 (2) : 1367-1373

Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. 3th edition. Chapman and Hall, London. 203-214.

Hayouni E, Abedrabba M, Bouix M, and Hamdi M. (2007). The Effect of Solvents and Extraction Method on the Phenolic Compounds Contents and Biological Activities in Vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. Fruit Extract. *Journal of Food Chemistry*, 105, 1126-1134.

Huang D, Ou B. & Prior R.L, (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1841-1856.

I

Igor Passi, L. B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). Thèse de Pharmacie. Université de Bamako, Mali. P 12

Iloki-Assanga S.B, Lewis-Iuján L.M, Lara-Espinoza, C.L, Gil-Salido, A.A, Fernandez Angulo D, Rubio-Pino J.L. & Haines D.D, (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceros* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Res. Notes*, 8: 396.

IUCN (Centre for Mediterranean Cooperation). (2005). A guide to medicinal plants in north Africa. Monographie. Málaga, Spain. P 35-36

J

Jaitak V, Sharma K, Kalia K, Kumar N, Singh H. P, Kaul V. K. et Singh B, (2010). Antioxidant activity of *Potentilla fulgens* : An alpine plant of western Himalaya. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 : 142-147.

K

Kablan B.J, Adiko, M. et Abrogua, D.P. (2008). Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en cotes d'Ivoire. *Pharmacognosie*. 6 : 282-288

Kandouli C, (2018). Etude des propriétés antidiabétiques, antioxydantes et antiinflammatoires des extraits hydrosolubles d'*Anvillea radiata* Coss. & Dur. sur le diabète de type 2 expérimental induit par le régime (high fat) chez la souris C57/BL6J. thèse de doctorat p196.

Kang D.G, Yun C.K, Lee H.S, (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. *J of Ethnopharmacology*. 87: 231-236.

Koleckar V., Kubikova K., Rehakova Z., Kuca K., Jun D., Jahodar L. & Opletal L., 2008. Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. *Mini-Reviews in Medicinal chemistry*, 8: 436-447.

Kone M., Bleyere N.M., Yapo A.P., Vangah M.O. & Ehile E.E., 2009. Evaluation de la toxicité d'un extrait aqueux de *Sacoglottis gabonensis*(Baille) urban (Humiriaceae) chez les rongeurs, une plante utilisée dans le traitement de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 3(6): 1286-1296.

Ksouri, R., Falleh, H., Megdiche, W., Trabelsi, N., Mhamdi, B., Chaieb, K., Bakrouf, A., Magné, C. et Abdelly, C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology* 47 : 2083-2091

L

Lalam M, Ouhamou O, (2018). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de cinq plantes médicinales de différentes régions de l'Algéri, mémoire de master, université de Béjaia (Algerie), 93p.

Lo Piparo E., Scheib H., Frei N., Williamson G., Grigorov M. Chou C.J., 2008. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human α -amylase. *J. Med. Chem.*, 51: 3555-3561.

M

Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechnologiques et universitaires romandes, France. pp 92

Mahdjar S. (2013). Contribution à l'Etude de la composition chimique de la plante *Matricaria pubescens* et à l'évaluation de son activité antioxydante. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah d'Ouargla, Algérie. P 03

Mahboubi, A., Kamalinejad, M., Shalviri, M., Karbasi, Z., Jafariazar, Z., et Asgharian, R. (2012). Evaluation of antibacterial activity of three Iranian medicinal plants. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6 (9) : 2048-2052.

Maiza k, Brac De La Perriere et Hammiche V. (1993). Pharmacopée traditionnelle: Sahara septentrional. Actes du 2e colloque européen d'ethnopharmacologie, Heidelberg, p 169-181.

- Makkar H.P.S., Dawra R.K. & Singh B, 1987. Protein precipitation assay for quantitation of tannins: determination of protein in tannin-protein complex. *Analytical Biochemistry*, 166: 435-439.
- Mebarki L, H.M. Kaid, Benlarbi L, Rahmani A, and Sarhani A, (2013), Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of *Anvillea radiata*. *World App. Sci. J.*, 26: 165-171
- Merzouki A, Ed-Derfoufi F, Molero Mesa J, (2000). Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *Fitoterapia* 71, 278-307.
- Mibindzou Mouellet A, (2004). Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegrer. (rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de doctorat. University de Bamako, Mali. pp 58.
- Milcent R, Chau F, (2003). 114 Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed.Francois chau EDP. Paris. France. 846p.
- Mira L., Fernandez T., Santos M., Rocha R., Florêncio M.H. & Jenings K.R., 2002. Interactions of flavonoids with iron and copper ions : a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radical Research*, 36(11): 11199-1208.
- Mohammedi Z, (2006). Étude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse De Magistère. Université ABOU BAKRBELKAID-Tlemcen. pp 155.
- Montagnier L, Olivier R, Pasquier C. *Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases*. New York: Marcel Dekker, 1998.
- Mori, A., Nishino, C., Enoki N. et Tawata, S. (1987). Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 26 (8) : 2231-2234.
- Moumou M, El Bouakher A, Allouchi H, El Hakmaoui A, Benharref A, Mathieu M, Guillaumet G, Akssira M, (2014). Synthesis and biological evaluation of 9 α - and 9 β -

hydroxyamino- parthenolides as novel anticancer agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24, 4014–4018.

N

Naczki M, Shahidi F, (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A.*, 1054 (1-2) : 95- 111.

Najafian M, Ebrahim-Habibi A, Hezareh N, Yaghmaei P, Parivar K. & Larijani B, (2011). Trans-chalcone: a novel small molecule inhibitor of mammalian alpha-amylase. *Mol. Biol. Rep.*, 38:1617-1620.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (2004a). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th edition. Approved Standard M2A8, Wayne, Pennsylvania.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (2004b). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts ; approved guideline M44-A, Wayne, Pennsylvania.

NCCLS-National Committee for Clinical Laboratory Standards 2004c. Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial that grow aerobically, 7th ed., Approved Standard M7.A6. Wayne, Pennsylvania.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2004d. Method for antifungal broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, 2nd ed., approved guideline M27-A2, Wayne, Pennsylvania

Nijveldt R.J, van Nood E, van Hoorn E.C, Boelens P.G., van Norren K. & van Leeuwen P.A.M., (2001). *Am. J. Clin. Nutr.*, 74: 418-425.

Njume C., Jide A. A. & Ndip R. N., 2011. Aqueous and organic solvent-extracts of selected South African medicinal plants possess antimicrobial activity against drug-resistant strains of *Helicobacter pylori*: inhibitory and bactericidal potential. *Int. J. Mol. Sci.*, 12: 5652- 5665.

O

Oueld El Hadj M. Didi, Hadj-Mahammed M, Zabeiro H, (2003). Places des Plantes Spontanées Dans la Médecine Traditionnelle de la Région de Ouargla, Courrier du Savoir, N°03, pp. 47-51.

Ouis N, (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre et fenouil et de persil, these doctorat, p15-239

Oyaizu M, (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn. J. Nutr, 44: 307-315.

Ozenda P., (2004). Flore et végétation du sahara. Ed.CNRS, Paris, 665p.

P

Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F, (2003). Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. J .Nutr, 133: 2812-2819.

Perumal S, Pillai S, Cai L.W, Malunud R, et Ramanathan S, (2012). Determination of minimum inhibitory concentration of *Euphorbia hirta* (L.) by tetrazolium microplate assay. Journal of Natural Products. 5 : 68-76.

Perez M.B, Calderon, N.L, et Croci C.A,(2007). Radiation induced enhancement of antioxydant activity in extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).Food chemistry 104:585-592.

Prior R.L, Wu X., Schaich K, (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. J. Agric. Food. Chem., 53: 4290-302.

Prouillac C, (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat Chimie – Biologie – Santé. Devant l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE III, pp254

Q

Qadah Z., (2013). (دراسة الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للأكسدة لنبته النقد (Anvillea radiata). Université Kasdi Merbah d'Ourgla, Algérie.

Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin J.C, Bailleul F. and Troitin F, (2000). Phenolic compounds and antioxydant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*.72: 35-42.

Quezel P, Santa S, (1963). Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques meridionales. Editions du C.N.R.S. Paris, p. 949.

R

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, ET Rice-Evans C. (1999). Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free radical biology and medicine, 26: 1231-1237.

Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, et Ribéreau-Gayon P. (1982) .Composés phénoliques, In Traite d'œnologie, sciences et technique du vin .Paris :Dunod.477-499.

Roginsky V, Lissi E.A, (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem*, 92: 235-254.

Rojas A, Hernandez L, Pereda-Miranda R, and Mata R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*. Vol (35), p : 275-283.

Rustaiyan A, Dabiri M, Jakupovitch J, (1986). *Phytochemistry* 25, 1229.

S

Sebrou I et Houari N.(2018). Evaluation de l'activité anti-oxydante et antibactérienne des différents extraits d'*Anvillea radiata* récoltée dans la région de Ghardaïa, mémoire de master, université de Ghardaïa, algérie, 48p .

- Saoud H. D, (2016). Etude structure activité des principes actifs de la plante *Anvillea radiata* Asteraceae. Thèse de Doctorat. Université Kasdi Merbah d'Ouargla, Algérie. pp 133.
- Sattar E.A, Mc Phail A.T, (2000). *J. Nat. Prod.* 63, 1587.
- Sattar E.A, Galal A.M, Mossa G.S, (1996). *J. Nat. Prod.* 59, 403.
- Scalbert A (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- Schlesier K, Harwat M, Bohm V. & Bitsch R, (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36, 177-187.
- SFM, (2014). Société Française de Microbiologie. www.sfm-microbiologie.org
- Sharief Mohammad N, Geneto M., Deresh Abateneh D., Salahuddin M., Dilshad Manzar M. & Rao U.M., 2017. Antibacterial and phytochemical study of *Acanthus ilicifolius* L. stem extracts. *World Journal of Pharmaceutical research*, 6(3): 1629-1640
- Sidhu M. C. & Sharma T. (2013) A database of antidiabetic plant species of family Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae and Moraceae. *Int.J.Herb.Med.* 2: 187-199.
- Shui G, et Leong L. P. (2006). Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*. 97 : 277–284.
- Silva E. L, Lobo J. F, Vinther J. M, Borges R.M, & Staerk D, (2016) High-Resolution alpha-Glucosidase Inhibition Profiling Combined with HPLC-HRMS-SPENMR for Identification of Antidiabetic Compounds in *Eremanthus crotonoides* (Asteraceae). *Molecules*. 21.
- Sokmen A, Sokmen N, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Unlu M and Akpulat A (2004). The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* afan. (Asteraceae). *Phytotherapy Research*, 18, 451-456.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M. Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46 (10) : 4267-4274.
- Svoboda K and Svoboda T. (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Ed: MICROSCOPIX PUBLICATIONS, U.K.

T

Tadeg H, Mohammed E, Asres K, Gebre-Mariam T. (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 100 : 168-175.

Tadera K, Minami Y, Takamatsu K, Matsuoka T, (2006). Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 52: 149-153.

Telli A, (2017). Activités anti-oxydante, antimicrobienne et antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Amodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah d'Ouargla, Algérie. pp 214.

Trease E, et Evans W. C. (1987). *Pharmacognosie, Billiaire Tindall*. 13th edition. London : 61-62.

Treutter D, (2006). Significance of flavonoids in plant resistance : a review. *Environ. Chem. Lett.*, 4: 147-157.

Tyson R.L, Chang C.J, Melaughin J., Aynehchi Y, Cassidy J.M, (1981). *Experientia* 37, 441.

U

Ulubelen A, Mabry T.J, Aynekdin Y, (1979). *J. Nat. Prod.* 42, 624.

V

Verpoorte R, Contin A, Memelink J, (2002), *Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochemistry Reviews*, 1(1):13-25.

W

Wojdyło, A., Oszmiański, J. et Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105: 940–949.

World Health Organization. (2002). *WHO traditional medicine strategy 2002-2005*.

Y

Yang J. P, He H, & Lu Y.H. (2014). Four flavonoid compounds from *Phyllostachys edulis* leaf extract retard the digestion of starch and its working mechanisms. *J.Agric.Food Chem* 62: 7760-7770.

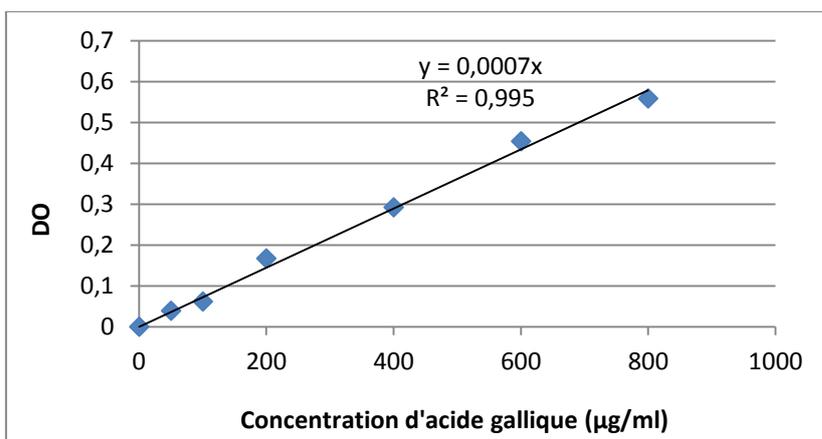
Z

Zeggwagh A.A, Lahlou Y, Bousliman Y, (2013). Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytotherapie utilisee par un herboriste à Fes, Maroc, *Pan African Medical Journal*, in Maroc, vol 6 : 1-6.

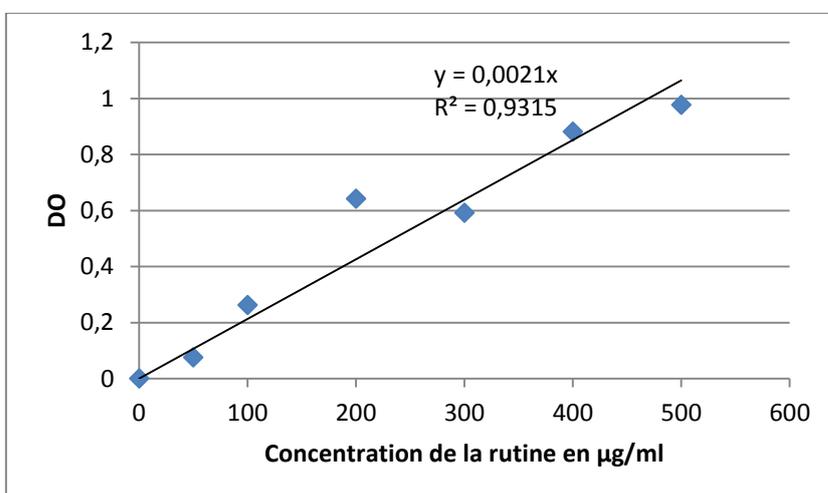
Zhao H.-L, Tong P. C. Y. & Chan J. C. N., (2006). Traditional Chinese medicine in the treatment of diabetes. Nutritional management of diabetes mellitus and dysmetabolic syndrome. *Nestle Nutr Worshop Ser Clin Perform Program*, vol 11: 15-29.

Annexes

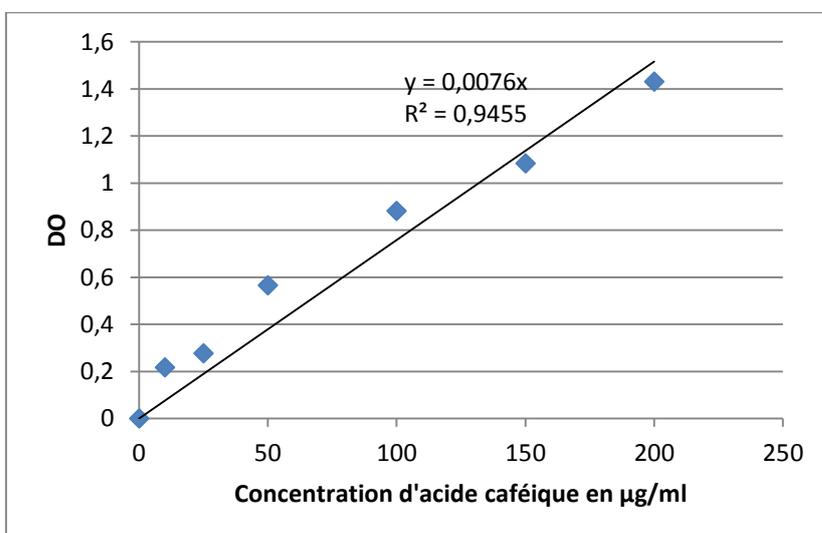
Annexe 1: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

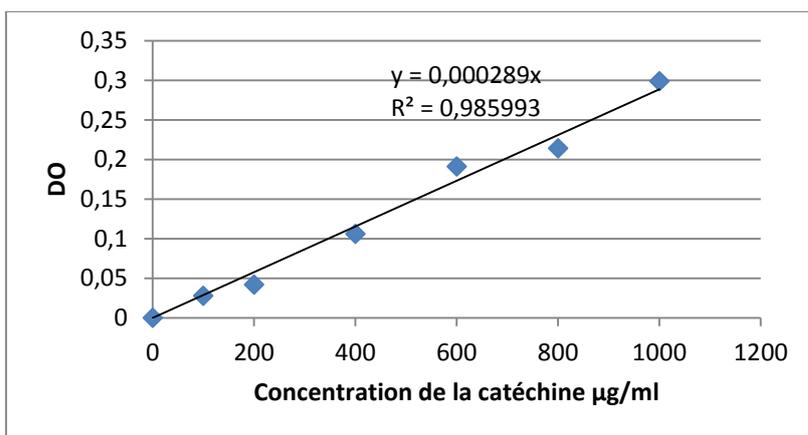
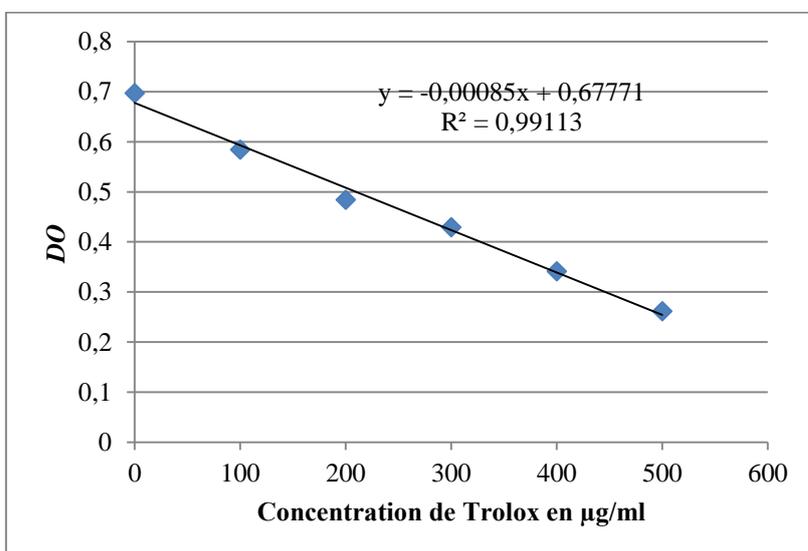
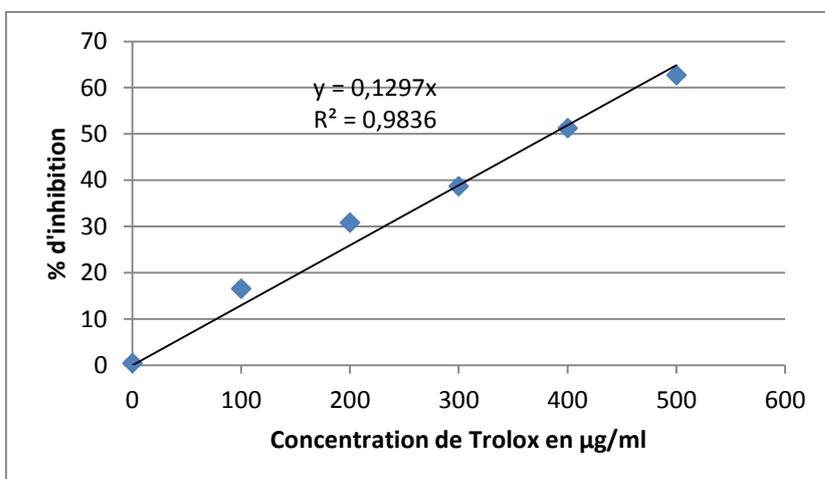


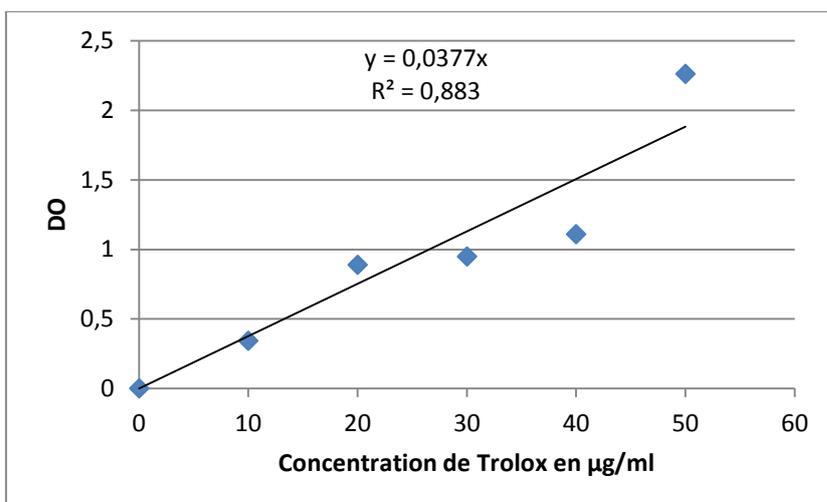
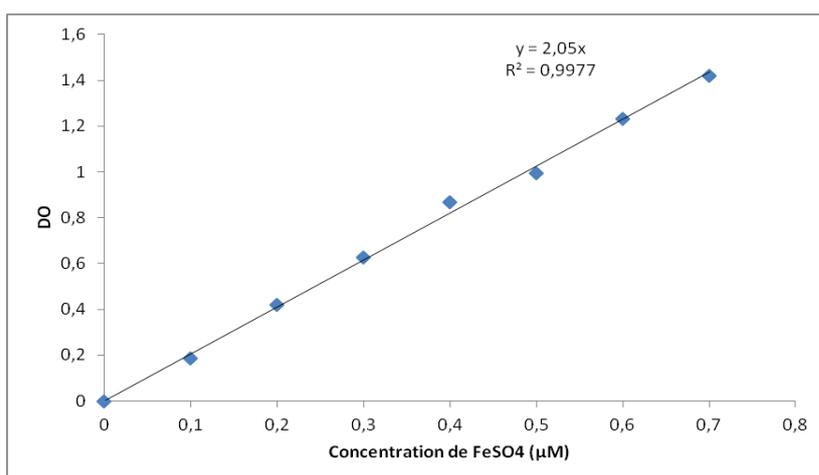
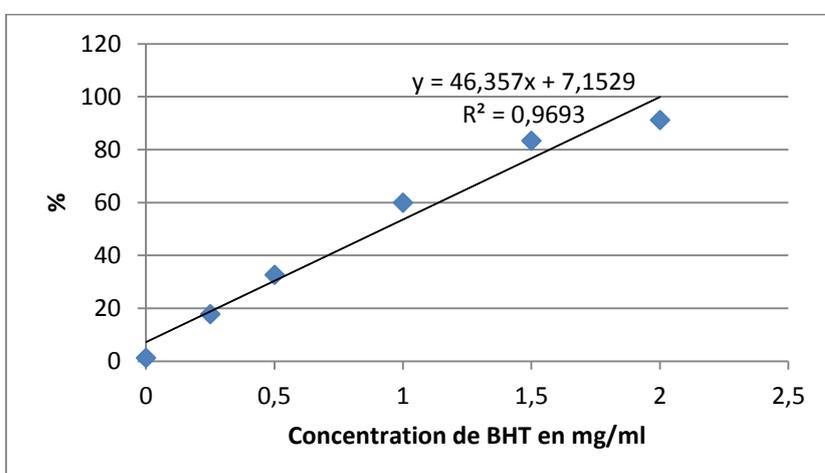
Annexe 2: Courbe d'étalonnage de la rutine



Annexe 3: Courbe d'étalonnage d'acide caféique



Annexe 4: Courbe d'étalonnage de la catéchine.**Annexe 5:** Courbe d'étalonnage de Trolox pour le test ABTS.**Annexe 6:** Courbe d'étalonnage d'inhibition d'ABTS⁺⁺ par le Trolox.

Annexe 7 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le test FRAP.**Annexe 8 :** Courbe d'étalonnage de FeSO₄ pour le test FRAP.**Annexe 9 :** Courbe d'étalonnage de l'inhibition de blanchiment du bêta carotène par le butyrylhydroxyltoluène (BHT).

Annexe 10 : Préparation de milieu de culture

Le milieu Mueller Hinton Agar est préparé comme suit : dissoudre 38g de gélose Mueller-Hinton dans 1L d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 20 minutes à 120 °C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri, après refroidissement de milieu.

Annexe 11: Préparation de bouillon Mueller-Hinton

Le bouillon Mueller-Hinton est la version liquide du milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides. Il est principalement utilisé pour les études de C.M.I.

FORMULE

Ingrédients en grammes par 100 ml d'eau distillée ou déminéralisée

Amidon de pomme de terre 0.15g

Extrait de viande 0.2g

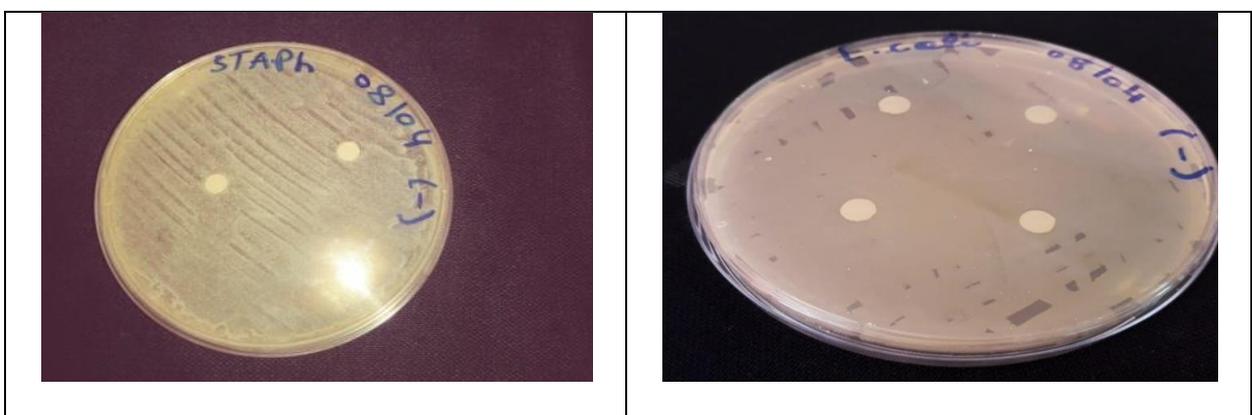
Caséine 1.75g

Annexe 12 : Préparation de Milieu gélose nutritive

GN2.3g

Eau distillé 100ml

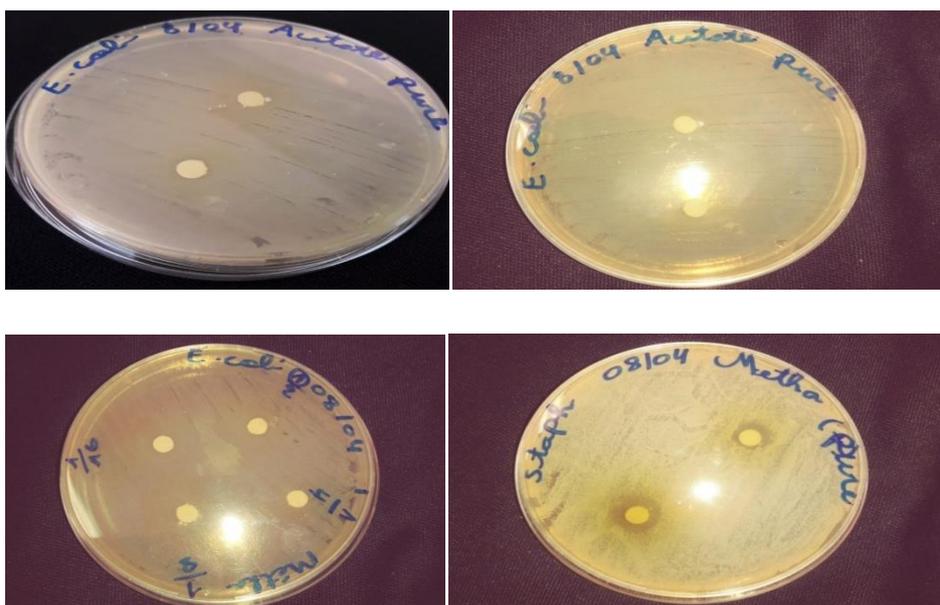
Annexe 13 : L'inactivité de l'eau/DMSO (témoin négatif) sur les deux souches testées (E. coli, S. aureus).

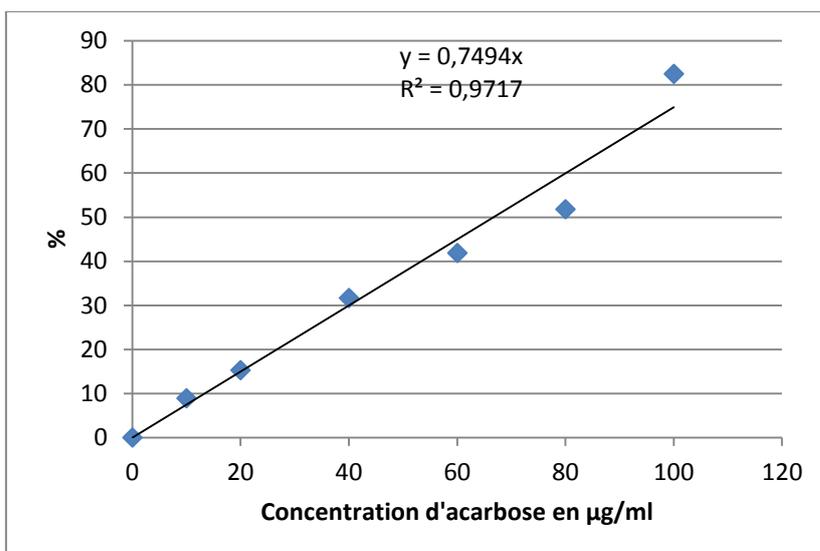


Annexe 14: Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des antibiotiques (témoin positif).

Souches	AN	AMP	AK	TE	
				DMSO	
E. coli	27.05	6	26.79	20.03	6
S. aureus	17.60	7	21.72	21.93	6

AN : Acide nalidixique, AMP : Ampicilline, TE : Tetracycline et AK : Amikacine

Annexe 15 : Zones d'inhibition des différentes antibiotiques (témoin positif) sur les souches testées**Annexe 16 :** Zones d'inhibition des différents extraits d'*A. radiata* (MeOH, AcEt, et EtPe) sur les deux souches testées.

Annexe17 : Courbe d'étalonnage de l'inhibition de l'alpha-amylase par l'acarbose.**Annexe 18**: Statistiques descriptives (Données quantitatives) covariance extrait MeOH

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
R	3	0	3	10,000	18,000	14,000	4,000
PPT	3	0	3	78,000	119,700	92,600	23,493
FLV	3	0	3	15,834	17,388	16,366	0,885
AcPh	3	0	3	3852,000	4548,000	4312,000	398,417
TC	3	0	3	32,760	34,720	33,973	1,060
ABTS	3	0	3	144,321	164,179	153,477	10,018
FRAP	3	0	3	86,905	105,150	95,883	9,126
béta caro	3	0	3	158,160	187,917	172,946	14,879
Alpha amy	3	0	3	70,895	82,089	76,317	5,606

Annexe 19 : Matrice de corrélation (Pearson) covariance extrait MeOH

Variables	R	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	béta caro	Alpha amy
R	1	-0,045	-0,024	-0,015	0,792	-0,611	-0,523	-0,509	-0,546
PPT	-0,045	1	1,000	-0,998	0,574	-0,763	-0,828	-0,837	-0,812
FLV	-0,024	1,000	1	-0,999	0,591	-0,777	-0,839	-0,848	-0,824
AcPh	-0,015	-0,998	-0,999	1	-0,622	0,801	0,860	0,868	0,846
TC	0,792	0,574	0,591	-0,622	1	-0,967	-0,935	-0,929	-0,944
ABTS	-0,611	-0,763	-0,777	0,801	-0,967	1	0,994	0,992	0,997
FRAP	-0,523	-0,828	-0,839	0,860	-0,935	0,994	1	1,000	1,000
béta caro	-0,509	-0,837	-0,848	0,868	-0,929	0,992	1,000	1	0,999
Alpha amy	-0,546	-0,812	-0,824	0,846	-0,944	0,997	1,000	0,999	1

Annexe 20: Coefficients de détermination (Pearson) covariance extrait MeOH

Variabes	R	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	béta caro	Alpha amy
R	1	0,002	0,001	0,000	0,628	0,374	0,274	0,259	0,298
PPT	0,002	1	1,000	0,996	0,329	0,583	0,685	0,700	0,660
FLV	0,001	1,000	1	0,998	0,349	0,603	0,705	0,720	0,680
AcPh	0,000	0,996	0,998	1	0,387	0,641	0,739	0,754	0,715
TC	0,628	0,329	0,349	0,387	1	0,935	0,873	0,862	0,891
ABTS	0,374	0,583	0,603	0,641	0,935	1	0,989	0,985	0,994
FRAP	0,274	0,685	0,705	0,739	0,873	0,989	1	1,000	0,999
béta caro	0,259	0,700	0,720	0,754	0,862	0,985	1,000	1	0,998
Alpha amy	0,298	0,660	0,680	0,715	0,891	0,994	0,999	0,998	1

Annexe 21 : Statistiques descriptives (Données quantitatives) covariance extrait AcEt

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
R	3	0	3	4,000	6,000	5,000	1,000
PPT	3	0	3	14,876	22,314	19,644	4,139
FLV	3	0	3	1,866	2,163	2,008	0,149
AcPh	3	0	3	1661,503	1897,226	1760,674	122,226
TC	3	0	3	3,524	4,806	4,130	0,644
ABTS	3	0	3	229,929	277,929	249,775	25,055
FRAP	3	0	3	112,000	134,333	124,732	11,491
béta caro	3	0	3	173,318	189,889	180,206	8,632
Alpha amy	3	0	3	185,722	211,368	198,083	12,848

Annexe 22 : Matrice de corrélation (Pearson) covariance extrait AcEt

Variabes	R	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	béta caro	Alpha amy
R	1	0,899	0,431	-0,253	0,415	-0,728	0,282	0,960	-0,553
PPT	0,899	1	0,783	0,198	0,772	-0,955	-0,168	0,739	-0,863
FLV	0,431	0,783	1	0,764	1,000	-0,933	-0,744	0,161	-0,990
AcPh	-0,253	0,198	0,764	1	0,776	-0,480	-1,000	-0,514	-0,666
TC	0,415	0,772	1,000	0,776	1	-0,926	-0,756	0,143	-0,987
ABTS	-0,728	-0,955	-0,933	-0,480	-0,926	1	0,453	-0,506	0,974
FRAP	0,282	-0,168	-0,744	-1,000	-0,756	0,453	1	0,539	0,644
béta caro	0,960	0,739	0,161	-0,514	0,143	-0,506	0,539	1	-0,297
Alpha amy	-0,553	-0,863	-0,990	-0,666	-0,987	0,974	0,644	-0,297	1

Annexe 23: Coefficients de détermination (Pearson) covariance extrait AcEt

Variables	R	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	béta caro	Alpha amy
R	1	0,807	0,186	0,064	0,172	0,529	0,079	0,921	0,306
PPT	0,807	1	0,614	0,039	0,596	0,912	0,028	0,547	0,744
FLV	0,186	0,614	1	0,584	1,000	0,870	0,554	0,026	0,980
AcPh	0,064	0,039	0,584	1	0,601	0,230	0,999	0,264	0,444
TC	0,172	0,596	1,000	0,601	1	0,857	0,572	0,020	0,975
ABTS	0,529	0,912	0,870	0,230	0,857	1	0,206	0,256	0,949
FRAP	0,079	0,028	0,554	0,999	0,572	0,206	1	0,291	0,414
béta caro	0,921	0,547	0,026	0,264	0,020	0,256	0,291	1	0,088
Alpha amy	0,306	0,744	0,980	0,444	0,975	0,949	0,414	0,088	1

Annexe 24: Statistiques descriptives (Données quantitatives) covariance extrait EtPe

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
R	3	0	3	1,600	2,000	1,800	0,200
PPT	3	0	3	12,150	15,043	13,693	1,456
FLV	3	0	3	0,104	0,133	0,116	0,015
AcPh	3	0	3	83,314	132,686	116,229	28,505
TC	3	0	3	0,000	0,000	0,000	0,000
ABTS	3	0	3	486,477	547,816	523,409	32,531
FRAP	3	0	3	527,500	598,250	571,292	38,261
béta caro	3	0	3	309,941	336,000	322,751	13,035
Alpha amy	3	0	3	335,938	475,667	384,806	78,763

Annexe 25 : Matrice de corrélation (Pearson) covariance extrait EtPe

Variables	R	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	béta caro	Alpha amy
R	1	-0,993	-0,958	0,000		-0,183	0,132	-0,475	0,044
PPT	-0,993	1	0,919	-0,115		0,069	-0,245	0,572	0,071
FLV	-0,958	0,919	1	0,287		0,457	0,158	0,202	-0,328
AcPh	0,000	-0,115	0,287	1		0,983	0,991	-0,880	-0,999
TC					1				
ABTS	-0,183	0,069	0,457	0,983		1	0,950	-0,779	-0,990
FRAP	0,132	-0,245	0,158	0,991		0,950	1	-0,935	-0,984
béta caro	-0,475	0,572	0,202	-0,880		-0,779	-0,935	1	0,859
Alpha amy	0,044	0,071	-0,328	-0,999		-0,990	-0,984	0,859	1

Annexe 26 : Coefficients de détermination (Pearson) covariance extrait EtPe

Variables	R	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	béta caro	Alpha amy
R	1	0,987	0,918	0,000		0,033	0,018	0,225	0,002
PPT	0,987	1	0,844	0,013		0,005	0,060	0,328	0,005
FLV	0,918	0,844	1	0,082		0,209	0,025	0,041	0,108
AcPh	0,000	0,013	0,082	1		0,967	0,982	0,775	0,998
TC									
ABTS	0,033	0,005	0,209	0,967		1	0,903	0,606	0,981
FRAP	0,018	0,060	0,025	0,982		0,903	1	0,875	0,969
béta caro	0,225	0,328	0,041	0,775		0,606	0,875	1	0,737
Alpha amy	0,002	0,005	0,108	0,998		0,981	0,969	0,737	1

Annexe 27 : Matrice de corrélation (Pearson) entre les extraits

Variables	MeOH	AcEt	EtPe
MeOH	1	0,9798	-0,1288
AcEt	0,9798	1	-0,0045
EtPe	-0,1288	-0,0045	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

Annexe 28 : p-values entre les extraits

Variables	MeOH	AcEt	EtPe
MeOH	0	0,0000	0,5221
AcEt	< 0,0001	0	0,9821
EtPe	0,5221	0,9821	0

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

Annexe 29:

