

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

**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM–**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de  
l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire :

Antifongiques, Antifongiques, Physico-chimie,  
Synthèse et Activités biologiques



## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master en biologie

Option : Biochimie appliquée

**Thème :**

---

**Etude phytochimique et recherche de l'activité antioxydante  
des extraits préparés des racines d'*Anacyclus pyrethrum*.**

---

Présenté par : **M<sup>elle</sup> SELLAF Soumia.**

Soutenu le : **23/06/2020** devant le jury :

<b>Présidente :</b>	M <sup>elle</sup> BENARIBA Nabila	MCA	Univ. de Tlemcen
<b>Encadreur :</b>	Mr. AZZI Rachid	MCA	Univ. de Tlemcen
<b>Examinatrice :</b>	M <sup>me</sup> MEDJDOUB Houria	MCB	Univ. de Tlemcen

**Année Universitaire : 2019/2020**

# *Remerciements*

**A mon directeur de mémoire,**

**Monsieur Azzi Rachid**

Maître de conférences classe « A » au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

Nous sommes heureux et honorés de votre encadrement, merci pour votre orientation qui a été très bénéfique et qui nous a permis d'être plus attentifs dans la réalisation de ce travail. Nous vous remercions vivement pour votre esprit critique et votre rigueur en matière de rédaction. Merci pour ces nombreuses heures de lecture et pour votre patience dans la correction de ce mémoire. Sans vous ce travail n'aurait pu aboutir, merci pour votre disponibilité permanente et pour l'intérêt porté à ce sujet, merci également pour les conseils prodigués.

*Mes remerciements s'adressent à **Mme BENARIBA Nabila** maître de conférences classe « A » au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Mes vifs remerciements vont également à **Mme MEDJDOUB Houria** maître de conférences Classe « B » au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier le directeur de laboratoire **Monsieur RAHMOUN Mohamed-Nadjib** maître de conférences classe « A » au département de biologie, Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen - et directeur de Laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique » où nous avons eu le plaisir d'effectuer ce travail.*

*Je remercie également la doctorante **Melle ABOU Fayza** pour son aide durant la réalisation de la partie pratique.*

# Dédicace

*Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant et miséricordieux,  
qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste  
travail*

## **A mes parents**

**Moussa** et **Fatiha**, Merci de m'avoir toujours soutenu tant moralement que matériellement pour qu'aujourd'hui arrive. Vos sacrifices, vos conseils, vos encouragements, prières vos efforts durant toute ma vie. Je vous présente mes meilleures gratitudee et mon profond respect Voir la fierté dans tes yeux est pour moi la moindre de chose à faire.

## **A mes grands parents**

**Ahmed** et **Fatima**, Merci de m'avoir toujours soutenu moralement pour qu'aujourd'hui arrive. Sans oublier vos longues nuits de prières qui m'ont toujours rendu la vie facile.

A mes chers frères **Abdou** et **Anes** je vous souhaite une longue vie et bonne santé.

A ma chère sœur **Hadjer**, je te souhaite que du bonheur.

A mon cher oncle **Mohammed**, je te remercie chaleureusement pour ton aide durant toute ma vie, tes conseilles précieuses, je te souhaite que du bonheur avec ta petite famille

A ma meilleure enseignante **Nezha**, tu étais ma deuxième maman depuis mon enfance, merci infiniment pour ton encouragement, tes conseilles, ...

A mon oncle **Nordine**, mes tantes, **Hada**, **Kheira**, **Zahia**, **Samira** et **Souâd**.

A toute la famille **Sellaf** et **Boutefas**.

## ملخص

عود العطاس (*Anacyclus pyrethrum*) وهو نبات ذي أصول إفريقية بالتحديد شمال إفريقيا ، معروف بخصائصه الطبية

يرتكز هذا العمل على الاختبارات الكيميائية النباتية ، وتحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويد ، وكذلك البحث عن النشاط المضاد للأكسدة ، في المختبر ، عن طريق تثبيط الجذر الحر DPPH ، وطريقة إرجاع الحديد (FRAP) وخلص ميثانول الماء الخام وجزء أسيتات الإيثيل المحضر من جذور *Anacyclus pyrethrum*، التي تم جمعها في منطقة العابد ولاية تلمسان.

كشفت الفحص الكيميائي النباتي لمختلف المستحضرات عن وجود قلويدات ، تانينات ، فلافونيدات ، كينون ، و التربينويدات. سجلت جرعة البوليفينول التي تم تقييمها بطريقة Folin-Ciocalteu وجرعة مركبات الفلافونويد التي ينتجها ثلاثي كلوريد الألومنيوم نسبة عالية في جزء أسيتات الإيثيل حوالي  $0,007 \pm 209$  ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل ميليغرام من المستخلص و  $0,04 \pm 183,3$  ميكروغرام مكافئ الكاتشين لكل ميليغرام من المستخلص على التوالي. أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقة DPPH أن الجزء العضوي من اسيتات الإيثيل أظهر نشاطاً أفضل مضاداً للجذور الحرة مع IC50 بحوالي 1.96 ملغ / مل. بينما بالنسبة لاختبار FRAP ، سجلت المرحلة المائبة المتبقية المستعادة أفضل قدرة اختزال مع EC50 بحوالي 1,31 ملغ / مل. تبقى هذه النتائج منخفضة مقارنة بحمض الأسكوربيك مع IC50 من 0,33 ملغ / مل و EC50 من 0,002 ملغ / مل.

يرجع التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات جذور *Anacyclus pyrethrum* بشكل رئيسي إلى محتواها من البوليفينول الكلي ، الذي يكشف عن وجود علاقة قوية بين هذه المركبات والنشاط المضاد للأكسدة (اختبار DPPH)

الكلمات المفتاحية : *Anacyclus pyrethrum*، الفرز الكيميائي النباتي ، البوليفينول الكلي ، الفلافونيدات ، النشاط المضاد للأكسدة.

## Résumé

*L'Anacyclus pyrethrum* aussi appelé le pyrèthre, est une plante originaire d'Afrique du Nord, connue par ces vertus médicinales.

L'objectif de ce travail est porté sur des tests phytochimiques, dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes réalisé en milieu alcalin en présence de trichlorure d'aluminium, ainsi que la recherche de l'activité antioxydante, *in vitro*, par la méthode de piégeage du radical DPPH<sup>·</sup>, et la méthode de réduction du fer (FRAP), de l'extrait brut eau-méthanol et sa fraction acétate d'éthyle préparés des racines d'*Anacyclus pyrethrum*, récoltée dans la région d'El Abed wilaya de Tlemcen.

Le screening phytochimique des différentes préparations a révélé la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, quinones, et des terpénoïdes. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a enregistré une forte teneur dans la fraction organique d'acétate d'éthyle d'ordre de  $209 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg E}$  et  $183,3 \pm 0,04 \mu\text{g EC/mg E}$ , respectivement. L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que la fraction organique d'acétate d'éthyle a présenté une meilleure activité antiradicalaire avec une  $\text{CI}_{50}$  d'ordre de 1,96 mg/ml. Tandis que pour le test FRAP, la phase résiduelle aqueuse récupérée a enregistré le meilleur pouvoir réducteur avec une  $\text{EC}_{50}$  d'ordre de 1,31 mg/ml. Ces résultats restent faibles par rapport à l'acide ascorbique avec une  $\text{CI}_{50}$  de 0,33mg/ml et une  $\text{EC}_{50}$  de 0,002mg/ml.

L'effet antioxydant des extraits des racines d'*Anacyclus pyrethrum* est principalement dû à leur teneur en polyphénols totaux.

**Mots clés :** *Anacyclus pyrethrum*, screening phytochimique, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante.

## Summary

*Anacyclus pyrethrum* also called pyrethrum, is a plant native to North Africa, known by its medicinal properties.

The objective of this work is focused on phytochemical tests, determination of total polyphenols evaluated by the Folin-Ciocalteu method and flavonoids produced by aluminum trichloride, as well as the research of antioxidant activity, in vitro, by the method of trapping the radical DPPH<sup>·</sup>, and the method of reduction of iron (FRAP), crude water-methanol extract and its ethyl acetate fraction enhanced with polyphenols prepared from the roots of *Anacyclus pyrethrum*, collected in the area of in the El Abed region of Tlemcen.

Phytochemical screening of the various preparations revealed the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, quinones, and terpenoids. The dosage of polyphenols and the flavonoids recorded a high content in the organic fraction of ethyl acetate around  $209 \pm 0,007 \mu\text{g EAG} / \text{mg E}$  and  $183, 3 \pm 0,04 \mu\text{g EC} / \text{mg E}$  respectively. The evaluation of the antioxidant activity by the method of DPPH showed that the organic fraction of ethyl acetate exhibited better anti-free radical activity with an  $\text{IC}_{50}$  of about 1.96 mg / ml. While for the FRAP test, the residual aqueous phase recovered recorded the best reducing power with an  $\text{EC}_{50}$  of about 1.31 mg / ml. These results remain low compared to ascorbic acid with an  $\text{IC}_{50}$  of 0.33 mg / ml and an  $\text{EC}_{50}$  of 0.002 mg / ml respectively.

The antioxidant effect of extracts of the roots of *Anacyclus pyrethrum* is mainly due to their content of total polyphenols.

**Key words:** *Anacyclus pyrethrum*, phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.

# *Table des matières*

<b>Introduction</b> .....		<b>01</b>
	Synthèse bibliographique	
	Chapitre I : Le stress oxydatif	
<b>1. Le stress oxydatif</b> .....		<b>03</b>
<b>1.1. Définition</b> .....		<b>03</b>
<b>1.2. Source du stress oxydant</b> .....		<b>03</b>
<b>2. Les</b>	<b>radicaux</b>	<b>04</b>
<b>libres</b> .....		
<b>2.1. Définition</b> .....		<b>04</b>
<b>3.</b>	<b>Systèmes</b>	<b>de</b>
<b>antioxydants</b> .....		<b>défense</b> <b>05</b>
<b>3.1.</b>	<b>Système</b>	<b>antioxydant</b> <b>06</b>
<b>enzymatique</b> .....		
<b>3.2.</b>	<b>Système</b>	<b>antioxydant</b>
.....	<b>non</b>	<b>enzymatique</b> <b>06</b>
<b>3.2.1.</b>	<b>Système</b>	<b>antioxydants</b> <b>06</b>
<b>endogènes</b> .....		
<b>3.2.2.</b>	<b>Les</b>	<b>antioxydants</b>
<b>enzymatiques</b> .....	<b>exogènes</b>	<b>non</b> <b>07</b>
<b>4.</b>	<b>Méthodes</b>	<b>d'étude</b>
<b>in vitro</b> .....	<b>de</b>	<b>l'activité</b>
	<b>antioxydante</b>	<b>in</b> <b>09</b>
<b>5.1. Test de piégeage de 2,2-diphényl picrylhydrazyl (DPPH')</b> .....		<b>09</b>
<b>5.2.</b>	<b>Test</b>	<b>de</b>
<b>fer(FRAP)</b> .....	<b>réducteur</b>	<b>de</b> <b>09</b>

5.3. Test ABTS (acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) .....	09
5.4. Test de Capacité antioxydante totale (CAT).....	09
5.5. Test de blanchissement du bêta-carotène .....	10
5.6. La Méthode de TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) .....	10

## Chapitre II : les composés phénoliques

1. Composés phénoliques .....	11
1.1. Définition.....	11
1.2. Classification.....	11
1.2.1 Acides phénoliques.....	11
1.2.2 Les flavonoïdes .....	11
1.2.3 Les tanins.....	12
1.2.4 Les coumarines.....	12
1.2.5 Les stilbènes.....	13
3. Composés phénoliques et l'activité antioxydante.....	13
4. La relation entre le diabète sucré et le stress oxydatif .....	13

## Chapitre III : plante étudiée

1. La famille des astéracées.....	15
2. <i>Anacyclus pyrethrum</i> .....	16



2.1. Nom vernaculaires.....	16
2.2. Position systématique.....	16
2.3. Description botanique.....	16
2.4. Répartition géographique.....	17
2.5. Utilisation traditionnelle .....	17
2.6. Composition chimique .....	17
2.7. Répartition géographique .....	17
2.8. Les travaux antérieurs sur <i>A. Pyrethrum</i> .....	19

#### Matériel et méthodes

1. Matériel végétal .....	21
2. Préparation d'extrait .....	22
2.1. Décoction en milieu hydro-méthanolique .....	22
2.2. Récupération de l'extrait brut hydro-méthanolique .....	22
2.3. Fractionnement par l'acétate d'éthyle .....	22
2.4. Calcul du rendement d'extraction (%) .....	24
3. Etude .....	24
3.1. tests phytochimiques .....	24
3.2. Dosages des composés phénoliques .....	25

.....	
<b>3.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2.2. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>27</b>
<b>4. Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Piégeage du radical libre DPPH' (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl</b>	<b>28</b>
.....	
<b>4.2. Réduction du fer par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant</b>	
<b>Power) .....</b>	<b>30</b>
Résultats et interprétation .....	32
Discussion .....	40
Conclusion et Perspectives.....	44
Références bibliographiques.....	45

## *Liste des abréviations*

**%** : pourcentage

**AE** : fractionnement par acétate d'éthyle

**CCM** : chromatographie sur couche mince

**DPPH** : le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EB** : extrait brut eau-méthanol

**EBD** : extrait brut préparé par décoction

**EC50 (IC50)** : concentration inhibitrice à 50 %

**ERN** : espèces réactives de l'azote

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène

**FAE** : fraction organique acétate d'éthyle

**FRAP** : capacité Réductrice Ferrique d'Antioxydants

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : le peroxyde d'hydrogène

**HNO<sub>2</sub>** : Acide nitreux

**HOCl** : Acide hypochloreux

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance

**NO<sup>+</sup>** : Cation nitrosyle

**NO<sup>•</sup>** : L'Oxyde nitrique

**NO<sub>2</sub><sup>•</sup>** : Dioxyde d'azote

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : l'anion superoxyde

**OH<sup>•</sup>** : Le radical hydroxyl

**OMS** : organisation mondiale de la santé

**ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity

**P<sub>AR</sub>** : Pouvoir antiradicalaire

**PR** : phase résiduelle

**Rds** : rendement

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire

**UV** : ultra-violet

**v/v** : volume sur volume

**µg EAG/mg E** : microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

**µg EC/mg E** : microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les pro-oxydants	<b>03</b>
<b>Figure 02 :</b> Les principales étapes de la production des espèces réactives de l'oxygène	<b>04</b>
<b>Figure 03 :</b> les principales réactions des radicaux libres	<b>05</b>
<b>Figure 04 :</b> Structure de l'acide urique	<b>05</b>
<b>Figure 05 :</b> Structure du glutathion	<b>06</b>
<b>Figure 06 :</b> Les principaux sites d'activité antioxydant de l'albumine	<b>08</b>
<b>Figure 07 :</b> Structure de la L. carnitine	<b>08</b>
<b>Figure 08 :</b> Structure de l'acide ascorbique	<b>09</b>
<b>Figure 09 :</b> les principaux acides phénoliques	<b>11</b>
<b>Figure 10 :</b> Squelette de base des flavonoïdes	<b>12</b>
<b>Figure 11:</b> Structure des tanins condensés	<b>12</b>
<b>Figure 12 :</b> Structure des tanins hydrolysables	<b>12</b>
<b>Figure 13 :</b> Représentation chimique des comarines	<b>13</b>
<b>Figure 14 :</b> Types des fleurs des Astéracées	<b>15</b>
<b>Figure 15 :</b> <i>Anacyclus pyrethrum</i> : (a) Racines, (b) Fleurs	<b>17</b>
<b>Figure 16 :</b> Quelques composants phytochimiques majoritaires des racines d <i>Anacyclus pyrethrum</i>	<b>18</b>
<b>Figure 17:</b> Les pyracyclumines racémiques	<b>19</b>
<b>Figure 18 :</b> Racines d' <i>Anacyclus pyrethrum</i> récoltées dans la région d'El Abed, Tlemcen	<b>21</b>
<b>Figure 19 :</b> Schéma récapitulatif de préparation des extraits d' <i>Anacyclus pyrethrum</i>	<b>23</b>
<b>Figure 20 :</b> Forme libre et réduit de DPPH <sup>•</sup>	<b>29</b>
<b>Figure 21 :</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	<b>34</b>
<b>Figure 22 :</b> Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	<b>34</b>
<b>Figure 23 :</b> Pourcentage d'inhibition du radical DPPH <sup>•</sup> par l'acide ascorbique	<b>36</b>
<b>Figure 24 :</b> Pourcentage d'inhibition du radical DPPH <sup>•</sup> , en présence de l'extrait brut eau-méthanol (EB) et ses fractions organique acétate d'éthyle (FAE) et la phase résiduelle aqueuse (PR), préparés des racines d' d'A. <i>pyrethrum</i>	<b>36</b>

<b>Figure 25</b> : Pouvoir réducteur du fer en présence de l'acide ascorbique	<b>38</b>
<b>Figure 26</b> : Pouvoir réducteur du fer en présence de l'extrait but eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse (PR), préparés des racines d' d' <i>A. pyrethrum</i>	<b>38</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Les principaux radicaux libres (espèce réactives de l'oxygène)	<b>05</b>
<b>Tableau 02</b> : Activités biologiques des différents extraits préparés des différentes parties d' <i>A. pyrethrum</i>	<b>20</b>
<b>Tableau 03</b> : Méthode de dosage des polyphénols totaux	<b>26</b>
<b>Tableau 04</b> : Méthode de dosage des flavonoïdes	<b>28</b>
<b>Tableau 05</b> : Caractéristiques des extraits des racines d' <i>A. pyrethrum</i> préparés par décoction	<b>32</b>
<b>Tableau 06</b> : Résultats des tests phytochimique des différents extraits préparés des racines d' <i>A. pyrethrum</i>	<b>33</b>
<b>Tableau 07</b> : Teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes), d'extrait brut eau-méthanol et sa fraction acétate d'éthyle, préparés des racines d' <i>A. pyrethrum</i> .	<b>35</b>
<b>Tableau 08</b> : CI50 et AAR de l'extrait brut eau-méthanol, ses fractions préparées de <i>A. pyrethrum</i> et de l'acide ascorbique	<b>37</b>
<b>Tableau 09</b> : EC <sub>50</sub> d'extrait brut eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse des racines d' <i>A. pyrethrum</i> et de l'acide ascorbique.	<b>39</b>



# *Introduction*

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a approuvée l'importance des plantes médicinales pour les traitements des maladies dans les pays en développement (**Kishor et al., 2012**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est reconnue depuis longtemps, et elle connaît actuellement un regain d'intérêt auprès le publique (**Amadou Diallo, 2005**).

Il est estimé qu'au moins 25% de tous les médicaments modernes sont dérivés soit, directement ou indirectement, des plantes médicinales, principalement grâce à l'application des technologies modernes aux notions traditionnelles (**Robinson et Zhang, 2011**).

L'Algérie par son climat (méditerranéen, semi-aride et aride) et ses sols, renferme une flore particulièrement riche en plantes médicinales (**Felidj et al., 2010**).

Les composés antioxydants ont un rôle important en tant que facteurs de protection de la santé (**Suhaj, 2006**). C'est pour cela l'étude de l'activité antioxydante des plantes est devenue essentielle cette dernière décennie (**El-Haci et al., 2012**). Cette activité est dû à la présence des métabolites secondaires issues essentiellement des matières végétales (**Michel, 2011**), tel que les polyphénols et les flavonoïdes (**Benhammou et al., 2009**).

Le pyrèthre (*Anacyclus pyrethrum*) est une plante médicinale de la famille des astéracées, connu par ces vertus thérapeutiques divers et variées telles qu'antidépresseive, anticonvulsivante, et antidiabétique (**Usmani et al., 2016**).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et la recherche d'activité antioxydante, par méthode de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer par la méthode (FRAP), d'extrait brut eau-méthanol et sa fraction acétate d'éthyle, préparé par décoction des racines séchées et broyées d'*Anacyclus pyrethrum*, récoltées dans la région d'El- Abed (Tlemcen).

Notre étude sera présentée comme suit :

Une synthèse bibliographique qui se divise en trois chapitres :

- Le stress oxydatif et l'activité antioxydante ;
- Les composés phénoliques, et leurs relations avec le stress oxydatif ;
- L'étude de la plante *Anacyclus pyrethrum* ;

Une partie expérimentale qui résume les différentes techniques réalisées et les résultats obtenus. Elle est constituée de deux parties :

- Préparation des extraits de la plante étudiée ;
- Tests phytochimiques ;



- Dosage des composés phénoliques,
- Etude du pouvoir antioxydant des extraits préparés de la plante en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH, et le pouvoir réducteur (FRAP).

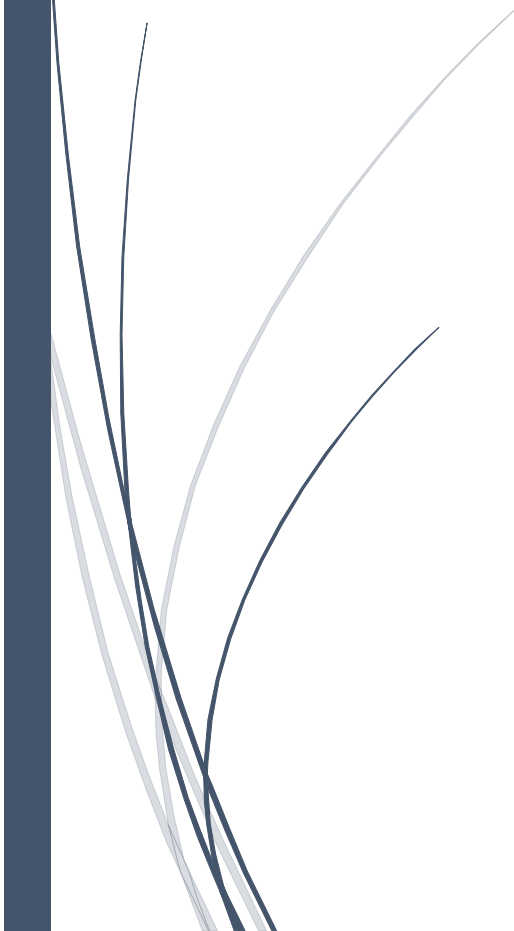
---

*Synthèse  
bibliographique*

---



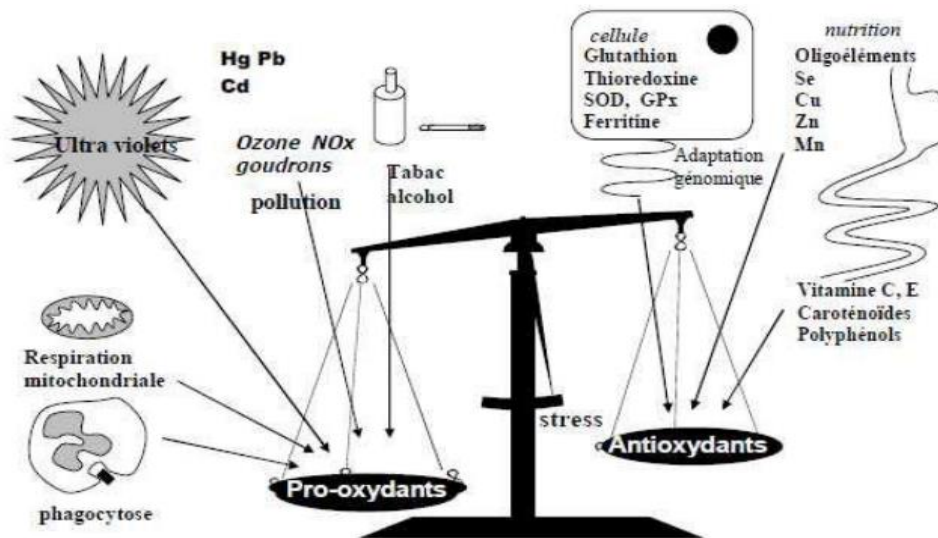
# *Chapitre I : Stress oxydatif*



## 1. Le stress oxydatif

### 1.1. Définition

Le stress oxydatif se définit par un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou de l'azote (ERN) ; (pro-oxydants) et des systèmes dites anti oxydants (Figure 1) (**Liguori *et al.*, 2018**). Il est impliqué dans plusieurs pathologies notamment le cancer (oxydation de l'ADN), les maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) et dans le diabète sucré (**Haleng *et al.*, 2007**).



**Figure 1** : Déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les pro-oxydants (**Favier, 2006**).

### 1.2. Source du stress oxydatif

Par divers mécanismes physiologiques, la production des radicaux libres, à des doses raisonnables, a un rôle bénéfique pour l'organisme. Dans les conditions normales, la teneur pro oxydants/antioxydants est équilibré. L'excès de ces radicaux par un déficit des antioxydants, fait appel au « stress oxydatif ».

Les générateurs puissants de stress oxydatif sont :

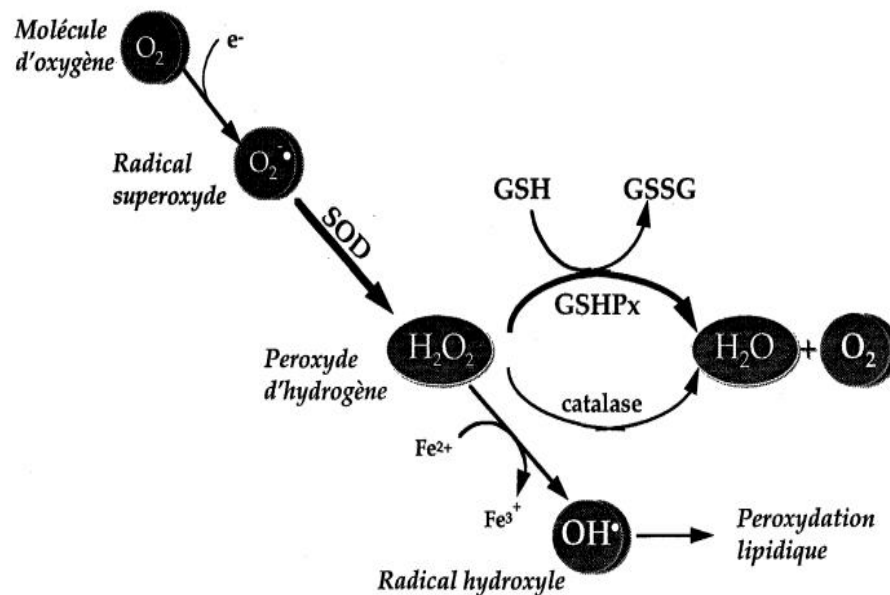
- ✗ Les réactions inflammatoires, (la production élevée des agents pro oxydants) ;
- ✗ L'exposition aux alcools, tabac, rayon ultraviolette, le contact avec les agents cancérigènes et aux polluants (**Favier, 2003**).

## 2. Les radicaux libres

### 2.1. Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, réactives constituent des électrons non appariés dans leurs orbitales externes et capables d'endommager les composants cellulaires. Son accumulation suggère qu'ils peuvent contribuer à diverses entités pathologiques (Southorn et Powis, 1988).

La formation des radicaux libres tel que le superoxyde et l'hydroxyle est le résultat normal du métabolisme aérobie chez l'être humain. Toutefois, un déséquilibre entre les mécanismes de défense antioxydante et la production de radicaux libres conduit à un stress oxydatif pouvant entraîner des altérations moléculaires et cellulaires (figure 2 et 3) (Goudable *et al.*, 1997).



**Figure 2** : les principales étapes de la production des espèces réactives de l'oxygène (Goudable *et al.*, 1997)

Radicaux Caractéristiques	Mode d'action
<p><b>Radical superoxyde <math>O_2^{\cdot -}</math></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Constante de vitesse faible</li> <li>- Très peu réactif</li> <li>- Toxicité indirecte</li> </ul>	<p><b>1) Action de la SOD</b>  <math>O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} \rightarrow H_2O_2 + O_2</math></p> <p><b>2) Formation <math>\cdot OH</math> (Haber-Weiss)</b>  <math>O_2^{\cdot -} + Fe^{3+} \rightarrow O_2 + Fe^{2+}</math>  <math>H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + Fe^{3+} + \cdot OH</math>  <math>O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \rightarrow \cdot OH + \cdot OH</math></p> <p><b>3) Dismutation non catalysée</b>  <math>HO_2^{\cdot} + HO_2^{\cdot} \rightarrow H_2O_2 + O_2</math>  <math>HO_2^{\cdot} + O_2^{\cdot -} (+ H^+) \rightarrow H_2O_2 + O_2</math></p> <p><b>4) Formation de peroxynitrite</b>  <math>O_2^{\cdot -} + \cdot NO \rightarrow OONO^{\cdot -}</math></p>
<p><b>Radical hydroxyle <math>\cdot OH</math></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Constante de vitesse élevée</li> <li>- Réaction limitée par la diffusion</li> <li>- Pas de cible privilégiée</li> <li>- Faible durée de vie</li> </ul>	<p><b>1) Arrachement d'un électron</b>  <math>\cdot OH + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + Fe^{3+}</math></p> <p><b>2) Arrachement d'un atome d'hydrogène</b>  <math>\cdot OH + RH \rightarrow R^{\cdot} + H_2O</math></p> <p><b>3) Addition sur des doubles liaisons</b>  <math>\cdot OH + &gt;C = C &lt; \rightarrow &gt;C-C(OH)-</math></p>

**Figure 3** : les principales réactions des radicaux libres (Migdal et Serres, 2011).

Le Tableau 1 présent les principaux radicaux libres des espèces réactives de l'oxygène

**Tableau 1** : Les principaux radicaux libres (espèce réactives de l'oxygène) (Bonfont-Rousselot, 2004)

Oxygène	$O_2$
Oxygène singulet	$^1O_2$
Radical hydroxyle	$\cdot OH$
Anion super oxyde	$O_2^{\cdot -}$
Radical peroxyde	$ROO$
Radical hydroperoxyde	$HOO$
Hydroperoxyde	$ROOH$
Radical oxyde nitrique	$NO^{\cdot}$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$

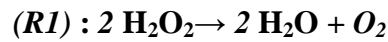
### 3. Système de défense antioxydant

Les antioxydants sont des substances qui agissent, même en concentration infime pour retarder ou inhiber l'oxydation d'un substrat. Il existe beaucoup d'espèces ou molécules, exogènes ou endogènes qui ont un rôle dans la lutte contre les oxydants et peuvent être considérées comme étant des biomarqueurs du stress oxydatif (Khanna, 2000).

### 3.1. Système antioxydants enzymatique

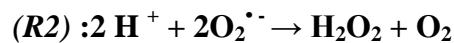
#### ✚ La catalase

C'est une enzyme (EC 1.11.1.6), qui catalyse la dégradation du peroxyde (R1) (**Matés *et al.*, 1999 ; Chelikani *et al.*, 2004**).



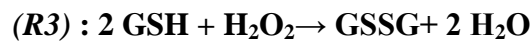
#### ✚ La superoxyde dismutase

C'est une métalloprotéine (SOD, EC : 1.15.1.1) capable de former le peroxyde d'hydrogène à partir de deux molécules superoxydes selon la réaction suivante (R2) (**Garrel *et al.*, 2012 ; Halliwell et Gutteridge, 2015**).



#### ✚ Glutathion peroxydase :

C'est une enzyme (EC 1.11.1.9) qui accélère la dismutation du  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Au cours de cette réaction l'oxydation du glutathion réduit (GSH) donne la glutathion-disulfure (GSSG) selon la réaction suivante (R3) (**Mills *et al.*, 1958**) :

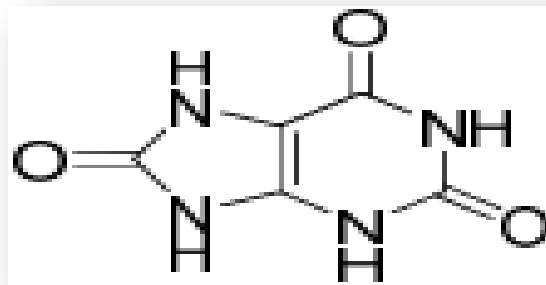


### 3.2. Système antioxydants non enzymatique

#### 3.1.1 Système antioxydants endogènes

##### ✚ L'acide urique

C'est un antioxydant puissant, un piègeur d'oxygène singulet et de radicaux hydroxyles et peroxydes. Il interagit avec les espèces réactives oxygénés afin de générer des radicaux moins réactifs que le  $\text{HO}^\bullet$  (Figure 4) (**Belkheiri, 2010**), **Ames *et al.*, 1981**).



**Figure 4** : Structure de l'acide urique

### ✚ Le glutathion :

C'est un tripeptide qui regroupe l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Il contient majoritairement la fonction thiol au niveau intracellulaire (**Migdal et Serre, 2010**). Sa fonction principale se réside dans la peroxydation des lipides au niveau membranaire de la cellule (Figure 5) (**Kerksick et Willoughby, 2005**).

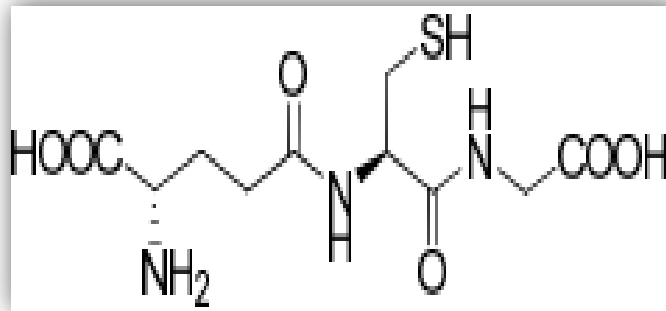


Figure 5 : Structure du glutathion

### 3.1.2 Système antioxydants exogènes

#### ✚ Les caroténoïdes

Ce sont des antioxydants liposolubles, dont le bêta-carotène est l'antioxydant le plus étudié pour éteindre l'oxygène moléculaire singulet (**Di Mascio et al., 1991**).

#### ✚ L'albumine

Il représente l'antioxydant le plus abondant et le plus important. Il a un rôle dans l'antioxydation des protéines (Figure 6) (**Roche et al., 2008**).

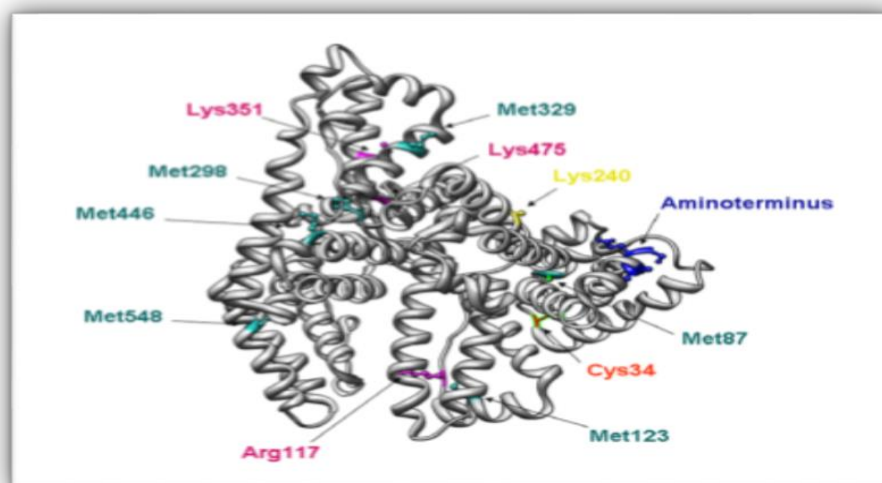
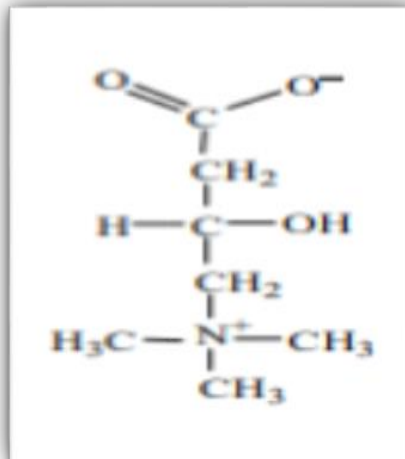


Figure 6 : Les principaux sites d'activité antioxydante de l'albumine (**Roche et al., 2008**)



**✚ L-carnitine :**

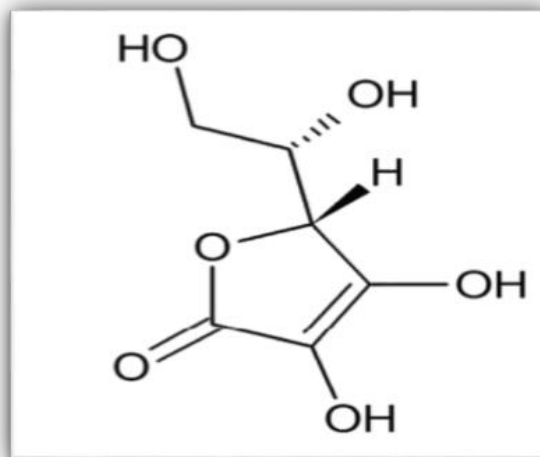
L'acide L-3-hydroxy-4-N-triméthylaminobutyrique forme des esters avec une large gamme de groupes acyle et fonctionne pour excréter et transporter ces groupes (Figure 7) (Ramsay, 2001)



**Figure 7 :** Structure de la L. carnitine (Gülcin, 2006).

**✚ Acide ascorbique**

La fonction principale de l'acide ascorbique est de conserver certaines enzymes dans leurs formes réduites et protège les tissus contre les oxydants nocifs (Figure 8) (Padh, 1990).



**Figure 8 :** Structure de l'acide ascorbique (Caritá, 2019)

#### **4. Méthodes d'étude de l'activité antioxydante *in vitro***

Parmi les méthodes les plus utilisées *in vitro* pour la détermination de l'activité antioxydante :

##### **4.1. Test de piégeage de 2,2-diphényl picrylhydrazyl (DPPH<sup>·</sup>)**

Le radical DPPH<sup>·</sup> est réduit en hydrazine lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. Un virage de couleur de la forme oxydé (bleu-violette) à la forme réduite (jaune) est observé au cours de cette réaction (Miladovic *et al.*, 2006)

##### **4.2. Test de réducteur de fer (FRAP) : Ferric Reducing Antioxidant Power**

Ce test est basé sur un changement de coloration d'ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>) à l'ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>), par transfert d'électrons (Benzie et Strain, 1996).

##### **4.3. Test ABTS (acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)**

Cette méthode est basée sur la décoloration appliquée pour les antioxydants lipophiles et hydrophiles. L'oxydation de l'ABTS avec du persulfate de potassium génère l'ABTS<sup>·+</sup> et réduite en présence d'un donneurs d'hydrogène (Re *et al.*, 1999).

##### **4.4. Test de Capacité antioxydante totale (CAT)**

La mesure de la capacité antioxydante regroupe l'ensemble des antioxydants trouvés dans les fluides corporels et le plasma. Cette mesure plasmatique aide à évaluer les facteurs physiologiques, et nutritionnels et environnementaux du statut redox chez l'être humain (Ghiselli *et al.*, 2000).

##### **4.5. Test de blanchissement du bêta-carotène**

Les radicaux peroxydes générés par l'oxydation de l'acide linoléique abouti à l'oxydation de la beta carotène. Ce test se caractérise aussi par une disparition de la couleur rouge (Barros *et al.*, 2007).

##### **4.6. La Méthode de TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)**

Elle se base sur la mesure quantitative du teneur total des antioxydants secondaires d'un fluide biologiques. La technique pourrait être représentée par des protéines, notamment l'albumine (Wayner *et al.*, 1985).



*Chapitre II :  
Composés  
phénoliques*

## 1. Composés phénoliques

### 1.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, possédant un ou plusieurs groupements phénoliques avec différentes fonctions tels que l'hydroxyle. Ils sont largement utilisés en thérapie comme anti-inflammatoires, vasculoprotecteurs, inhibiteurs enzymatiques, anti radicalaires et antioxydants (**Bahorun, 1998**).

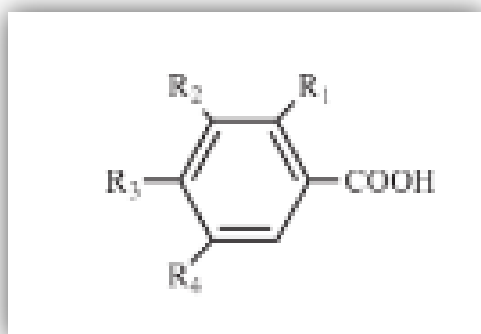
### 1.2. Classification

Ils constituent la famille des molécules majoritaires dans le règne végétal (**Nkhili, 2009**).

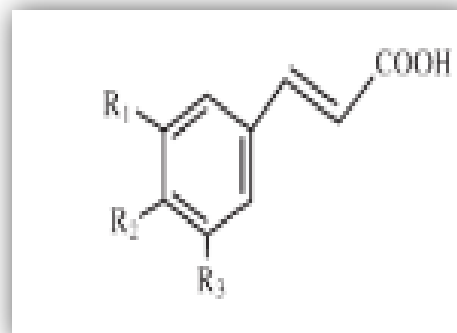
On distingue plusieurs familles de composés phénoliques :

#### 2.1.1 Acides phénoliques

Ce sont des composés possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Jean, 2008**). Ils se dérivent en acides hydroxybenzoïques et en acides hydroxycinnamiques (Figure 9) (**Micheix et al., 2005**)



a : acide hydroxybenzoïque

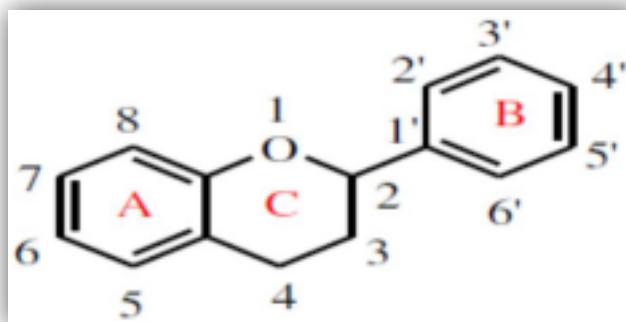


b : acide hydroxycinnamique

**Figure 9** : les principaux acides phénoliques (**Micheix et al., 2005**)

#### 2.1.2 Les flavonoïdes

Ils désignent des pigments ayant un squelette (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). (**Macheix, 2005**). Ce sont des produits largement répandus chez les végétaux. Ils sont capables de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires et moduler l'activité de certaines enzymes (Figure 10) (**Ghedira, 2005**).

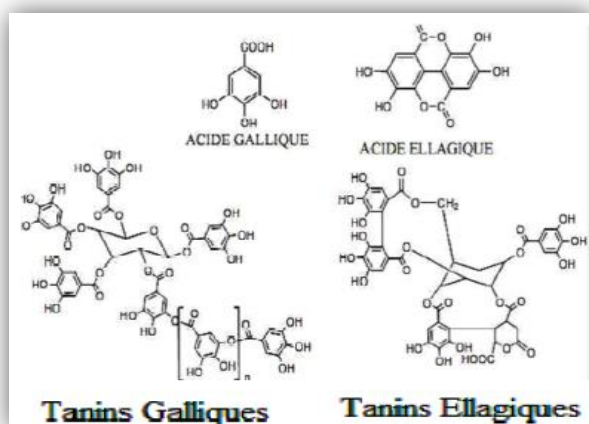


**Figure 10** : Squelette de base des flavonoïdes (**Richard *et al.*, 2014**).

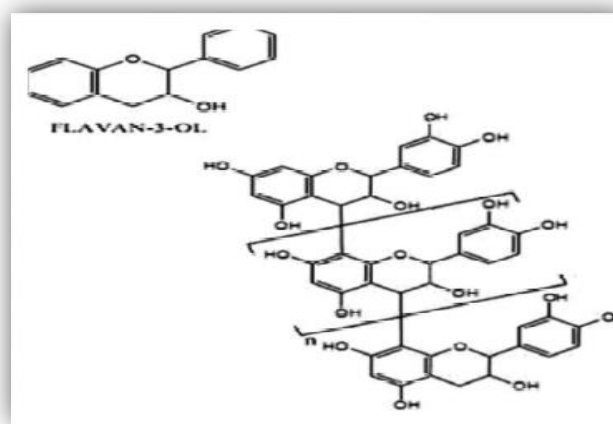
### 2.1.3 Les tanins

Ce sont des composés poly phénoliques (**Douat,1978**), connu par la capacité de précipiter les protéines (**Bruneton 2009**). Ils ont un poids moléculaire de 500 à 3.000 Daltons, et ils sont divisés en deux classes :

- ❖ Tanins hydrolysables ou pyrogalliques (Figure11)
- ❖ Tanins condensés ou non hydrolysables (Figure 12) (**Peronny, 2005**).



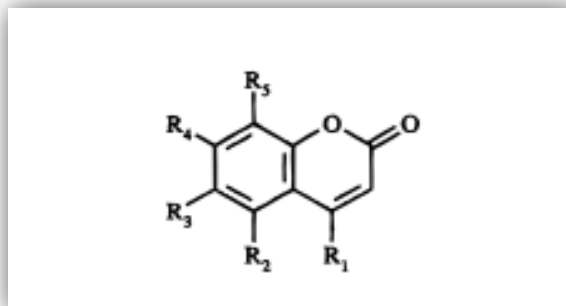
**Figure 11** : Structure des tanins hydrolysables



**Figure 12** : Structure des tanins condensés

### 2.1.4 Les coumarines

Ces composés constituent d'un cycle benzénique liée à un cycle pyrone (**Jain *et al.*,2012**) ces produits naturels d'origine végétale connus par ses propriétés pharmacologiques (**Venugopala *et al.*, 2013**).



**Figure 13 :** Représentation chimique de coumarine (Foti *et al.*, 1996)

### 2.1.5 Les stilbènes

Les stilbènes est une classe de composés phénoliques présente dans diverses plantes comestibles. Leurs bénéfices et leurs bioactivité potentielle pour la santé humaine fait l'objet de plusieurs études biologiques (El Khawand *et al.*, 2018).

## 2. Composés phénoliques et l'activité antioxydante

Les composés phénoliques ont un rôle bénéfique comme antioxydants qui peuvent piéger les espèces réactives de l'oxygène nuisibles, notamment  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}$  et  $^1\text{O}_2$ . Chez les végétaux, ces composés phénoliques agissent comme des antioxydants en donnant des électrons aux peroxydases afin de détoxifier le  $\text{H}_2\text{O}_2$  produit dans des conditions de stress oxydatif. Les composés phénoliques dans les cellules végétales peuvent former un système antioxydant équivalent à celui de l'acide ascorbique (Sakihama *et al.*, 2002).


Les flavonoïdes participent aussi dans l'activité antioxydante par différents mécanismes : La suppression de la formation des ERO par chélation des ions métalliques, implication dans leur production, ou par l'inhibition de quelques enzymes, ou bien le piégeage direct des ERO et la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Boudiaf, 2006).

## 3. La relation entre le diabète sucré et le stress oxydatif

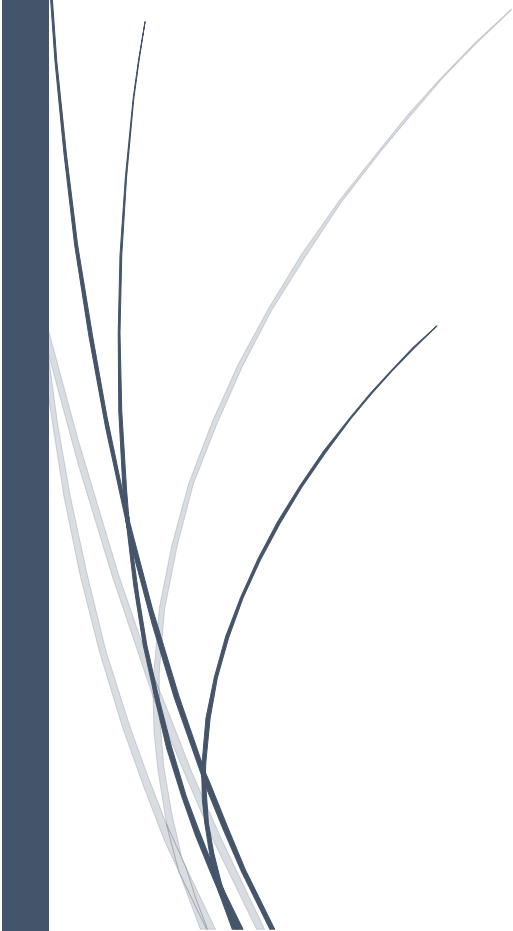
La plupart des études montrent que le stress oxydatif induit chez les diabétiques une altération des systèmes enzymatiques, la peroxydation lipidique, une diminution des niveaux de vitamine C et une altération du métabolisme du glutathion.

Les protéines, les lipides, les dommages à l'ADN, le glutathion, la superoxyde dismutase et la catalase sont les divers biomarqueurs du stress oxydatif dans le diabète sucré. Les complications du diabète sucré, induites par le stress oxydatif peuvent provoquer une rétinopathie, une neuropathie et une néphropathie ((**Liguori *et al.*, 2018**)).

La perte d'homéostasie redox touche les cellules hépatiques et participe à des voies profibrotiques et pro-inflammatoires qui favorisent des altérations de la signalisation métabolique de l'insuline (**Whaley-Connell, 2019**) et génère par la suite le diabète sucré (**Lucchesi *et al.*, 2013**).

A dark blue vertical bar is positioned on the left side of the page. A blue arrow points horizontally from the bar towards the right, pointing towards the title text.

*Chapitre III : plante  
étudiée (Anacyclus  
pyretrum)*





## 2. La famille des Astéracées

Les Astéracées regroupent la famille des plantes à fleurs. Elles jouent un rôle prépondérant dans les écosystèmes terrestres existants, avec près de 1500 genres et pas loin de 23 000 espèces (**Barkley *et al.*, 2006**).

Ce sont des plantes angiospermes dicotylédones appartenant aux sous classes des gamopétales et à l'ordre des Astérales (**Barkley, 2006**). Elles se localisent presque partout dans le monde (**Barreda *et al.*, 2015**).

Les Astéracées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces. Dans la grande majorité des cas, ce sont des plantes herbacées. Elles sont également représentées par des arbustes ou des arbres (**Barkley, 2006**).

La fleur des Astéracées est très particulière : les étamines sont soudées par leurs anthères vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des brosses à pollen. Une fois que le stigmate traverse le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut considérer qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété (**Figure 14**) (**Boutaghane, 2013**).



(a)



(b)



(c)

**Figure 14** : Types des fleurs des Astéracées

a : fleur tubulée au centre et ligulées sur le pourtour    b : fleur toute ligulée

c : fleur tubulée (**Mezach, 2010**)

### 3. *Anacyclus pyrethrum*

#### 3.1. Nom vernaculaires

- ✗ Anglais : Spanish pellitory (**Gautam et al., 2011**).
- ✗ Français : Pyrèthre d'Afrique (**Selles, 2012**).
- ✗ Arabe : Oud el 'attas, Agargarha (**Gautam et al., 2011**).

#### 3.2. Position systématique

Le pyrèthre peut être classé selon la systématique suivante :

- ✗ Règne : Plantae
- ✗ Division : Spermatophyta,
- ✗ Sous division : Angiospermae,
- ✗ Classe : Dicotyledoneae
- ✗ Sous classe : Metachlamydae,
- ✗ Ordre : Comanulatae,
- ✗ Famille : Asteraceae,
- ✗ Genre : *Anacyclus*,
- ✗ Espèce : *pyrethrum* (**Usmani et al., 2016**).

#### 3.3. Description botanique

*Anacyclus pyrethrum* est une plante de 7 à 15 cm de longueur, avec des racines cylindriques de couleur brune (**Kumar et al., 2012**). Elles sont ridées extérieurement, légèrement tordues et effilées et souvent couronnées d'une touffe de poils gris (**Figure 15a**) (**Bentley, 2002**). Les feuilles sont finement découpées, alternes et délicates et sont couvertes de poils courts et fins.

Les fleurs sont blanches aux cœurs jaunes, ordinairement solitaires (**Bentley, 2002**). Ses fleurs sont composées de pétales blancs à l'intérieur, et de pétales violets à l'extérieur (**Figure 15b**) (**Cherrat, 2017**).

Les racines présentent un goût piquant et un odorat léger (**Bentley, 2002**). Ils contiennent des huiles essentielles avec une sensation de picotement sur la langue, d'où son autre nom « Salivaire ». Son odeur fait appel aux racines de la réglisse (**Humphries et al., 1979**).



(a)

(b)

**Figure 15 :** *Anacyclus pyrethrum* : (a) Racines, (b) Fleurs (Usmani *et al.*, 2016).

### 3.4. Répartition géographique

L'origine d'*Anacyclus pyrethrum* est l'Afrique du Nord. Elle est répartie beaucoup plus en Algérie, le Maroc et même en Espagne (Ehrendorfer *et al.*, 1977)

### 3.5. Utilisation Traditionnelle

L'*Anacyclus pyrethrum* est utilisée dans la médecine populaire pour traiter plusieurs maladies comme analgésique, anti rhumatismal, antibactérien, carminative, antiviral, emménagogue, améliore la digestion, fébrifuge, vermifuge, nervine et sialagogue (Usmani *et al.*, 2016).

Les racines sont utilisées et connues comme antidiabétique, immunostimulant, aphrodisiaques, antimicrobienne, anesthésiant local, ainsi comme un tonique pour le système nerveux, les maux de dents, les affections rhumatismales et la rhinite (Khare, 2008 ; Usmani *et al.*, 2016). Elles agissent également comme un agent de réchauffement pour améliorer les femmes fécondantes (Cherrat, 2017).

De même, la pharmacopée ayurvédique de l'Inde indique l'utilisation des racines dans le traitement de paralysie, hémiplégie, sciatique et aménorrhée (Khare, 2008).

En Algérie, les racines d'*A. Pyrethrum* sont utilisées dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles, pour le traitement des maladies de foie et également pour les infections respiratoires (Bellakhdar, 1997).

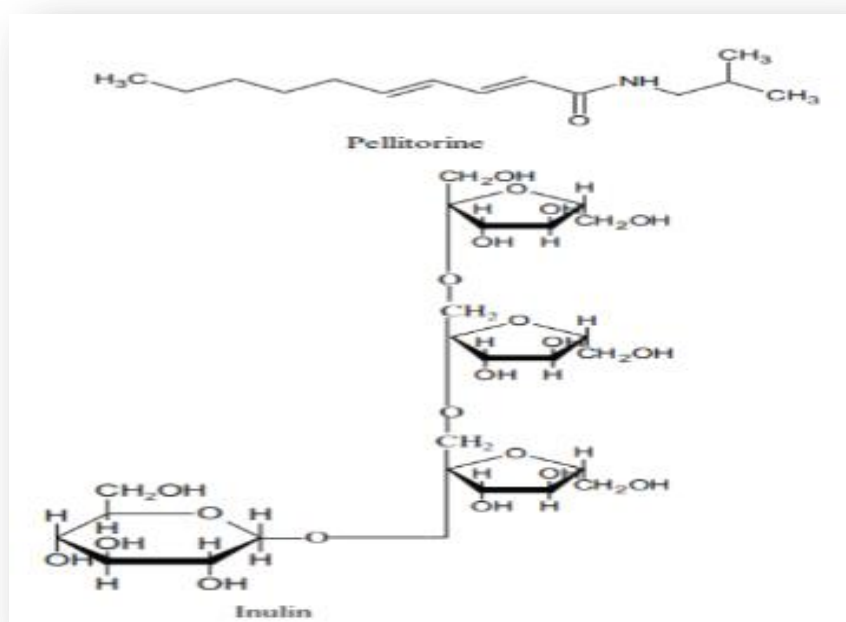
### 3.6. Composition chimique

Les sesquiterpènes sont les composés majoritaires qui constituent l'huile essentielle d'*A. Pyrethrum* (Selles *et al.*, 2013).

Le criblage phytochimique d'*Anacyclus pyrethrum* a conduit à l'identification de divers métabolites secondaires dans la plante entière. Les parties aériennes (feuilles et fleurs) sont riches en tanins, flavonoïdes et coumarines (Cherrat, 2017 ; Manouze *et al.*, 2017).

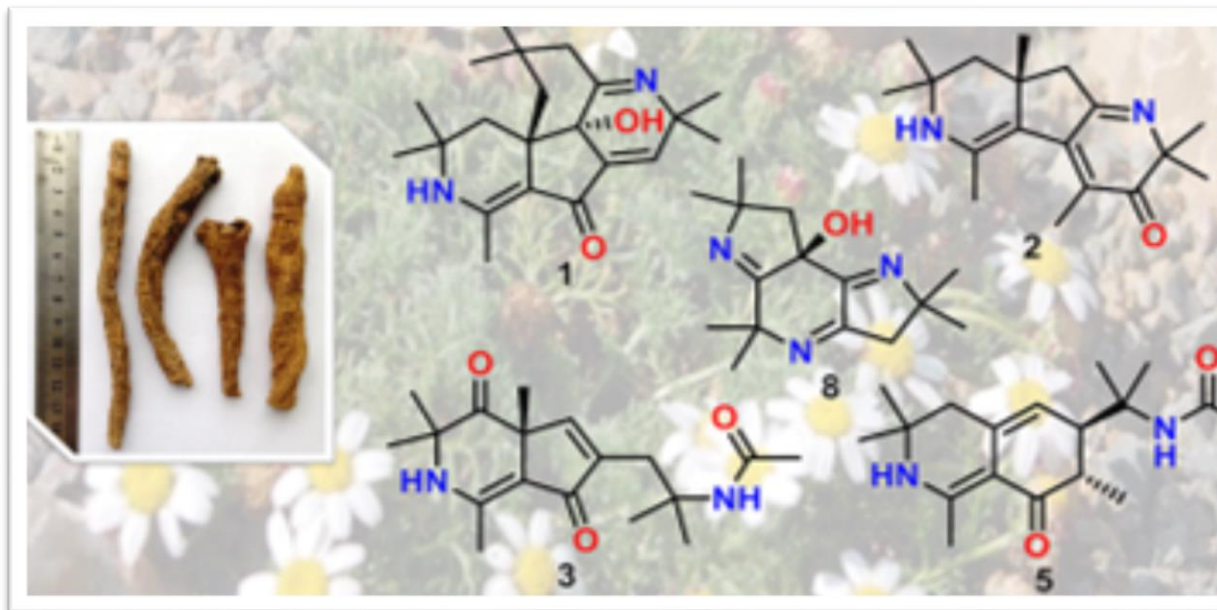
Les phytoconstituants les plus importants présents dans les racines sont les polysaccharides (Bendjeddou *et al.*, 2003) et le N-isobutyl dienedynamide (Bendjeddou *et al.*, 2003 ; De Spiegeleer *et al.*, 2011 ; Boonen *et al.*, 2012).

Les racines sont riches, aussi, en alcaloïdes (Cherrat, 2017). Elles contiennent de l'anacycline, l'isobutylamide, Pellitorine, hydrocaroline, inuline (50%) (Figure 16) des traces d'huile volatile (Khare, 2008 ; Selles *et al.*, 2012b) et du lignane (y compris la sésamine) (Gulland et Hopton, 1930).



**Figure 16** : les composants phytochimiques majoritaires des racines d *Anacyclus pyrethrum*. a : Pellitorine, b : inuline (Enema *et al.*, 2018)

Une autre étude récente montre la présence des nouveaux dérivés de pipéridine, qui sont les pyracyclumines racémiques isolés des racines d'*Anacyclus pyrethrum* (Figure 17) (Chen *et al.*,2018)



**Figure 17 :** Les pyracyclumines racémiques (Chen *et al.*,2018)

1 Pyracyclumines A    2 Pyracyclumine B    3 Pyracyclumine C    5 Pyracyclumines  
8 Pyracyclumines E

### 3.7. Les travaux antérieurs sur *A. pyrethrum*

Le tableau ci-dessous regroupe une synthèse des travaux de recherche des activités biologiques réalisées sur les différents extraits préparés des différentes parties *A. pyrethrum*.

**Tableau 02** : Activités biologiques des différents extraits préparés des différentes parties *A. pyrethrum*.

L'activité	Partie et extraits étudiés	Les références
Antidiabétique	Extrait aqueux des feuilles.	Allali <i>et al.</i> , 2008
	Extrait aqueux des racines.	Selles <i>et al.</i> , 2012b Tyagi <i>et al.</i> , 2011
Antioxydante	Extrait méthanolique (50%) des racines.	Kalim <i>et al.</i> , 2010
	Extrait méthanolique de la partie aérienne.	Selles <i>et al.</i> , 2012a
	Les extraits aqueux et méthanolique des racines.	Manouze <i>et al.</i> , 2017
Immunitaire	Extrait aqueux des racines.	Bendjeddou <i>et al.</i> , 2003
Tonique au système nerveux	Extrait aqueux des racines.	Sharma <i>et al.</i> , 2009
Antidépresseur	Extrait hydroalcooliques des racines.	Badhe <i>et al.</i> , 2010
Amélioration de la mémoire	Extrait éthanolique des racines.	Sujith <i>et al.</i> , 2012
Anticonvulsivant	Extrait hydroalcoolique des racines.	Pahuja <i>et al.</i> , 2012
	Extrait éthanolique des racines.	Zaidi <i>et al.</i> , 2013
La fertilité	Extrait éthanolique des racines.	Sharma <i>et al.</i> , 2013
Antibactérienne, Antifongique.	L'huile de la partie aérienne obtenue par hydrodistillation a montré une activité contre <i>Candida albicans</i> et les souches de bactéries <i>Staphylococcus aureus</i>	Selles <i>et al.</i> , 2013

---

*Partie*  
*expérimentale*

---



*Chapitre :  
Matériel et  
Méthodes*



Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologiques (**LAPSAB**), Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen).

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante de l'extrait Eau-méthanol et sa fraction organique acétate d'éthyle des racines de *Anacyclus pyrethrum* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer par la méthode FRAP.

### 1. Matériel végétal

Notre étude est portée sur la plante d'*Anacyclus pyrethrum*, récoltée dans la région EL Abed, la Wilaya de Tlemcen en mois de Février 2020. Seule la partie souterraine a été utilisée lors de la présente étude.

Les racines d'*Anacyclus pyrethrum* ont été récoltées, puis séparées de tous débris et lavées afin d'éliminer toutes les traces de poussières et d'impuretés. Elles ont été séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité et à une température ambiante (Figure 18).



**Figure 18 :** Racines d'*Anacyclus pyrethrum* récoltées dans la région d'El Abed, Wilaya de Tlemcen

## 2. Préparation d'extrait

### 2.1. Décoction en milieu hydro-méthanolique

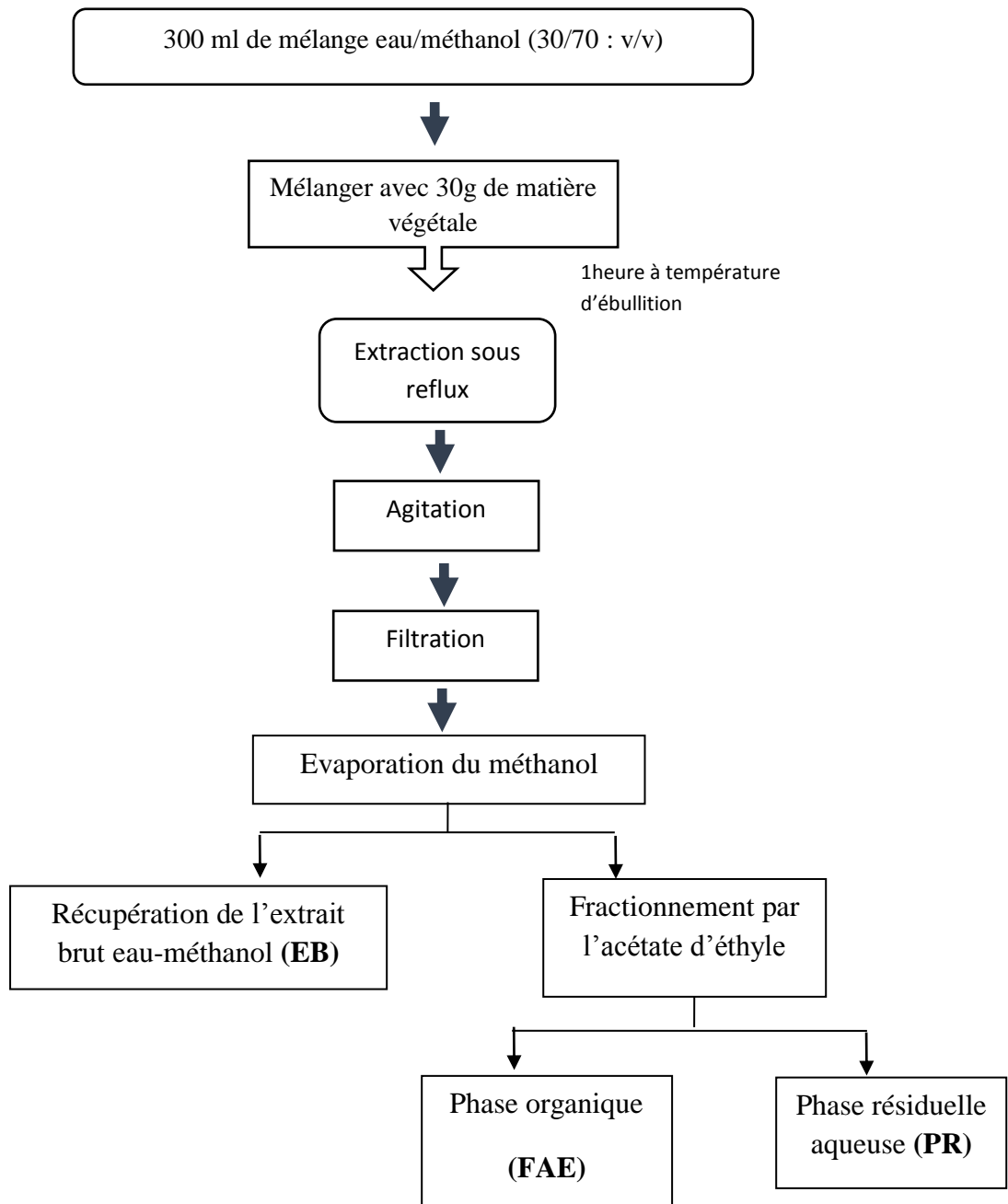
- ✚ Dans un ballon rodé, versé 300ml d'un mélange eau-méthanol (30/70 : v/v) sur 30g des racines séchées et broyées d'*Anacyclus pyrethrum* ;
- ✚ Agiter et mettre l'ensemble à reflux, à une température d'ébullition, pendant une heure ;
- ✚ Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.
- ✚ Récupération de l'extrait brut hydro-méthanolique
- ✚ Le méthanol du filtrat récupéré est soumis à une évaporation à sec à l'aide d'un Rotavapor
- ✚ L'extrait obtenu est séché à sec dans une étuve à 37°C

**L'extrait brut eau-méthanol (EB) est récupéré et conservé à l'abri de la lumière.**

### 2.2. Fractionnement par l'acétate d'éthyle :

- ✚ A l'aide d'une ampoule à décanté, l'extrait récupéré après élimination du méthanol est fractionné par l'acétate d'éthyle (v/v) ;
- ✚ Le mélange est bien agité, dégazé et laissé décanter ;
- ✚ Après apparition des deux phases, la phase organique acétate d'éthyle est récupérée ;
- ✚ L'opération est répéter trois fois ;
- ✚ L'acétate d'éthyle de la phase organique est évaporé à sec à l'aide d'un Rotavapor à 60°C et la phase résiduelle aqueuse est séchée dans une étuve à 37°C (Figure 19).

**La fraction organique acétate d'éthyle (FAE) et la phase résiduelle (PR) sont récupérées et conservées à l'abri de la lumière.**



**Figure 19** : Schéma récapitulatif de préparation des extraits d'*Anacyclus pyrethrum*

### 2.3. Calcul du rendement d'extraction (%) :

Les rendements obtenus à partir de cette extraction hydrométhanolique des racines d'*Anacyclus pyrethrum* est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\text{Rds (\%)} = (a/b) \times 100$$

Rds (%) : rendement (%)

a : masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu.

b : masse en gramme « g » du matériel végétal.

## 3. Etude phytochimique

### 3.1. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont des tests qualitatifs permettant de déterminer les composés chimiques trouvés dans les extraits de plantes. La détection de ses composés chimiques est basée sur des réactions de coloration ou de précipitation.

Ces tests ont été menés selon les techniques de caractérisation qualitatives décrites par (Bruneton, 1999)

#### Les composés azotés

##### ➤ Les alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

#### 3.1.1 Les composés phénoliques

##### ➤ Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> (1%). Incuber le mélange pendant 15 min à une température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

➤ **Les flavonoïdes**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

➤ **Les quinones**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml du NaOH (1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

➤ **Anthraquinones**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

### 3.1.2 Les composés terpéniques

➤ **Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur persistante supérieure à 1cm de mousse indique la présence de saponines.

➤ **Terpénoïdes : Test de Slakowski**

Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

### 3.2. Dosage des composés phénoliques

#### 3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

✓ **Principe :**

Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (MO<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration présente un maximum d'absorption à 725 nm dont l'intensité de coloration est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés présents dans l'échantillon (**Boizot et Charpentier, 2006**).

✓ **Mode opératoire :**

Le dosage a été réalisé selon le protocole décrit par **Ardestani et Yazdanparast (2007)**,

- Mélanger 0,1ml de chaque extrait (1mg/ml) avec 2ml d'une solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 2%) ;
- Agiter les tubes ;
- Incuber pendant 5 minutes à température ambiante ;
- Ajouter 100  $\mu\text{l}$  du réactif de Folin Ciocalteu (0,2 N) ;
- Incuber pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- Mesurer l'absorbance à 725 nm contre le tube blanc.

Une gamme étalon a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (50 ; 150 ; 200 ; 250 ; 300 ; 350 ; 400 et 450 $\mu\text{g/ml}$ ) (Tableau 3).

**Tableau 3** : Méthode de dosage des polyphénols totaux

	Gamme d'étalonnage (acide gallique $\mu\text{g/ml}$ )										Extrait (1mg/ml)	
	Blanc	50	100	150	200	250	300	350	400	450	EB	FAE
<b>Acide gallique (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-	-
<b>Eau distillée (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Extraits (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100
<b><math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math> (2%) (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
<b>1<sup>ère</sup> incubation pendant 5 min à température ambiante</b>												
<b>Folin-Ciocalteu 0,2N (<math>\mu\text{l}</math>)</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>2<sup>ème</sup> incubation à l'abri de la lumière pendant 30 min</b>												
<b>Mesure de l'absorbance à 725 nm</b>												

**EB** : Extrait brut ; **FAE** : Fraction acétate d'éthyle.

La teneur en polyphénols totaux est exprimée en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG/ mg E}$ ).

### 3.2.2. Dosage des flavonoïdes

#### ✓ Principe

Les flavonoïdes sont quantifiés par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la soude ( $\text{NaOH}$ ). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes. En présence de la soude ce complexe devient rose et absorbe dans le visible à 515nm (**Kim *et al.*, 2003**).

#### ✓ Mode opératoire

Le dosage de flavonoïdes a été réalisé selon le protocole de **Miliauskas *et al.* (2004)** :

- Mélanger 250  $\mu\text{l}$  de chaque extrait (1mg/ml) avec 1 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 75 $\mu\text{l}$  d'une solution de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$  à 15 %) ;
- Incuber pendant 6 minutes à température ambiante ;
- Ajouter 75 $\mu\text{l}$  de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$  à 10%) ;
- Incuber pendant 6 minutes à température ambiante ;
- Ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$  à 4 %) ;
- Compléter le volume total à 2,5ml avec l'eau distillée ;
- Agiter et incuber les tubes pendant 15 minutes à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 515 nm contre le tube blanc au spectrophotomètre.

Une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à différentes concentrations (50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 250 ; 300 ; 350 ; 400 $\mu\text{g/ml}$ ) (Tableau 4).

**Tableau 4** : Méthode de dosage des flavonoïdes

	Gamme d'étalonnage (catéchine µg/ml)									Extraits (1mg/ml)	
	Blanc	50	100	150	200	250	300	350	400	EB	FAE
<b>Catéchine (µl)</b>	-	250	250	250	250	250	250	250	250	-	-
<b>Extrait (µl)</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250
<b>Eau distillée (µl)</b>	1250	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
<b>NaNO<sub>2</sub> (15%) (µl)</b>	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
<b>1<sup>ère</sup> Incubation pendant 6 min à température ambiante</b>											
<b>AlCl<sub>3</sub> (10%) (µl)</b>	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
<b>2<sup>ème</sup> Incubation pendant 6 min à température ambiante</b>											
<b>NaOH (4%) (µl)</b>	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
<b>Eau distillée (µl)</b>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>3<sup>ème</sup> Incubation à l'obscurité pendant 15min</b>											
<b>Mesure de l'absorbance à 515 nm</b>											

**EB** : Extrait brut ; **FAE** : Fraction acétate d'éthyle.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme Equivalent Catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/ mg E).

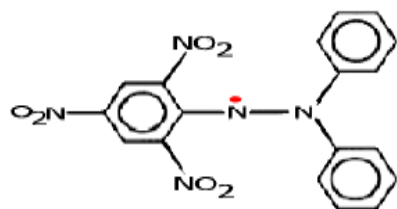
## 4. Evaluation de l'activité antioxydante

### 4.1. Piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl)

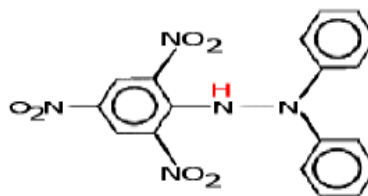
#### ✓ Principe :

Dans ce test les antioxydants réduisent un radical libre relativement stable, le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl), ayant une couleur violette, en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu (Figure 20) (Atoui *et al.*, (2005))





2,2 diphenyl-1-Picrylhydrazyl



2,2 diphenyl-1-Picrylhydrazine

**Figure 20** : Forme libre et réduit de DPPH<sup>•</sup> (Molyneux, 2004).

La recherche de l'activité antiradicalaire des extraits préparés des racines d'*Anacyclus pyrethrum* est réalisée selon le protocole décrit par (Atoui *et al.*, (2005)

✓ **Mode opératoire**

- 50 µl des solutions d'extraits à différentes concentrations de (1 à 5mg/ml) ont été ajoutés à 1950 µl DPPH (0,0025g fraîchement préparé dans du méthanol)
- Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µl de chaque concentration d'extrait et 1950 µl du méthanol.
- Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950µl de la solution méthanolique de DPPH.
- La lecture de l'absorbance est faite à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Dans les conditions, un contrôle positif représenté par l'acide ascorbique a été préparé.

✓ **Expression des résultats :**

**a. Pourcentage d'inhibition :**

$$I (\%) = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

I (%): Pourcentage d'inhibition.

A<sub>cont</sub> : Absorbance du contrôle négatif.

A<sub>éch</sub> : Absorbance du l'échantillon testé.

**b. Calcul de la  $CI_{50}$  :**

Le  $CI_{50}$  est définie comme étant la concentration de l'extrait qui représente l'inhibition de 50% du radical libre DPPH.

Il est calculé graphiquement par les équations de régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés. Il permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en  $CI_{50}$ .

**c. Calcul du pouvoir antiradicalaire :**

Les résultats peuvent être aussi exprimés en pouvoir antiradicalaire (PAR) déterminé par le calcul de l'inverse des  $CI_{50}$  qui est inversement proportionnelle à la concentration (**Maisuthisakul *et al.*, 2007**).

$$P_{AR} = 1/IC$$

- $P_{AR}$  : Puissance anti radicalaire
- $CI_{50}$  : Concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

**4.2. Réduction du fer par la méthode FRAP (FerricReducing Antioxydant Power)**✓ **Principe :**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) (**Karagözler *et al.*, 2008**).

✓ **Mode opératoire :**

- Mélanger 100 $\mu$ l de l'extrait à différentes concentrations (de 0,5 à 3 mg/ml) avec 250 $\mu$ l d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 250 $\mu$ l d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  (6%) ;
- Incuber l'ensemble à 50°C pendant 20 minutes dans l'étuve ;
- Laisser le mélange refroidis,
- Ajouter 250 $\mu$ l de l'acide trichloracétique TCA (10%) pour stopper la réaction ;
- Ajouter 500 $\mu$ l d'eau distillé ;

- Centrifuger l'ensemble à 3000 rpm pendant 10min ;
- Combiner 500 µl de surnageant avec 500µl d'eau distillée et 100µl d'une solution aqueuse de chlorure de fer FeCl<sub>3</sub> (0,1%)
- Mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits dans différentes concentrations (0,05 à 0,4 mg/ml) (**Ghanemi, 2019**)

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

✓ **Expression des résultats :**

**Calcul de l'EC<sub>50</sub> :**

L'EC<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration efficace de l'extrait qui donne une réponse demi-maximale.

L'EC<sub>50</sub> est calculé à partir des équations de régressions linaires des absorbances en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits de la plante étudiée. Il permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en EC<sub>50</sub>.

**5- Analyses statistiques**

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence. Comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse.

✓ La moyenne :

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

✓ L'écart type :

$$\sigma_x = \sqrt{Vx}$$



*Résultats et  
interprétations*

### 1. Caractéristiques des extraits préparés d'*Anacyclus pyrethrum*

L'extraction eau-méthanol (30/70 ; v/v), par décoction, des racines d'*A. pyrethrum*, suivie d'un fractionnement liquide-liquide par acétate d'éthyle, nous a permis de récupérer trois extraits secs : un extrait brut eau-méthanol (EB), une fraction organique acétate d'éthyle (FAE) et une phase aqueuse résiduelle (PR)

Les rendements d'extraction, la couleur, l'aspect et la solubilité de ses extraits obtenus sont regroupés dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Caractéristiques des extraits des racines d'*A. pyrethrum* préparés par décoction.

	<b>Extrait brut Eau-méthanol (EB)</b>	<b>Fraction acétate d'éthyle (FAE)</b>	<b>Phase résiduelle aqueuse (PR)</b>
<b>Le rendement (%)</b>	1,016	0,81	2,66
<b>La couleur</b>	Marron foncé	Marron clair	Marron clair
<b>L'aspect</b>	Pâteux	Pâteux	Pâteux
<b>La solubilité</b>	Eau distillé/DMSO	Eau distillé/DMSO	Eau distillé/DMSO

D'après les résultats obtenus nous avons noté que tous les extraits obtenus sont sous forme pâteux de couleur marron, soluble dans Eau distillé/DMSO.

La phase résiduelle aqueuse (PR) a présenté le rendement le plus élevé d'ordre de 2,66% suivie de l'extrait brut Eau-méthanol (EB) avec un rendement d'ordre de 1,016% et Fraction acétate d'éthyle (FAE) avec un rendement d'ordre de 0,81%.

### 2. Tests phytochimiques

La détection des différents composés des métabolites secondaires par des différents réactifs chimiques, se traduit par un changement de couleur, un précipité, la formation de la mousse...etc. Les résultats de l'analyse phytochimique réalisés sur les différents extraits sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 6** : résultats des tests phytochimique des différents extraits préparés des racines d'*A. pyrethrum*

	Test/Réactif	Extrait brut Eau-méthanol (EB)	Fraction acétate d'éthyle (FAE)
Alcaloïdes	Mayer	+	-
	Wagner	-	-
Tanins	Fe cl <sub>3</sub>	+	+
Flavonoïdes	Mgcl <sub>2</sub>	+	-
Quinones	NaOH (1%)	++	++
Anthraquinones	NH <sub>4</sub> OH (10%)	-	-
Saponines	Test de mousse	-	-
Terpénoïdes	Slawoski	++	+++

(+++ test fortement positif, (++) test moyennement positif, (+) test positif, (-) test négatif

D'après les résultats résumés dans le tableau 6, nous avons noté la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des quinones et des terpénoïdes dans l'extrait brut eau-méthanol et la présence des tanins, des quinones et des terpénoïdes dans la fraction acétate d'éthyle (FAE).

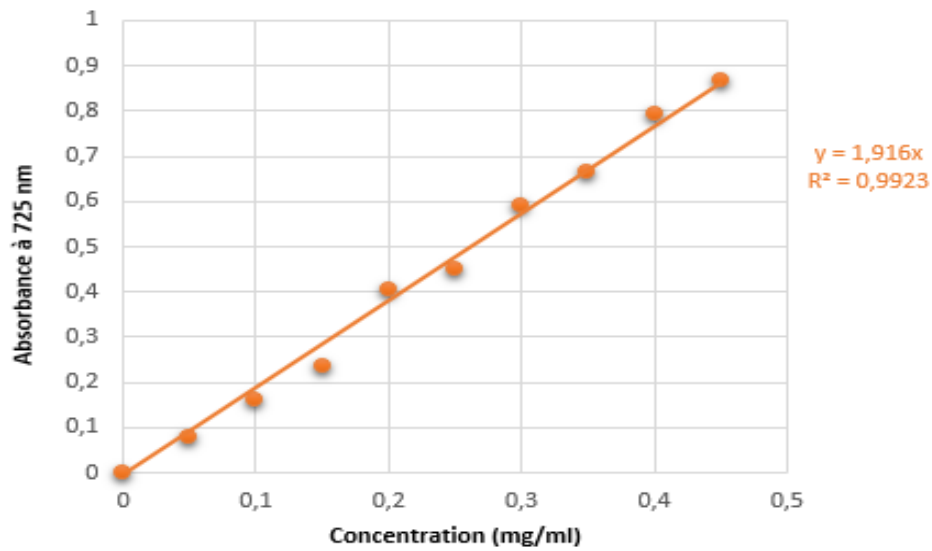
Par contre, nous avons enregistré l'absence des saponines et des anthraquinones dans les deux extraits préparés et l'absence des alcaloïdes et des flavonoïdes dans la fraction acétate d'éthyle (FAE)

### 3. Dosages des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes)

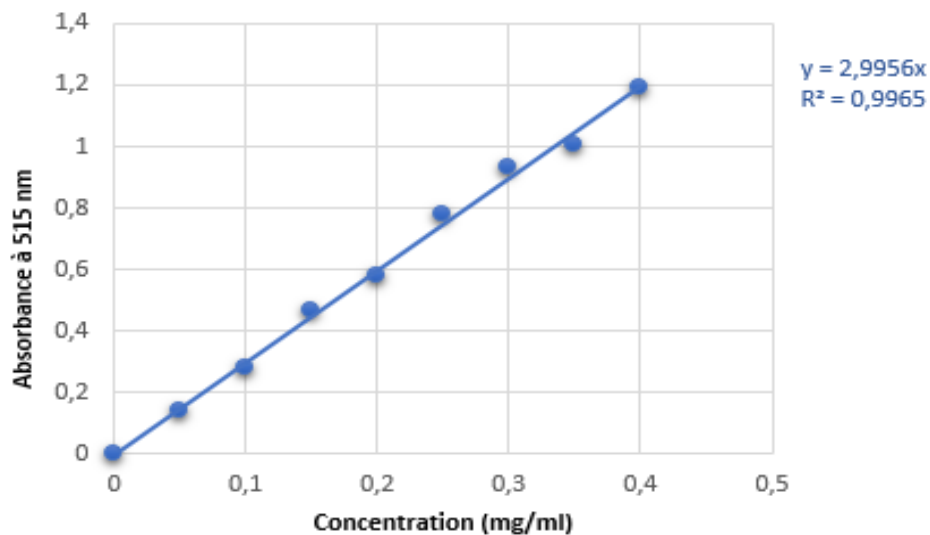
Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes sont déterminées par les méthodes spectrophotométriques, en utilisant le Folin-Ciocalteu pour le dosage des polyphénols totaux, et AlCl<sub>3</sub> et NaNO<sub>3</sub>, en milieu alcalin pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en composés phénoliques sont calculées à partir des équations linaires des courbes d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux et de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes (Figure 21 et 22).

L'unité prise en considération pour calculer les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux est le microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/ mg E) et le microgramme Equivalent catéchine par milligramme d'extrait (µg EC/ mg E) respectivement.



**Figure 21 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.



**Figure 22 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Le tableau 7 regroupe les teneurs en polyphénols totaux et des flavonoïdes déterminées à partir d'extrait brut eau-méthanol et sa fraction acétate d'éthyle, préparés des racines d'*A. pyrethrum*.

**Tableau 7** : Teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes), d'extrait brut eau-méthanol et sa fraction acétate d'éthyle, préparés des racines d'*A. pyrethrum*.

Extraits	Extrait brut Eau-méthanol (EB)	Fraction acétate d'éthyle (FAE)
Polyphénols totaux ( $\mu\text{g EAG/mg E}$ )	<b><math>206,6 \pm 0,007</math></b>	<b><math>209 \pm 0,007</math></b>
Flavonoïdes ( $\mu\text{g EC/mg E}$ )	<b><math>83,3 \pm 0,003</math></b>	<b><math>183,3 \pm 0,040</math></b>

Le dosage des polyphénols totaux a montré que les teneurs dans l'extrait brut et la fraction acétate d'éthyle sont presque identique avec des valeurs d'ordre de  **$206,6 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg E}$**  et  **$209 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg E}$** , respectivement.

Pour le dosage des flavonoïdes, nous avons noté que la fraction acétate d'éthyle (FAE) est hautement supérieur par rapport à l'extrait brut (EB) avec des teneurs d'ordre de  **$183,3 \pm 0,04 \mu\text{g EC/mg E}$**  et  **$83,3 \pm 0,003 \mu\text{g EC/mg E}$** , respectivement.

#### 4. Recherche d'activité antioxydante de l'extrait d'*Anacyclus pyrethrum*

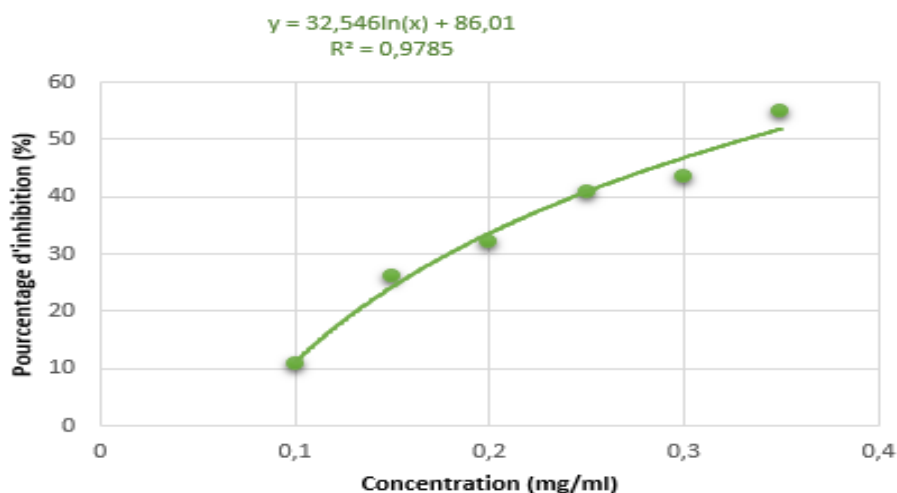
##### 4.1. Piégeage du radical DPPH

Grace à la capacité de réduire les radicaux libres DPPH, nous avons pu déterminer l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique (Figure 23) ainsi que celle de l'extrait brut eau-méthanol (EB) et sa fraction acétate d'éthyle (FAE) et la phase résiduelle aqueuse (PR), préparés des racines d'*A. pyrethrum* (Figure 24).

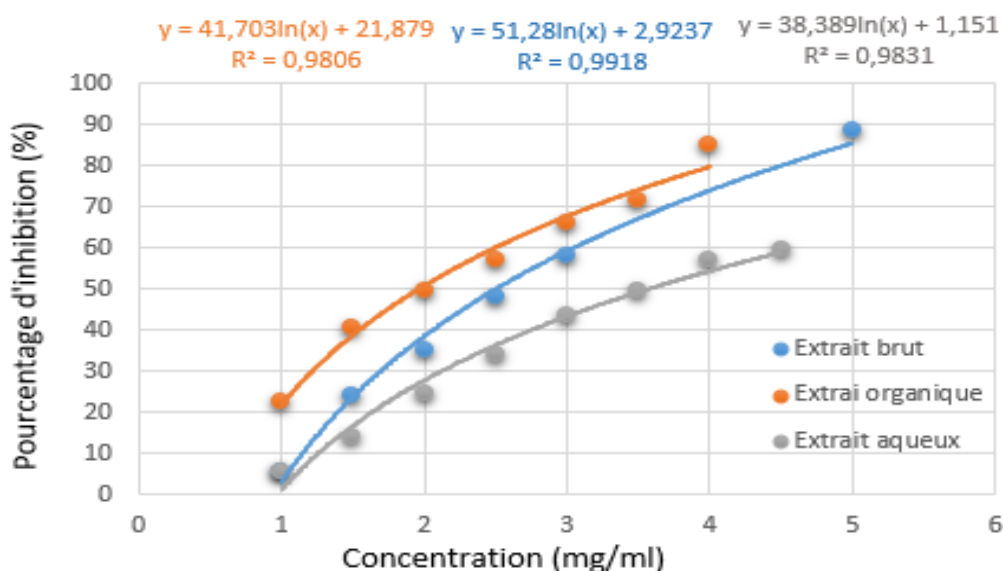
La couleur violacée de la solution indique la présence du DPPH<sup>•</sup> sous sa forme radicalaire. Un virage du couleur vers le jaune se traduit par un piégeage du DPPH par l'extrait testé.

Les résultats obtenus sont comparés avec la molécule de référence (acide ascorbique) et sont exprimés par un pourcentage d'inhibition.





**Figure 23 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>\*</sup> par l'acide ascorbique



**Figure 24:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>\*</sup>, en présence de l'extrait brut eau-méthanol (EB) et ses fractions organique acétate d'éthyle (FAE) et la phase résiduelle aqueuse (PR), préparés des racines d'*A. pyrethrum*

A partir des courbes de régression logarithmique, nous avons déterminé les  $CI_{50}$  (concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH), ainsi que l'activité radicalaire (AAR) pour l'acide ascorbique et pour chaque extrait préparé (Tableau 8).

**Tableau 8** :  $CI_{50}$  et AAR de l'extrait brut eau-méthanol, ses fractions préparées de *A. pyrethrum* et de l'acide ascorbique

	Extrait	$CI_{50}$ (mg/ml)	AAR
<b>Racines d'<i>A. pyrethrum</i></b>	Extrait brut Eau-méthanol	<b>2,51</b>	<b>0,40</b>
	Fraction organique acétate d'éthyle	<b>1,96</b>	<b>0,51</b>
	Phase résiduelle aqueuse	<b>3,57</b>	<b>0,28</b>
<b>Acide ascorbique</b>	–	<b>0,33</b>	<b>3,02</b>

D'après les valeurs obtenues, nous avons enregistré que l'extrait organique acétate d'éthyle de la partie souterraine d'*A. pyrethrum* a présenté une meilleure activité antiradicalaire ( $CI_{50}$  d'ordre de 1,96 mg/ml et un AAR d'ordre 0,51) par rapport à extrait brut Eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse qui ont présenté des  $CI_{50}$  d'ordre de 2,51 et 3,57 mg/ml et AAR d'ordre de 0,40 et 0,28 respectivement.

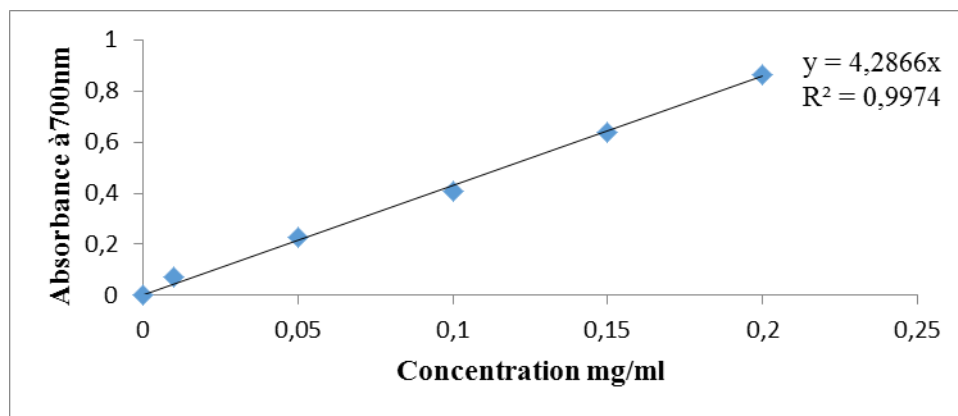
Cette activité est largement faible par rapport à celle de l'acide ascorbique qui a marqué une  $CI_{50}$  d'ordre de 0,33 mg/ml et une AAR d'ordre de 3,02.

#### 4.2. Pouvoir réducteur du Fer (FRAP)

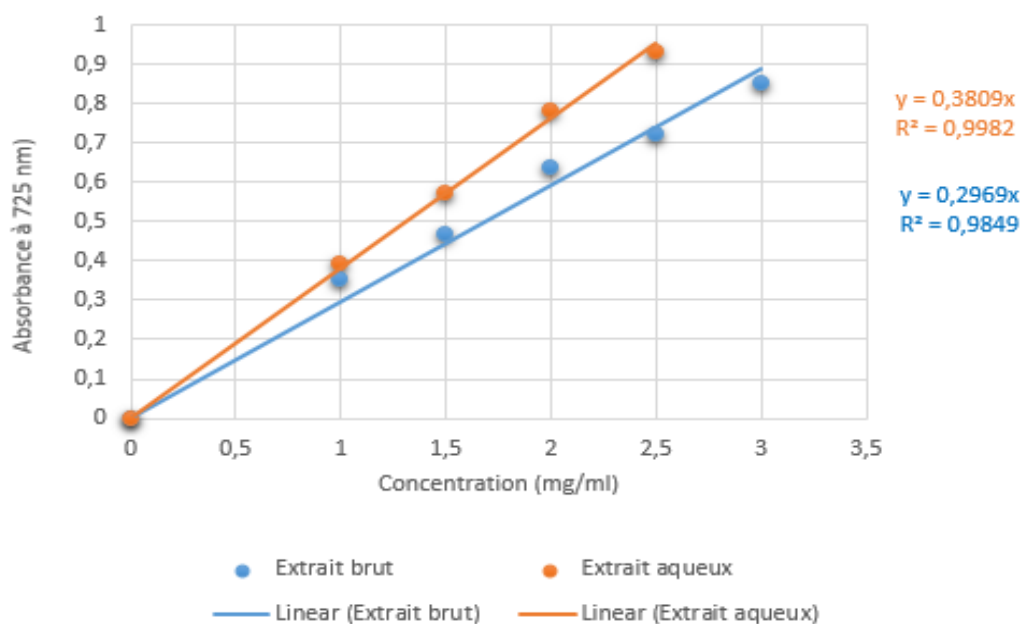
La recherche du pouvoir réducteur du fer des extraits préparés et de l'acide ascorbique est déterminée par l'évaluation l'absorbance du milieu réactionnel à 725nm en fonction des différentes concentrations.

Les résultats sont représentés sous forme des courbes de régression linéaire (Figure 25 et 26).

La courbe du pouvoir réducteur de Fer en présence de l'acide ascorbique est réalisée dans le laboratoire et dans les mêmes conditions opératoires par **Ghanemi Adila (2019)**



**Figure 25 :** Pouvoir réducteur du fer en présence de l'acide ascorbique Ghanemi Adila (2019)



**Figure 26:** Pouvoir réducteur du fer en présence de l'extrait brut eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse (PR), préparés des racines d'*A. pyrethrum*

En analysant les différentes courbes de régression, nous avons noté que la capacité réductrice du fer augmente avec l'augmentation des concentrations de chaque extrait.

De même, nous avons enregistré le pouvoir réducteur du fer en présence des extraits préparés de notre plante où l'absorbance est inférieure à 1 à une concentration de 3mg/ml.

Nous avons déterminé les  $EC_{50}$  de chaque extrait à partir des équations de régressions linéaires des courbes représentées (Tableau 9).

EC<sub>50</sub> représente la concentration nécessaire pour réduire 50% du fer contenue dans le milieu réactionnel.

**Tableau 9** : EC<sub>50</sub> d'extrait brut eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse des racines de *A. pyrethrum* et de l'acide ascorbique

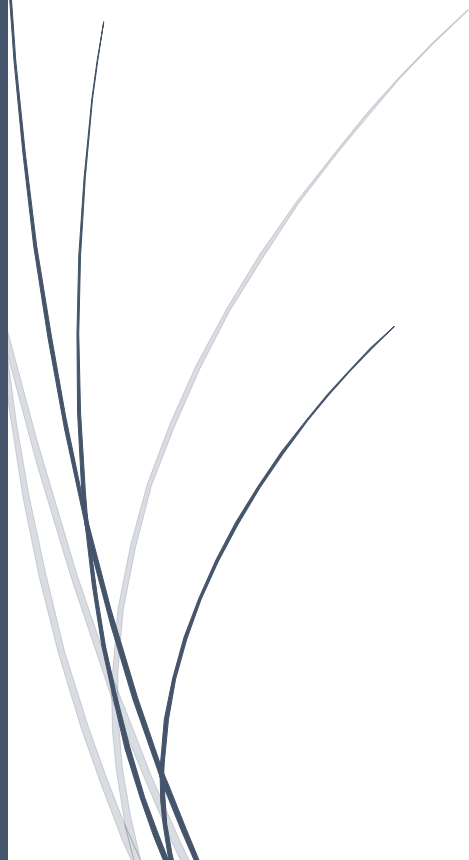
	<b>Extraits</b>	<b>EC<sub>50</sub> (mg/ml)</b>
<b>Racines d'</b> <i>A. pyrethrum</i>	Extrait brut Eau-méthanol	1,69
	Phase résiduelle aqueuse	1,31
<b>Acide ascorbique</b>	-	0,002

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré un meilleur pouvoir réducteur du Fer pour la phase résiduelle aqueuse avec un EC<sub>50</sub> d'ordre de 1,31 mg/ml ; par rapport au pouvoir réducteur du Fer enregistré pour l'extrait brut eau-méthanol (EC<sub>50</sub> d'ordre de 1,69 mg/ml).

Cette activité reste largement faible par rapport à celle enregistrée pour l'acide ascorbique (EC<sub>50</sub> égale 0,002 mg/ml).



## *Discussion*



Les plantes médicinales constituent une source majeure de molécules bio actives dotées de nombreuses activités biologiques.

Elles continuent à faire objet de la découverte des médicaments. Ses propriétés médicinales sont dues à la présence de principes actifs. Notamment les alcaloïdes, les composés phénoliques et les terpénoïdes, ce qui lui permettent d'avoir des effets pharmacologiques remarquables (**Ramawat et al., 2009**)

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la région de Tlemcen, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et biologique d'extrait brut hydrométhanolique et sa fraction enrichis des polyphénols, fractionnée par acétate d'éthyle des racines de pyrèthre (*Anacyclus pyrethrum*).

Le calcul des rendements d'extractions nous a permis d'enregistrer des pourcentages variables d'ordre de 1,016 %, 0,81%, 2,66% pour l'extrait brut eau-méthanol, sa fraction organique acétate d'éthyle et la phase résiduelle aqueuse, respectivement.

Ces résultats sont confirmés par les travaux de :

**Sharma et al., (2010)** ont enregistré un rendement de 3,1% pour l'extrait d'éther de pétrole obtenu par soxhlet, extrait des racines d'*A. pyrethrum*.

**Zaidi et al., (2013)** ont noté le rendement de 3,56% d'extrait éthanolique obtenu par macération des racines d'*A. pyrethrum*.

Alors que, **Sujith et al., (2012)** ont noté que l'extrait éthanolique obtenu par une simple macération des racines d'*A. pyrethrum* a présenté un rendement de 0,93%.

Les rendements des extractions sont variables, selon les facteurs pédoclimatiques, (**Obaton, 1992**), la période de récolte de la plante (**Malik et al., 2012**). Et même selon la méthode d'extraction et les solvants utilisés (**Bourgou et al., 2016**).

Les tests phytochimiques réalisés sur les différents extraits hydro-méthanoliques brut et la fraction organique d'acétate d'éthyle, préparé sous reflux, de la partie souterraine d'*A. pyrethrum*, ont montré la présence des alcaloïdes, des tanins, des flavonoïdes, des quinones, et des terpénoïdes. Par contre, les saponines et les anthraquinones ont été absents dans l'ensemble des extraits étudiés.

**Elazzouni et al., (2014)**, ont confirmé la présence des alcaloïdes, des tanins et des flavonoïdes dans l'extrait aqueux obtenu par hydro distillation des racines d'*A. pyrethrum*.

Les résultats de **Subasri et John (2016)** ont confirmé également la présence d'alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, triterpènes, saponines, anthraquinones et acides aminés d'extrait éthanolique des racines, de feuille et de tige de la même plante.

Les résultats de **Selles et al., (2012)** ont montré une richesse en alcaloïdes, tanins, saponines, acides aminés, stéroïdes et terpénoïdes dans l'extrait aqueux des racines d'*A. pyrethrum*.

De plus, l'étude de **Shahraki et al., (2014)** sur la même partie de la plante de pyrèthre a montré que l'extrait aqueux se compose de résine appelé pyrèthrine ou pellitorine.

**Daoudi et al., (2017)** ont noté la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et saponines alors que les stéroïdes et les anthraquinones ont été absent dans l'extrait aqueux préparé par macération de la même plante.

Cette différence est probablement due au période de la récolte, et stade de maturité de la plante (**Potel et al., 2005**)

Le dosage des composés phénoliques, nous a permis de constater que les teneurs les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes sont enregistrées pour la fraction organique acétate d'éthyle d'ordre de  $209 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg E}$  et  $183,3 \pm 0,04 \mu\text{g EC/mg E}$ , respectivement, suivie par l'extrait brut eau-méthanol avec des teneurs d'ordre de  $206,6 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg E}$  et  $83,3 \pm 0,003 \mu\text{g EC/mg E}$ , respectivement.

Ces résultats sont confirmés par les travaux de :

**Elazzouzi el al., (2019)** qui ont montré que la fraction acétate d'éthyle d'extrait hydro-méthanolique des racines de pyrèthre est la plus riche en polyphénols totaux ( $12,82 \text{ mg EAG / g E}$ ) et en flavonoïdes ( $46,82 \text{ mg EQ / g E}$ ).

**Manouze et al., (2019)** ont enregistré des teneurs en polyphénols totaux, des extraits méthanolique et aqueux d'ordre de  $181,7 \pm 1,5$  et de  $192,1 \pm 0,3 \text{ mg EG/g E}$ . Les mêmes extraits ont présenté des teneurs en flavonoïdes d'ordre de  $19,2 \pm 0,0$  et  $214 \pm 0,1 \text{ mg E Quercetin / g E}$ , respectivement.

**Daoudi et al., (2017)** ont noté des teneurs en polyphénols d'extrait aqueux préparé par macération, décoction et infusion d'ordre de  $97,57$  ;  $70,12$  et  $66,45 \text{ mg EAG/ g extrait de la plante}$ , respectivement

Une autre étude faite par **Yahiaoui, (2019)** a montré que la teneur en polyphénols est d'ordre de  $12,33 \pm 5,85 \mu\text{gEAG/mg d'extrait}$  et la teneur en flavonoïdes est d'ordre de  $0,49 \pm 0,088 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$ .

**Selles et al., (2012)** ont noté que la partie aérienne de la plante a présenté des teneurs en polyphénols d'ordre de 310,78 ; 183,82 et 91,8 mg EAG/g, tandis que les teneurs en flavonoïdes sont d'ordre de 92,50 ; 72,50 et 24,20 mg EQ/g pour les extraits méthanoliques, aqueux et le chloroforme, respectivement.

La variation de taux de polyphénols et flavonoïdes peut être influencée par plusieurs facteurs qualitatifs et quantitatifs citant par exemple la méthode de quantification et d'extraction (**Lee et al., 2003**), le stade végétatif, la répartition géographique, les conditions climatiques et les modifications génétiques (**Miliauskas et al., 2004**).

La recherche de l'activité antioxydante des extraits préparés de notre plante a été évaluée par deux méthodes : activité antiradicalaire par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), représentée en  $CI_{50}$  et antioxydante par la méthode du pouvoir réduction du Fer (FRAP), marquée par  $EC_{50}$ .

Les résultats obtenus ont montré une bonne activité antioxydante de l'extrait préparé avec  $CI_{50}$  d'ordre de 1,96 ; 2,51 et 3,57 mg/ml pour la fraction organique acétate d'éthyle, l'extrait brute Eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse, respectivement. Et un  $EC_{50}$  d'ordre de 1,31 et 1,69 mg/ml pour la phase résiduelle aqueuse et l'extrait brut Eau -méthanol. Mais cette activité reste faible par rapport à l'acide ascorbique qui a présenté une  $CI_{50}$  de 0,33 mg/ml et une  $EC_{50}$  d'ordre de 0,002 mg/ml dans les mêmes conditions.

Des recherches antérieures, *in vivo*, ont été réalisées sur la l'activité antioxydante d'*A. pyrethrum* et *Anacyclus clavatus* citant les travaux de :

**Elazzouzi et al., (2019)** qui ont enregistré des  $CI_{50}$  des extraits hydro-méthanolique, fraction d'acétate d'éthyle et l'extrait butanolique d'ordre de 0,144 ; 0,152 et 0,155 mg / ml. Ces résultats sont comparables avec l'acide ascorbique ( $CI_{50} = 0,051$  mg / ml).

**Kherbache, (2018)** ont montré que la plante *Anacyclus clavatus* a une forte activité antiradicalaire du radical DPPH avec des  $CI_{50}$  de  $28,30 \pm 3,45$   $\mu$ g/ml et  $68,98 \pm 1,64$   $\mu$ g/ml pour les extraits méthanolique et aqueux, respectivement

**Selles et al., (2012)** ont prouvé que l'activité de piégeage des radicaux présentée par l'extrait méthanolique, l'extrait aqueux et chloroformique d'ordre de 89,58%, 78,19% et 77,29% à des concentrations d'ordre de 0,16 ; 0,2 et 0,50 mg/ml respectivement. Avec un standard (acide ascorbique) de 0,048.



## Discussion

Pour le FRAP la capacité de réduction ferrique la plus élevée a été marquée avec l'extrait méthanolique avec des  $EC_{50}$  entre 0,569 à 0,15 mg/ml par rapport aux extraits aqueux et de chloroformique 0,301 et 0,182, respectivement. Ces résultats restent faibles par rapport à l'acide ascorbique de 1,84.

D'après les résultats obtenus dans la présente étude, nous avons noté une bonne corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante. Les polyphénols neutralisent les radicaux libres dans les milieux biologiques par trois mécanismes : Chélation des ions métalliques, Inhibition enzymatique et Piégeage des radicaux libres (**Boubekri, 2014**).



*Conclusion  
et  
perspectives*

### Conclusion :

L'objectif de ce travail est basé sur l'étude phytochimique et la recherche d'activité antioxydante *in vitro* des racines d'*Anacyclus pyrethrum* récoltée dans la région d'El Abed, wilaya de Tlemcen.

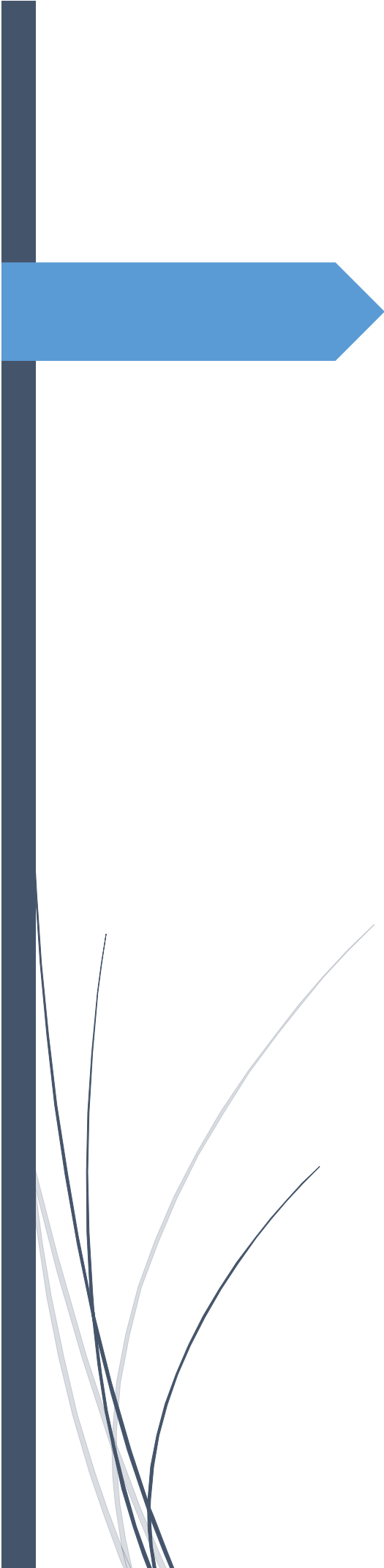
D'après les résultats obtenus, nous avons conclu que :

- Le screening phytochimique de la plante a montré sa richesse en alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, quinones, et des terpénoïdes, alors qu'elle a dépourvu les saponines et les anthraquinones ;
- Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés de la plante, nous a permis d'enregistrer des teneurs en polyphénols d'ordre de  $209 \pm 0,007$  et  $206,6 \pm 0,007$   $\mu\text{g}$  EAG/mg E et en flavonoïdes d'ordre de  $183,3 \pm 0,04$  et  $83,3 \pm 0,003$   $\mu\text{g}$  EC/ mg E, pour la fraction organique d'acétate d'éthyle et l'extrait brut eau-méthanol, respectivement.
- Une bonne activité antioxydante a été enregistrée pour les extraits préparés avec une CI50 d'ordre de 1,96 ; 2,51 et 3,57 mg/ml pour la fraction organique acétate d'éthyle, l'extrait brut eau-méthanol et la phase résiduelle aqueuse, respectivement. Et une EC50 d'ordre de 1,31 et 1,69 mg/ml pour la phase résiduelle aqueuse et l'extrait brut eau -méthanol.

Pour conclure, l'*Anacyclus pyrethrum* est riche en composés phénoliques notamment les polyphénols. Elle se caractérise par une puissante activité antioxydante de neutralisation des dégâts cellulaires causés par les radicaux libres.

Cette étude reste préliminaire et mérite d'être approfondie par d'autres recherches complémentaires qui s'intéressent à :

- ✚ Purifier, identifier et caractériser les composés phénoliques par des méthodes chromatographiques (CCM, chromatographie sur colonne, HPLC, ...) et des méthodes spectrophotométriques (RMN, spectroscopie de masse, ...)
- ✚ L'étude d'activité antioxydante par autres méthodes *in vitro* : ABTS<sup>•-</sup> (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique) ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et des méthodes enzymatiques *in vivo*, comme le superoxyde dismutase et la Catalase ...
- ✚ L'étude d'autres activités biologiques ; plus particulièrement l'activité antidiabétique et antimicrobienne, ...
- ✚ Réaliser des études de la toxicité *in vitro* (cytotoxicité) et *in vivo* (toxicité aigüe et chronique).



# *Références bibliographiques*

## A

- (1) **Achat, S., 2013.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de Doctorat. Université de Béjaia, Université d'Avignon et des pays Vaucluse.
- (2) **Allali, H., Benmehdi, H., Dib, M. A., Tabti, B., Ghalem, S., & Benabadji, N. (2008).** Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian journal of chemistry*, 20(4), 2701.
- (3) **Allen, R. N., Shukla, M. K., Reed, D., Leszczynski, J. (2006).** Ab initio study of the structural properties of ascorbic acid (vitamin C). *International journal of quantum chemistry*, 106(14), 2934-2943.
- (4) **Amadou Diallo., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* willd, (myrtaceae). Thèse de pharmacie. République de mali. 100p.
- (5) **Ames, B. N., Cathcart, R., Schwiers, E., & Hochstein, P. (1981).** Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(11), 6858-6862.
- (6) **Amine, D., Mohamed, B., Jamal, I., & Laila, N. (2017).** Antibacterial Activity of Aqueous Extracts of *Anacyclus Pyrethrum* (L) Link and *Corrigiola Telephiifolia*. From the Middle Atlas Region-Morocco. *European Scientific Journal*
- (7) **Annalakshmi, R., Uma, R., Chandran, G. S., & Muneeswaran, A. (2012).** A treasure of medicinal herb-Anacyclus pyrethrum a review. *Indian Journal of Drugs and Diseases*, 1(3), 59-67.
- (8) **Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007).** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycooxidation. *Food and chemical toxicology*, 45(12), 2402-2411.
- (9) **Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016).** Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547-553.

- (10) **Atoui A. K., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P. (2005).** Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89:27-36.

**B**

- (11) **Badhe, S. R., Badhe, R. V., Ghaisas, M. M., Chopade, V. V., & Deshpande, A. D. (2010).** Evaluations of antidepressant activity of *Anacyclus pyrethrum* root extract. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 4(2), 79-82.
- (12) **Bahorun, T. (1998).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists*, 83-94.
- (13) **Barkley, T., Brouillet, L., Strother, J. (2006).** Asteraceae. *Flora of North America*, 3, 19-21.
- (14) **Barreda, V. D., Palazzesi, L., Tellería, M. C., Olivero, E. B., Raine, J. I., & Forest, F. (2015).** Early evolution of the angiosperm clade Asteraceae in the Cretaceous of Antarctica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(35), 10989-10994.
- (15) **Barros, L., Ferreira, M. J., Queiros, B., Ferreira, I. C., & Baptista, P. (2007).** Total phenols, ascorbic acid,  $\beta$ -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 103(2), 413-419.
- (16) **Batanouny, K., 2005.** Guide to Medicinal Plants in North Africa. Centre for Mediterranean Cooperation, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources: *Anacyclus pyrethrum* L. ISBN 2-8317- 0893-1. 35-37.
- (17) **Belkheiri, N. (2010).** *Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- (18) **Bendjeddou D, Lalaoui K, Satta D (2003):** Immunostimulating activity of the hot water soluble polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum*, *Alpinia galangal* and *Citrullus colocynthis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 155–160.
- (19) **Benitez, G., M.R. Gonzalez-Tejero, and J. Molero-Mesa, 2010.** Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern

- Spain). Ethnopharmacological synthesis. *Journal of ethnopharmacology*, 129 : 87–105.
- (20) **Bentley, R., 2002.** Medicinal Plant, 3, 151
- (21) **Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- (22) **Bellakhdar, J. (1997).** La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires - Saint –Etienne, Edit. Ibis Press, : 177.
- (23) **Boizot N., Charpentier J. (2006).** Méthode rapid d’évaluation du contenu en composés phénoliques des oranges d’un arbre forestier. Méthodes et outils pour l’observation et l’évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 79-82.
- (24) **Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l’INRA, In : Numéro spécial*, 79-82.
- (25) **Bonnefont-Rousselot, D., Beaudoux, J. L., Thérond, P., Peynet, J., Legrand, A., & Delattre, J. (2004).** Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. In *Annales pharmaceutiques françaises*, 62(3) : 147-157.
- (26) **Boonen, J., Sharma, V., Dixit, V. K., Burvenich, C., and De Spiegeleer, B. (2012).** LC-MS N-alkylamide profiling of an ethanolic *Anacyclus pyrethrum* root extract. *Planta Med.* 78 : 1787–1795.
- (27) **Boubekri, C. (2014).** Etude de l’activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat Université Mohamed Khider Biskra.
- (28) **Boudiaf, K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister en biologie, Université de Ferhat Abbas Sétif.
- (29) **Boutaghane, N. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genis taulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum*

*macrocarpum* (Sch.Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae). Thèse de doctorat. Université de Constantine1

- (30) **Brice,N. 2009** Synthèse et Evaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants. Chimie. Université Paris Sud - Paris XI, Français.
- (31) **Bruneton J., (2009)**. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed.
- (32) **Bruneton J., 1999** : Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc

C

- (33) **Caritá, A. C., Santos, B. F., Shultz, J. D., Michniak-Kohn, B., Chorilli, M., &Leonardi, G. R. (2019)**. Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability. *Nanomedicine:Nanotechnology, Biology and Medicine*, 102-117
- (34) **Chaudiere, J., Tappel, A. L. (1983)**. Purification and characterization of selenium-glutathione peroxidase from hamster liver. *Archives of biochemistry and biophysics*, 226(2) : 448-457.
- (35) **Chelikani, P., Fita, I., &Loewen, P. C. (2004)**. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(2): 192-208.
- (36) **Chen, Q. B., Gao, J., Zou, G. A., Xin, X. L., &Aisa, H. A. (2018)**. Piperidine Alkaloids with Diverse Skeletons from *Anacyclus pyrethrum*. *Journal of natural products*, 81(6): 1474-1482.
- (37) **Cherrat A, Amalich S, Regragui M, Bouzoubae A, Elamrani M, Mahjoubi M, Bourakhouadar M, Zair T (2017)**. Polyphenols content and evaluation of antioxidant activity of *Anacyclus pyrethrum*(L.) Lag. from Timahdite a Moroccan Middle Atlas region. 5: 569-577.
- (38) **Chouikhi, A. (2013)**. Les applications potentielles des macroalgues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites : Revue. In *4th International Congress of the Populations & Animal Communities—Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems"" CIPCA4" TAGHIT (Bechar)—Algeria*.



- (39) **Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2010).** Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(6) : 749-762.
- (40) **Conrad, M., Moreno, S. G., Sinowatz, F., Ursini, F., Kölle, S., Roveri, A., ... & Bornkamm, G. W. (2005).** The nuclear form of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a protein thiol peroxidase contributing to sperm chromatin stability. *Molecular and cellular biology*, 25(17) : 7637-7644.
- (41) **Crombie, L. (1954).** Isolation and structure of an n-isobutyldienediynamide from pellitory (*Anacyclus pyrethrum* dc.). *Nature*, 174 : 832–833.

**D**

- (42) **Dalmes, G-H, (2011).** Structure et application d'élaboration des résines époxy. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse (France).
- (43) **Dayanand, C. D., Krishnamurthy, N., Ashakiran, S., & Shashidhar, K. N. (2011).** Carnitine: a novel health factor—an overview. *Int J Pharm Biomed Res*, 2(2): 79-89.
- (44) **De Spiegeleer, B., Boonen, J., Sharma, V., and Dixit, V. (2011).** New N-Alkylamides from *Anacyclus pyrethrum*. Ph.D. Thèse de doctorat. Department of Pharmaceutical analysis, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium.
- (45) **Di Mascio, P., Murphy, M. E., & Sies, H. (1991).** Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American journal of clinical nutrition*, 53(1) : 194S-200S.
- (46) **Doat, J. (1978).** Les tanins dans les bois tropicaux. *Revue bois et forêts des tropiques* n°182, 38-54.
- (47) **Domazetovic, V., Marcucci, G., Iantomasi, T., Brandi, M. L., & Vincenzini, M. T. (2017).** Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 14(2): 209.

**E**

- (48) **Efraim, L. and A. Zohar, 2008.** “Fossils” of practical medical knowledge from medieval Cairo. *J Ethnopharma*, 119 : 24–40.

- (49) Ehrendorfer, F., Schweizer, D., Greger, H., & Humphries, C. (1977). Chromosome banding and synthetic systematics in *Anacyclus* (Asteraceae et Anthemideae). *Taxon*, 26(4): 387-394.
- (50) El Khawand, T., Courtois, A., Valls, J., Richard, T., & Krisa, S. (2018). A review of dietary stilbenes: Sources and bioavailability. *Phytochemistryreviews*, 17(5) : 1007-1029.
- (51) Elazzouzi, H., Soro, A., Elhilali, F., Bentayeb, A., El Belghiti, M. A., & Zair, T. (2014). Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* (L.) of Middle Atlas (Morocco), and in vitro study of antibacterial activity of pyrethrum. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 8(8): 131-141.
- (52) Elazzouzi, H., Zekri, N., Zair, T., & Alaoui El Belghiti, M. (2019). Total phenolic and flavonoid contents of *Anacyclus pyrethrum* Link plant extracts and their Antioxidant activity. *Karbala International Journal of Modern Science*, 5(4): 10.
- (53) El-Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5) : 280-285.
- (54) Enema, O. J., Umoh, U. F., Umoh, R. A., Ekpo, E. G., Adesina, S. K., & Eseyin, O. A. (2018). Chemistry and Pharmacology of aphrodisiac plants: a review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 10(7): 70-98.
- (55) Evans, J. L., & Goldfine, I. D. (2000).  $\alpha$ -Lipoic acid : a multifunctional antioxidant that improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *Diabetestechology & therapeutics*, 2(3): 401-413.

## F

- (56) Favier, A. (2003). Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mecanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* ,108-115.
- (57) Felidj, M., Bouazza, M., & Ferouani, T. (2010). Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila* (verticillata) dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale). *Geo Eco Trop*, 34, 147-154.

- (58) Foti, M., Piattelli, M., Baratta, M. T., & Ruberto, G. (1996). Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system. Structure–activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), 497-501.

## H

- (59) Humphries, C. (1979) A revision of the genus *Anacyclus* L. (Compositae: Anthemideae). *British Mus.Nature.*, 7, 83-142.

## G

- (60) Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique* : 91.
- (61) Garrel, C., Alessandri, J. M., Guesnet, P., & Al-Gubory, K. H. (2012). Omega-3 fatty acids enhance mitochondrial superoxide dismutase activity in rat organs during post-natal development. *The international journal of biochemistry&cellbiology*, 44(1) : 123-131.
- (62) Gautam, O. P., Verma, S., & Jain, S. K. (2011). Anticonvulsant and myorelaxation activity of *Anacyclus pyrethrum* DC. (Akarkara) root extract. *Pharmacology-online, News Lett*, 1 : 121-125.
- (63) Ghanemi, A (2019). Etude phytochimique, analyse chromatographique sur couche mince et évaluation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Ficus carica*. Mémoire de fin d'étude. Université Abou Bark Bel Kaid-Tlemcen.
- (64) Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4) : 162-169.
- (65) Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., & Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(11) : 1106-1114.
- (66) Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
- (67) Gourlay, G., & Constabel, C. P. (2019). Condensed tannins are inducible antioxidants and protect hybrid poplar against oxidative stress. *Treephysiology*, 39(3), 345-355.

- (68) Greger, H. (1978). Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6(1), 11-17.
- (69) Gülcin, İ. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life sciences*, 78(8) : 803-811.
- (70) Gulland, J. M., &Hopton, G. U. (1930). II.—Pellitorine, the pungent principle of *Anacyclus pyrethrum*. *Journal of the Chemical Society*: 6-11

## H

- (71) Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- (72) Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*, 142(2), 231-255.
- (73) Halliwell, B., &Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford UniversityPress, USA.

## J

- (74) Jain, P. K., & Joshi, H. (2012). Coumarin: chemical and pharmacological profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(6), 236-240.
- (75) Jean, B. (2008). *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants (2e ed.-retirage broch")*. Lavoisier.
- (76) Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., &Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular diabetology*, 4(1) : 5.

## K

- (77) Kalim, M. D., Bhattacharyya, D., Banerjee, A., Chattopadhyay, S. (2010). Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of plants used in Unani system of medicine. *BMC Complementary and alternative medicine*, 10:77
- (78) Karagözler A.A., Erdag B., Emek Y.G., Uygum D.A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechastata*, *Food Chemistry*, 111: 400-407.

- (79) **Kerksick, C., & Willoughby, D. (2005).** The antioxidant role of glutathione and N-acetyl-cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *Journal of the international society of sports nutrition*, 2(2) : 38.
- (80) **Khanna, S. (2000).** Thiol Antioxidants. *Protection Against Oxidative Stress and Redox Regulation of Cellular Responses*.
- (81) **Khare CP. (2007)** Encyclopedia of Indian Medicinal Plants. Springerverlog: Berlin, Heidelberg; 46-47.
- (82) **Khare, C. P. (2008).** *Indian medicinal plants: an illustrated dictionary*. Springer Science & Business Media.in Gautam, O. P., Verma, S., & Jain, S. K. (2011). Anticonvulsant and myorelaxation activity of Anacyclus pyrethrum DC. (Akarkara) root extract. *Pharmacology-online, News Lett, 1*, 121-125.
- (83) **Kherbache, A. (2018).** Propriétés anti-inflammatoire et antioxydante des extraits d'anacyclus clavatus. Thèse de Doctorat. Université Ferhat Abbas – sétif 1.
- (84) **Kim D O Jeong S W, et Lee C Y. (2003).** Antioxydant capacity of phenoliquephotochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81: 321,3260
- (85) **Kishor K and Lalitha KG. (2012).** Pharmacognostical studies on the root of Anacyclus pyrethrum DC. *Indian Journal of Natural Products and Resoures*, 3(4): 518-526.
- (86) **Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013).** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.16p

## L

- (87) **Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018).** Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.
- (88) **Liu, Y., Wang, P., Chen, F., Yuan, Y., Zhu, Y., Yan, H., & Hu, X. (2015).** Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination. *Food Chemistry*, 186, 46-53.

- (89) **Lucchesi, A. N., Freitas, N. T. D., Cassettari, L. L., Marques, S. F. G., & Spadella, C. T. (2013).** Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. *Acta Cirurgica Brasileira*, 28(7), 502-508.

M

- (90) **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- (91) **Magder, S. (2006).** Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life. *Critical care*, 10(1) : 208.
- (92) **Maisuthisakul, P., Suttajit, M., & Pongsawatmanit, R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food chemistry*, 100(4) : 1409-1418.
- (93) **Malik F. S., Hussain A., Sadiq G., Parveen A., Wajid S., Shafat R. A., Channa R. Mahmood H., Riaz M., Ismail F., Yasin R. (2012).** Phyto-chemical analysis, anti-allergic and anti-inflammatory activity of *Mentha arvensis* in animals. *African Journal of Pharmacy and pharmacology*, 6(9) :613-619.
- (94) **Manouze, H., Bouchatta, O., Bennis, M., Sokar, Z., & Ba-M'hamed, S. (2019).** Anticonvulsive and neuroprotective effects of aqueous and methanolic extracts of *Anacyclus pyrethrum* root in kainic acid-induced-status epilepticus in mice. *Epilepsy research*, 158: 106225.
- (95) **Manouze, H., Bouchatta, O., Gadhi, A. C., Bennis, M., Sokar, Z., & Ba-M'hamed, S. (2017).** Anti-inflammatory, antinociceptive, and antioxidant activities of methanol and aqueous extracts of *Anacyclus pyrethrum* roots. *Frontiers in pharmacology*, 8 : 598.
- (96) **Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.
- (97) **Matthews, R. T., Yang, L., Browne, S., Baik, M., & Beal, M. F. (1998).** Coenzyme Q10 administration increases brain mitochondrial concentrations and exerts neuroprotective effects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15), 8892-8897.

- (98) **Messai, L.**, Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est Algerien. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine.
- (99) **Mezache, N. (2010)**. Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae. Thèse de doctorat. Université Metouri-Constantine.
- (100) **Michel, T. (2011)**. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophaerhamnoides). Thèse de Doctorat.
- (101) **Migdal, C., & Serres, M. (2011)**. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- (102) **Miladovic, S., Ivekovic, D., et Bozidar, S.G. (2006)**. A novel amperometric method method for antioxydant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68,175-180.
- (103) **Mills, G. C., & Randall, H. P. (1958)**. Hemoglobin catabolism II. The protection of hemoglobin from oxidative breakdown in the intact erythrocyte. *Journal of Biological Chemistry*, 232(2), 589-598.
- (104) **Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004)**. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.
- (105) **Molyneux P. (2004)**. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2): 211-219.
- (106) **Moussa, S. A. (2008)**. Oxidative stress in diabetesmellitus. *Romanian J biophys*, 18(3), 225-236.

N

- (107) **Navarro, T., El Oualidi, J., Taleb, M. S., Pascual, V., Cabezudo, B., & Milla, R. (2010)**. Leaf patterns, leaf size and ecologically related traits in high Mediterranean mountain on the Moroccan High Atlas. *Plant Ecology*, 210(2), 275-290.

- (108) Niedowicz, D. M., & Daleke, D. L. (2005). The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cellbiochemistry and biophysics*, 43(2), 289-330.
- (109) Nkhili, E. Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. *Université Cadi Ayyad-Marrakech*.

O

- (110) Obaton, M. (1992). Facteurs pédoclimatiques limitant la fixation biologique de l'azote chez les légumineuses. *Biological nitrogen fixation and sustainability of tropical agriculture*. Wiley, Chichester, 57-66.

P

- (111) Padh, H. (1990). Cellular functions of ascorbic acid. *Biochemistry and CellBiology*, 68(10), 1166-1173.
- (112) Pahuja, M., Mehla, J., Reeta, K. H., Joshi, S., & Gupta, Y. K. (2012). Root extract of *Anacyclus pyrethrum* ameliorates seizures, seizure-induced oxidative stress and cognitive impairment in experimental animals. *Epilepsyresearch*, 98(2-3), 157-165. Paris, Lavoisier Tech & Doc.
- (113) Peronny S., 2005 : La perception gustative et la consommation des tannins chez le (Lemur Catta). Maki Thèse de Doctorat en Eco-Ethologie. Muséum national d'histoire naturelle. Discipline
- (114) Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- (115) Potel, A. M., & Carlen, C. (2005). Qualité des fraises : effets de la variété, du rapport feuille/fruit, de la période de récolte et du stade de maturité. *Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture*, 37(2), 87-96.

R

- (116) Ramawat, K. G., Dass, S., & Mathur, M. (2009). The chemical diversity of bioactive molecules and therapeutic potential of medicinal plants. In *Herbal drugs: ethnomedicine to modern medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg.: 7-32



- (117) **Ramsay, R. R. (2001)**. Gandour RD, and van der Leij FR. *Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. Biochim Biophys Acta, 1546*, 21-43.
- (118) **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999)**. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine, 26(9-10)*, 1231-1237.
- (119) **Rice-Evans, C., & Miller, N. J. (1994)**. [241 Total antioxidant status in plasma and body fluids. In *Methods in enzymology* (Vol. 234, pp. 279-293). Academic Press.
- (120) **Richard, T., Tamsamani, H., Delaunay, J. C., Krisa, S., & Méryllon, J. M. (2014)**. Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique, 49(4)*, 173-180.
- (121) **Robinson, M. M., & Zhang, X. (2011)**. The world medicines situation 2011, traditional medicines: Global situation, issues and challenges. *World Health Organization, Geneva*, 1-2.
- (122) **Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E., & Bourdon, E. (2008)**. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS letters, 582(13)*, 1783-1787.

S

- (123) **Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., & Yamasaki, H. (2002)**. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology, 177(1)*, 67-80.
- (124) **Schwartz, S. H. (1992)**. Universals in the content and structure of values: Theoretical advances and empirical tests in 20 countries. *Advances in experimental social psychology, 25(1)*, 1-65.
- (125) **Selles, C. (2012)**. Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 M. Thèse de Doctorat Université Abou Bark Bel Kaid-Tlemcen.

- (126) Selles, C. H., Medjdoub, H., El amine, D. M., Zerriouh, M., and Tabti, B. (2012b). Anti-diabetic activity of aqueous root extract of *Anacyclus pyrethrum* L. in streptozotocin-induced- diabetic rats. *J. Med. Plants Res.* 6, 3193–3198.
- (127) Selles, C., Dib, M. E. A., Allali, H., & Tabti, B. (2012a). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts of *Anacyclus pyrethrum* L., from Algeria. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(2), 408-415.
- (128) Selles, C., Dib, M. E. A., Djabou, N., Beddou, F., Muselli, A., Tabti, B., ... & Hammouti, B. (2013). Antimicrobial activity and evolution of the composition of essential oil from Algerian *Anacyclus pyrethrum* L. through the vegetative cycle. *Natural product research*, 27(23), 2231-2234.
- (129) Selles, C., Medjdoub, H., Dib, M. E. A., Zerriouh, M., & Tabti, B. (2012b). Anti-diabetic activity of aqueous root extract of *Anacyclus pyrethrum* L. in streptozotocin-induced-diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(16), 3193-3198.
- (130) Shahraki, S., Rad, J. S., Rostami, F. M., Shahraki, M. R., & Arab, M. R. (2014). Effects of aqueous root extracts of *Anacyclus Pyrethrum* on gonadotropins and testosterone serum in adult male rats. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2(6), 767-772.
- (131) Sharma, V., Boonen, J., Spiegeleer, B. D., & Dixit, V. K. (2013). Androgenic and spermatogenic activity of alkylamide- rich ethanol solution extract of *Anacyclus pyrethrum* DC. *Phytotherapy Research*, 27(1), 99-106.
- (132) Sharma, V., Thakur, M., Chauhan, N. S., & Dixit, V. K. (2009). Evaluation of the anabolic, aphrodisiac and reproductive activity of *Anacyclus pyrethrum* DC in male rats. *Scientiapharmaceutica*, 77(1), 97-110
- (133) Sharma, V., Thakur, M., Chauhan, N. S., & Dixit, V. K. (2010). Effects of petroleum ether extract of *Anacyclus pyrethrum* DC. on sexual behavior in male rats. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 8(8), 767-73.
- (134) Sheikhpour, R. (2012). *Incretins, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and diabetes: New medicines for diabetes*. LAP Lambert Academic Publishing.
- (135) Shibano, M., Kitagawa, S., Nakamura, S., Akazawa, N., Kusano, G., 1997. Studies on the constituents of *Broussonetia* species. II. Six new pyrrolidine

alkaloids, broussonetine A, B, E, F and broussonetinine A and B, as inhibitors of glycosidases from Broussonetiakazinoki SIEB. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 45, 700–705.

- (136) **Southorn, P. A., & Powis, G. (1988, April)**. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 63, No. 4, pp. 381-389). Elsevier.
- (137) **Stefely, J. A., & Pagliarini, D. J. (2017)**. Biochemistry of mitochondrial coenzyme Q biosynthesis. *Trends in biochemical sciences*, 42(10), 824-843.
- (138) **Sterling, C., (1964)**. Crystal structure analysis of  $\beta$ -carotene. *Acta Crystallographica*, 17(10), 1224-1228.
- (139) **Stewart, J. J., Akiyama, T., Chapple, C., Ralph, J., & Mansfield, S. D. (2009)**. The effects on lignin structure of over expression of ferulate 5-hydroxylase in hybrid poplar1. *Plant physiology*, 150(2), 621-635.
- (140) **Subasri, G., & John, A. S. (2016)**. Screening of phytochemical compounds, trace metals and antimicrobial activity of *Anacyclus pyrethrum*. *Int J Adv Scienti Res*, 2, 32-37.
- (141) **Suhaj, M. (2006)**. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 531-537.
- (142) **Sujith K, Ronald D, Suba V; (2011)**. Antioxidant activity of ethanolic root extract of *Anacyclus pyrethrum*, *International Research Journal of Pharmacy*, 222-226.
- (143) **Sujith, K., Darwin, C. R., & Suba, V. (2012)**. Memory-enhancing activity of *Anacyclus pyrethrum* in albino Wistar rats. *Asian pacific journal of tropical disease*, 2(4), 307-311.

### T

- (144) **The Wealth of India** “A Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial Products”, 1948, 9, 250-254.
- (145) **The Wealth of India**,” CSIR Publication, New Delhi, 1985.

- (146) Tyagi, S., Ashim, M. M., Narendra, K. S., Manoj, K. S., Bhardwaj, P., & Singh, R. K. (2011). Antidiabetic effect of *Anacyclus pyrethrum* DC in alloxan induced diabetic rats. *European Journal of Biological Sciences*, 3(4), 117-120.

U

- (147) Usmani, A., Khushtar, M., Arif, M., Siddiqui, M. A., Sing, S. P., & Mujahid, M. (2016). Pharmacognostic and phytopharmacology study of *Anacyclus pyrethrum*: An insight. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(03), 144-150.

V

- (148) Venugopala, K. N., Rashmi, V., & Odhav, B. (2013). Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed research international*, 2013.

W

- (149) Walter, P., Schaffhauser, A. O., Zurbriggen, E., Siebrecht, S., Fuhrmann, M., Krähenbühl, S., ... & Volek, J. S. (2000). L-Carnitine, a 'vitamin-like substance' for functional food. *Annals of nutrition & metabolism*, 44(2), 75-95.
- (150) Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., & Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total, peroxy radical- trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS letters*, 187(1), 33-37.
- (151) Whaley-Connell, A., McCullough, P. A., & Sowers, J. R. (2019). The role of oxidative stress in the metabolic syndrome. *Reviews in cardiovascular medicine*, 12(1), 21-29.

Y

- (152) Yahiaoui, H. (2019). Pouvoir Antioxydant et Neuroprotecteur de Quelques Plantes Algériennes. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid ibn badis- Mostaganem.

Z

- (153) Zaidi, S. M. A., Pathan, S. A., Singh, S., Jamil, S., Ahmad, F. J., & Khar, R. K. (2013). Anticonvulsant, anxiolytic and neurotoxicity profile of *Aqarqarha*

(*Anacyclus pyrethrum*) DC (Compositae) root ethanolic extract. *Pharmacology & Pharmacy*, 4(07), 535.

- (154) Zaidi, S. M. A., Pathan, S. A., Singh, S., Jamil, S., Ahmad, F. J., & Khar, R. K. (2013).** Anticonvulsant, anxiolytic and neurotoxicity profile of Aqarqarha (*Anacyclus pyrethrum*) DC (Compositae) root ethanolic extract. *Pharmacology & Pharmacy*, 4(07), 535.