

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Faculté des Sciences
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire
Laboratoire des Produits Naturels



Thèse de Doctorat en Biologie

Option: Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses

Présentée par:

Mohammedi Zohra

***Etude Phytochimique et Activités Biologiques
de quelques Plantes médicinales de la Région
Nord et Sud Ouest de l'Algérie***

Les membres de jury

Président : Pr. Chabane Sari Daoudi Univ. de Tlemcen

Examineurs :

Pr. Bennaceur Malika Univ. d'Oran

Pr. Marouf Abderrazak Centre Univ. de Naâma

Dr. Lazouni Abderahmane Univ. de Tlemcen

Dr. Bekhechi Chahrazed Univ. de Tlemcen

Encadreur : Pr. Atik Bekkara Fawzia Univ. de Tlemcen

Année Universitaire
2012/2013

Je dédie cette thèse



A mes parents

A mes sœurs et frères

A toute ma famille, proche ou éloignée

Les Remerciements

Je remercie Dieu tout puissant, qui m'a permis de mener à bien ce travail

Je tiens à exprimer toutes mes reconnaissances à Madame Atik Bekkara Fawzia, professeur à l'université de Tlemcen et Directeur de cette thèse, pour l'accueil qu'elle m'a accordée dans son laboratoire, pour sa générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et de m'avoir fait confiance tout au long de la préparation de ce travail, qu'elle trouve ici toute ma gratitude et ma sympathie.

Un grand merci à monsieur Shabane Sari Daoudi, professeur à l'université de Tlemcen et Chef de laboratoire de recherche Produits Naturels (Laprona), pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce Jury.

Je suis également reconnaissante à Madame Bennaceur Malika, professeur à l'université d'Oran, Madame Bekhechi Shahrazed, docteur à l'université de Tlemcen, Monsieur Marouf Abderrazek, professeur au centre universitaire de Naâma, Monsieur Lazouni abderahmane, docteur à l'université de Tlemcen, pour avoir accepté d'être membres de ce jury.

Je suis très reconnaissante envers toute personne, qui m'a aidé à réaliser ce travail et je témoigne toute mon amitié à Mlle Bekkouche pour son aide morale pendant toute la durée de ce travail



Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, des extraits méthanoliques de 10 plantes (*Tamarix aphylla* (L.) Karst., *Tamarix pauciovulata* J. Gay, *Par argentea* (Lam.), *Paronychia chlorothyrsa* (Murb.) *Morettia canescens* (Boiss.), *Haloxylon scoparium* (Pomel), *Arthrophytum schmittianum* (Pomel) M. et W., *Thymelaea hirsuta* (Endl.), *Daphne gnidium* (L.) and *Calotropis procera* (Ait.)) ont été testé pour leur activité antioxydante, antifongique et antiaflatoxinogène.

L'évaluation du pouvoir antioxydants par cinq méthodes a révélé in vitro des capacités antioxydantes chez tous les extraits et fractions et que les fractions de type acétate d'éthyle et butanolique sont les plus antioxydantes. Les activités les plus potentielles par le mécanisme de piégeage direct des radicaux libres par la méthode de DPPH sont prouvées par la fraction acétate d'éthyle d'*Haloxylon scoparium* Pomel ($EC_{50} = 8.78 \pm 0.8362 \mu\text{g/ml}$). Sur le peroxyde d'hydrogène, la fraction acétate d'éthyle du *Tamarix pauciovulata* J. Gay était la plus active ($EC_{50} = 0.20 \pm 0.002 \mu\text{g/ml}$), alors que le puissant pouvoir réducteur est observé avec *Morettia canescens* Boiss.; de l'ordre de 96.23% à la dose de 100 $\mu\text{g/ml}$. A cette même dose l'activité antioxydante par la méthode du blanchiment du β -carotène et l'inhibition de l'activité enzymatique de la xanthine oxydase sont potentiellement exercées par les fractions acétate d'éthyle du *Tamarix aphylla* (L.) Karst (96.52%) et *T. pauciovulata* J. Gay (83%) respectivement. Les analyses par HPLC-UV nous ont permis d'identifier de l'acide syringique, des flavonols comme la quercétine et des catéchines dans les feuilles de l'espèce endémique *T. pauciovulata* J. Gay.

Les résultats des tests antifongiques contre la moisissure potentiellement toxigène *Aspergillus flavus* ont montré que le *Daphne gnidium* est capable de prévenir la contamination fongique et la production des aflatoxines. Cet extrait inhibe à 100% la croissance mycélienne et réduit à 95.50% la production de la toxine AFB1.

Mots-Clés : plantes médicinales, extraits végétaux, activité antioxydante, activité antifongique, AFB1

Abstract

Methanolic extracts of 10 plants (*Tamarix aphylla* (L.) Karst., *Tamarix pauciovulata* J. Gay, *Paronychia argentea* (Lam.), *Paronychia chlorothyrsa* (Murb.) Morettia *canescens* (Boiss.), *Haloxylon scoparium* (Pomel), *Arthrophytum schmittianum* (Pomel) M. et W., *Thymelaea hirsuta* (Endl.), *Daphne gnidium* (L.) and *Calotropis procera* (Ait.)) have been tested for their antioxidant, antifungal and antiaflatoxic activities.

Evaluation of antioxidant power by five methods showed *in vitro* antioxidant capacity in all extracts and fractions, but ethyl acetate and Butanolic fractions were good antioxidants. The more potential activities measured by DPPH free radical scavenging method were showed by ethyl acetate fraction of *Haloxylon Scoparium* (EC50 = 8.78 ± 0.8362 µg/ml). On hydrogen peroxide, ethyl acetate fraction from *Tamarix pauciovulata* was the most active (EC50 = 0.20 ± 0.002 µg/ml), While the powerful reducing power was exhibited by ethyl acetate fraction from *Morettia canescens*, 96.23% at the concentration of 100µg/ml. At the same concentration, Inhibition of β-carotene bleaching and xanthine oxidase activity are potentially performed by ethyl acetate fractions of *Tamarix aphylla* (96.52%) and *Tamarix pauciovulata* (83%) respectively. Analysis by HPLC-UV has allowed identifying syringic acid, flavonols like quercetin and catechins in the leaves of the endemic species *Tamarix pauciovulata*.

Results of antifungal tests against the toxigenic strain *Aspergillus flavus* showed that *Daphne gnidium* can prevent fungal contamination and production of aflatoxin. This extract exhibited 100% mycelial growth inhibition and 95.50% reduction of AFB1 toxin production.

Key-words: medicinal plants, plant extracts, antioxidant activity, antifungal activity, AFB1

الملخص

المستخلصات الميثانولية لعشر (10) نباتات طبية قد تم اختبارها لمعرفة قدراتها المضادة للأكسدة و لنمو الأعفان و لإنتاج السموم .

للكشف عن القدرة المضادة للأكسدة تم إجراء التجارب بواسطة خمس طرق مختلفة، تبين من خلالها أن جميع المستخلصات و الأجزاء تمتلك القدرة المضادة للأكسدة و أن الأجزاء العضوية (البيوتانول وخلات الإيثيل) هي الأكثر فعالية، فالمستخلصات الأنشط بطريقة الجذور الحرة DPPH هي خلات الإيثيل ل *Haloxylon scoparium* ($EC_{50}=8.78\pm 0.8362\mu\text{g/ml}$). في ما يخص اقتناص بيروكسيد الهيدروجين، فان خلات الإيثيل ل *Tamarix pauciovulata* هي الأكثر نشاطا ($EC_{50}=0.20\pm 0.002\mu\text{g/ml}$) ، في حين القوة الاختزالية القصوى لوحظت عند خلات الإيثيل ل *Morettia canescens* ، حيث سجلنا نسبة 96.23% عند الجرعة 100مكروغرام/مل. عند نفس التركيز بطريقة تثبيط تبيض الكاروتين (β -carotène) ونشاط إنزيم الزانثين أوكسيديز (xanthine oxydase) ، فان القدرة المضادة للأكسدة لمستخلصات خلات الإيثيل لنبات *Tamarix aphylla* (96.52%) ونبات *T. pauciovulata* (83%) على التوالي هي الأكثر فعالية.

التحاليل المخبرية بواسطة الكروماتوغرافية عالية الأداء مع كاشف الأشعة ما فوق البنفسجية -HPLC UV قد سمحت لنا بالتعرف على المكونات الفينولية الفعالة في مستخلص أوراق *Tamarix pauciovulata* و هي حمض سيرينجيك acide syringique ، الفلافونول flavonols مثل كرسيتين quercétine و الكاتشين catéchines.

النتائج المحصل عليها مخبريا ضد العفن *Aspergillus flavus* أظهرت أن مستخلص *Daphne gnidium* قادر على منع التلوث بالفطريات وإنتاج الأفلاتوكسين، حيث أن هذا المستخلص قام بتثبيط كلي لنمو الفطر وخفض إنتاج السم AFB1 إلى 95.50%.

الكلمات الرئيسية: النباتات الطبية، المستخلصات النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للفطريات، AFB1

Table des matières

Partie Bibliographique

Introduction.....	20
-------------------	----

Chapitre 1 : Les plantes en médecine

I.1. Définition d'une plante médicinale.....	22
I.2. Phytothérapie.....	22
I.3. Métabolites secondaires des plantes.....	22
I.3.1. Les huiles essentielles.....	23
I.3.2. Les glucosinolates.....	23
I.3.3. Les alcaloïdes.....	24
I.3.4. Les composés phénoliques.....	25

Chapitre 2 : Etude Bibliographique sur les espèces végétales

II.1. <i>Tamarix aphylla</i> (L.) Karst.....	29
II.1.1. Noms Vernaculaires.....	29
II.1.2. Présentation et description botanique.....	29
II.1.3. Systématique.....	29
II.1.4. Composition et propriétés biologiques.....	30
II.2. <i>Tamarix pauciovulata</i> J. Gay.....	30
II.2.1. Noms Vernaculaires.....	30
II.2.2. Présentation et description botanique.....	30
II.2.3. Systématique.....	31
II.2.4. Composition et propriétés biologiques.....	31
II.3. <i>Paronychia argentea</i> (pour.) Lamk.....	31

II.3.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	31
II.3.2. Présentation et description botanique	31
II.3.3. Systématique	32
II.3.4. Composition et propriétés biologiques	32
II.4. <i>Paronychia chlorothyrsa</i> (Murbek) Maire.....	32
II.4.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	32
II.4.2. Présentation et description botanique	33
II.4.3. Systématique	33
II.4.4. Composition et propriétés biologiques	33
II.5. <i>Thymeleae hirsuta</i> Endel.....	33
II.5.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	33
II.5.2. Présentation et description botanique	34
II.5.3. Systématique	34
II.5.4. Composition et propriétés biologiques	34
II.6. <i>Daphne gnidium</i> L.....	35
II.6.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	35
II.6.2. Présentation et description botanique	35
II.6.3. Systématique	35
II.6.4. Composition et propriétés biologiques	36
II.7. <i>Haloxylon scoparium</i>	36
II.7.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	36
II.7.2. Présentation et description botanique	37
II.7.3. Systématique	37
II.7.4. Composition et propriétés biologiques	37
II.8. <i>Arthrophytum schmittianum</i> (pomel).....	38
II.8.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	
II.8.2. Présentation et description botanique	38

II.8.3. Systématique.....	39
II.8.4. Composition et propriétés biologiques.....	39
II.9. <i>Morettia canescens</i> Boiss.....	39
II.9.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	39
II.9.2. Présentation et description botanique.....	39
II.9.3. Systématique.....	40
II.9.4. Composition et propriétés biologiques.....	40
II. 10. <i>Calotropis procera</i> (Ait.).....	40
II.10.1. <i>Noms Vernaculaires</i>	40
II.10.2. Présentation et description botanique.....	40
II.10.3. Systématique.....	41
II. 10.4. Composition et propriétés biologiques.....	41

Chapitre 3 : Activités Biologiques des Plantes

III.1. validation de l'activité biologique des plantes médicinales.....	43
III.2. Activité antioxydante.....	43
III.2.1. Stress et Radicaux libres.....	43
III.2.1.1. Définition du stress.....	43
III.2.1.2. Radicaux libres.....	44
III.2.1.3. Production de radicaux libres.....	46
III.2.1.4. Les maladies liées au stress oxydant.....	49
III.2.1.4.1. Oxydation des molécules biologiques.....	49
III.2.1.4.1.1. Oxydation des lipides.....	50
III.2.1.4.1.2. Oxydation des acides nucléiques.....	51
III.2.1.4.1.3. Oxydation des protéines.....	52
III.2.1.4.1.4. Oxydation des lipoprotéines.....	52
III.2.1.4.2. Les maladies du stress.....	52

III.2.2. Mécanismes de régulation de l'état d'oxydoréduction cellulaire.....	55
III.2.3. Les Antioxydants.....	58
III.2.3.1. Définition.....	58
III.2.3.2. Les antioxydants naturels.....	58
III.3. Activité antifongique.....	68
III.3.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	68
III.3.2. <i>Aspergillus flavus</i>	68
III.3.3. Les mycotoxines.....	69
III.3.4. Aflatoxines.....	73
III.3.5. Aflatoxine B1 (AFB1).....	74
III.3.6. Lutte contre <i>Aspergillus</i> et la production des aflatoxines.....	76

Partie Pratique

IV. Matériel et Méthodes.....	79
IV.1. Matériel végétale.....	79
IV.2. Méthode d'extraction.....	79
IV.3. Le fractionnement.....	82
IV.4. Analyse phytochimique.....	82
IV.4.1. Analyse qualitative.....	82
IV.4.2. Analyse quantitative.....	82
IV.4.2.1 Dosage des polyphénols.....	82
IV.4.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	83
IV.4.3. Analyse par HPLC-UV.....	--
IV.5. Tests biologiques.....	83
IV.5. 1. Test antifongique / anti-aflatoxinogène.....	83
IV.5.1.1. Souche fongique et milieux de culture.....	83

IV.5.1.2. test d'inhibition de la croissance.....	84
IV.5.1.3. test d'inhibition de la production des aflatoxines.....	84
IV.5.1.3.1. test anti-aflatoxinogène.....	84
IV.5.1.3.2. détermination de la masse du mycélium.....	85
IV.5.1.3.3. Extraction des aflatoxines.....	85
IV.5.1.3.4. chromatographie sur couche mince des AFB1.....	85
IV.5.2. Tests antioxydants.....	86
IV.5.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	86
IV.5.2.2. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène.....	86
IV.5.2.3. Test du pouvoir réducteur.....	86
IV.5.2.4. Test de blanchiment β -carotène.....	87
IV.5.2.5. Test de xanthine oxydase.....	87
IV.6. Analyse statistique.....	88
V. Résultats	89
V.1. Etude phytochimique.....	89
V.1.1. Le rendement des extractions.....	89
V.1.2. Analyse phytochimique qualitative et quantitative.....	90
V.1.3. Analyse par HPLC-UV.....	94
V.2. Résultats de l'activité antifongique et antiaflatoxinogène.....	96
V.2.1. Effet des extraits sur la croissance d' <i>A. flavus</i>	96
V.2.2. Effet des extraits sur la production de l'aflatoxine B1.....	98
V.3. Résultats des tests antioxydants.....	
V.3.1. Piégeage du radical libre stable DPPH.....	
V.3.2. piégeage du peroxyde d'hydrogène.....	102
V.3.3. Pouvoir réducteur.....	105
V.3.4. Blanchissement du β -carotène.....	107
V.3.5. Inhibition de la xanthine oxydase.....	111

VI. Discussion.....	113
Conclusion.....	122
Références bibliographiques.....	125
Les Annexes.....	160

Tableaux

	Page
Tableau 1 : Tableau représentant la structure de base des principaux flavonoïdes.....	
Tableau 2 : Molécules du stress oxydatif	45
Tableau 3: Antioxydants endogènes.....	57
Tableau 4 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées	60
Tableau 5: Quelques sources naturelles de flavonoïdes.....	67
Tableau 6 : Exemples des espèces de moisissures sécrétant certaines mycotoxines et les effets probables des mycotoxines sur l'homme	71/72
Tableau 7: Composés inhibiteurs de la production de l'Aflatoxine (AF) montrant une inhibition accrue de la croissance	77
Tableau 8 : Les espèces végétales utilisées.....	81
Tableau 9 : Les rendements de l'extraction par les solutions méthanoliques et du fractionnement par les solvants organiques (acétate d'éthyle et butanol), exprimés en mg/g.....	89
Tableau 10 : Résultat de la phytochimie qualitative des extraits méthanoliques bruts de différentes espèces végétales.....	91
Tableau 11 : Le contenu phénolique dans les extraits bruts et les fractions, exprimé en mg EAG/g.....	92
Tableau 12 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits bruts et les fractions, exprimée en mg ER/g.....	
Tableau 13 : Le contenu phénolique des feuilles du <i>T. pauciovulata</i> analysé par HPLC-UV.....	98
Tableau 14: Les effets toxiques des extraits (5µg/ml) sur la croissance de la souche	

<i>A. flavus</i>	97
Tableau 15: Effet des extraits sur la biomasse et la production de l'aflatoxine B1.....	99
Tableau 16 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH, exprimés par la concentration efficace EC50 en µg/ml.....	101
Tableau 17 : Résultats de l'activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les extraits, fractions et standard, exprimée en IC50 (µg/ml).....	103

Figures

	Page
Figure 1: Formule générale des glucosinolates.....	24
Figure 2: Biosynthèse des composés phénoliques	27
Figure 3: Photo du <i>Tamarix aphylla</i>	29
Figure 4: Photo du <i>Tamarix pauciovulata</i>	30
Figure 5: Photo de <i>Paronychia argentea</i>	32
Figure 6: Photo de <i>Paranonychia chlorothyrsa</i>	33
Figure 7: Photos de <i>Thymelaea hirsuta</i>	34
Figure 8: Photos du <i>Daphne gnidium</i>	35
Figure 9: Photo d' <i>Haloxylon scoparium</i>	37
Figure 10: Photos d' <i>Arthrophytum schmittianum</i>	38
Figure 11: Photo de <i>Morettia canescens</i>	39
Figure 12 : Photos de <i>Calotropis procera</i>	40
Figure 13: Mécanisme de production des ROS et RNS.....	48
Figure 14 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	49
Figure 15: Les molécules cibles de l'attaque radicalaire.....	50
Figure 16: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine généétique des cellules.....	51
Figure 17: ROS et Maladies.....	53
Figure 18: Stratégie de conception de systèmes antioxydants susceptibles de prévenir la formation de radicaux libres oxygénés ou de permettre leur destruction.....	56
Figure 19: Schéma représentant les sources de ROS et les systèmes de détoxification de la cellule.....	56
Figure 20: Structure chimique des différents tocols.....	59

Figure 21: L'acide ascorbique.....	61
Figure 22: Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique.....	61
Figure 23 : Structure chimique du β -carotène (A), lycopène (B) et lutéine (C).....	63
Figure 24: Model expliquant les étapes de carcinogénèse et les effets potentiels des polyphénols sur la progression du cancer.....	65
Figure 25: Structure chimique de l'aflatoxine B1	74
Figure 26: Bioconversion de l'AFB1 exo-8,9-époxyde.....	75
Figure 27: Représentation schématique de la régulation et de biosynthèse de l'AF avec les modes d'action potentiels des groupes majeurs des inhibiteurs.....	78
Figure 28: Carte géographique montrant les régions de récolte des espèces végétales.....	80
Figure 29: Structure chimique des composés identifiés dans les feuilles du <i>Tamarix Pauciovulata</i>	96
Figure 30: Pouvoir réducteur des extraits, fractions et standard à la dose test de 100 μ g/ml, exprimé en pourcentage.....	106
Figure 31: Effet de 140min d'incubation à la température de 50°C sur l'oxydation du β -carotène en absence (contrôle négatif) et en présence des extraits bruts/ fractions ou BHA.....	108/109
Figure 32: Activité antioxydante, exprimé en pourcentage d'inhibition du blanchissement du β -carotène des extraits et fractions de différents échantillons végétales en comparaison avec du BHA (t=140min, dose test=100 μ g/ml).....	110
Figure 33: Effet des extraits et fractions sur l'activité de la xanthine oxydase en comparaison avec l'inhibiteur standard Allopurinol.....	112

Liste des Abréviations

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
µg	: Microgramme
µM	: Micromole
µm	: Micromètre
ac.	: Acide
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AF	: Aflatoxine
AFB	: Aflatoxines B
AFG	: Aflatoxines G
AGPI	: Acides Gras Polyinsaturés
ARN	: Acide ribonucléique
As	: Arsenic
ATP	: Adénosine-5'-triphosphate
BHA	: Butylhydroxyanisol
C	: Carbone
CA	: Catéchine
CAT	: Catalase
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
Cd	: Cadmium
Cu/Zn-SOD	: Superoxyde dismutase dépendante de Cuivre et Zinc
DMSO	: Dimethylsulfoxyde
DPPH	: Diphényl PicrylHydrazyl
EAG	: Equivalent Acide Gallique

EC	: Epicatechine
ECG	: Epicatechine gallate
EGC	: Epigallocatechine
EGCG	: Epigallocatechine gallate
EMB	: Extrait Méthanolique Brut
ep.	: Epaisseur
ER	: Equivalent Rutine
ERN	: Espèces Réactives Nitrogénées (RNS)
FAE	: Fraction Acétate d'Ethyle
FB	: Fraction Butanolique
FCR	: Reactif de Folin Ciocalteu
FQ	: Fraction Aqueuse
GAE	: Gallic Acid Equivalent
GPX	: Glutathione peroxydase
GSH	: Glutathion réduit
GSR	: Glutathione réductase
GSSG	: Glutathion oxydé (glutathion disulfide)
GYS	: Glucose Yeast Salts
H₂O₂	: peroxyde d'hydrogène
Hg	: Mercure
HNE	: 4-hydroxynonéal
HOCl	: Acide hypochloreux
HPLC	: Chromatographie Liquide Haute Pression
HPLC	: Chromatographie Liquide Haute Pression
I(%)	: Inhibition (pourcentage)
IR	: Ischémie-Reperfusion
LDL	: Lipoprotéines de basse densité (low density lipoprotein)

MDA	: Dialdéhyde malonique ou malone-dialdéhyde
mg	: Milligramme
ml	: millilitre
Mn/SOD	:Superoxyde dismutase dépendante du magnésium
NADP	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NO•	: monoxyde d'azote ou oxyde nitrique
NO₂	: Dioxyde d'azote
NOS	: NO Synthases
O₂	: Oxygène
O₂•-	: anion superoxyde
O₃	: Ozone
OH•	: Radical hydroxyle
ONOOH	: Nitroperoxyde
PAL	: Phénylalanine ammonia-lyase
Pb	: Plomb
PDA	: Potato Dextrose Agar
RL	: Radicaux Libres
ROS	: Espèces réactives oxygénées
-SH	: Groupement thiol
SMKY	: Sucrose-Magnesium sulphate-potassium nitrate-Yeast extract
SOD	: Superoxyde dismutase
Trolox	: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
U	: Unité
XO	: Xanthine oxydase
YES	: Yeast Extract Sucrose
Zn	: Zinc

Introduction

L'homme s'intéresse aux plantes depuis toujours et l'histoire des substances naturelles s'identifie en partie à celle de la pharmacie, dont une discipline, la pharmacognosie, étudie les poisons et les remèdes naturels, ou par extension la plupart des substances biologiquement actives.

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, les antioxydants de synthèse utilisés pour retarder l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables et l'usage excessif d'agents antimicrobiens chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal conduit à l'apparition de souches résistantes.

Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments. Ce développement constitue une étape indispensable pour l'essor de tout un secteur lié aux besoins non seulement de la thérapie, mais aussi de l'industrie agroalimentaire, de la cosmétique et de la parfumerie.

Les propriétés antioxydantes des extraits végétaux sont massivement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que l'Alzheimer, l'artériosclérose et le cancer. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher un apport supplémentaire de composés antioxydants. Les principes actifs des extraits provenant de diverses sources végétales comme le romarin, la sauge, l'avoine, le thé, l'ail, les olives, le gingembre, l'oignon rouge, le raisin, le blé, le caroube, la réglisse, noix de muscade, clou de girofle, origan, cacao, la pomme, le thym, les pousses de trèfle, la mangue, la vanille et toute une série de plantes du monde continuent à avoir un très grand intérêt comme supplément en médecine complémentaire. La plupart de ces extraits contiennent des vitamines, des flavonoïdes et autres polyphénols.

Les plantes sont également utilisées pour leur propriété antibactérienne et antifongique. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale. Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes. Aujourd'hui, le potentiel thérapeutique des produits végétaux est reconsidéré et les études qui leurs sont consacrées abondent dans la littérature scientifique. Un grand nombre de ces composés sont de très bons agents antifongiques. Les études *in vitro* ont démontré que les substances bioactives provenant de diverses espèces végétales présentent un spectre large d'activité sur une gamme de flore fongique dont inclus les champignons toxinogènes.

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. Notre étude consiste à la recherche de l'activité biologique des extraits naturels de différentes sources végétales. Le travail est subdivisé en deux grandes parties : une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques sur les plantes médicinales et leurs substances bioactives, les problèmes liés aux radicaux libres et l'importance des substances naturelles dans la lutte anti-radicalaire, des informations scientifiques sur les espèces sélectionnées basée sur des données botaniques et des travaux de recherche sur leurs propriétés médicinales et pharmacologiques. La partie pratique est partagée en trois parties : (1) une étude phytochimique des extraits de 10 espèces végétales : *Tamarix aphylla* (L.) Karst, *Tamarix pauciovulata* J. Gay, *Thymelaea hirsuta* Endl, *Haloxylon scoparium* Pomel, *Arthrophytum schmittianum* Pomel, *Paronychia argentea* Lam, *Paronychia chlorothyrsa* Murb, *Morettia canescens* Boiss, *Calotropis procera* (Aiton) W.T. et *Daphne gnidium* L. , (2) mesure du potentiel antifongique et antiaflatoxinogène, dans cette partie, nos essais ont été dirigé contre la moisissure toxinogène *Aspergillus flavus* (3) une étude des activités antioxydantes, mesurées par cinq méthodes et (4) une discussion des résultats obtenus *in vitro*.

I.1. Définition d'une plante médicinale

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française note 1 comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais.

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

I.2. Phytothérapie

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales".

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits,... etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages.

I.3. Métabolites secondaires des plantes

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. Nous citerons ci-dessous quelques importants groupes phytochimiques, source de molécules biologiquement actives.

I.3.1. Les huiles essentielles

Les plantes aromatiques ont la particularité de renfermer au sein de leurs organes sécréteurs, des cellules génératrices de métabolites secondaires où des molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène) et où les réactions d'addition de ces unités conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes et leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers et esters terpéniques. L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur caractéristique.

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite. Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Aussi les huiles essentielles font l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux.

I.3.2. Les glucosinolates

Les glucosinolates sont constitués d'un résidu β -D-glucose, d'un résidu oxime sulfaté et d'une chaîne latérale de structure variable selon l'acide aminé dont elle dérive. Leur hydrolyse, au cours de la mastication ou de la préparation culinaire, aboutit à la formation d'isothiocyanates dont la formule générale est la suivante (Figure 1). Les glucosinolates sont notamment rencontrés dans les Brassicaceae ou Crucifères (chou, navet, brocoli, radis, moutarde) et présents à des teneurs variables.

Aussi, comme alcaloïdes naturelles, La cocaïne est un alcaloïde peu abondant présent dans les *Erythroxylum*. La source la plus importante de ce composé est l'*Erythroxylum coca*, utilisé depuis l'antiquité comme anesthésique local, dans le domaine de l'odontologie. Aujourd'hui, en raison de ses propriétés neurotoxiques elle a été remplacée par d'autres drogues moins toxiques mais au cours des interventions chirurgicales des yeux, de l'appareil auditif, du nez et de la gorge, la cocaïne est encore largement utilisée. Associée à l'héroïne, elle est également efficace pour soulager la douleur chez les patients atteints d'un cancer, en phase terminale. La lobéline, extraite de la *Lobelia inflata*, est utilisée dans les préparations pour lutter contre le tabagisme. L'extrait brut de la plante est largement employé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite. La spartéine, isolée de *Cytisus scoparius*, est très toxique mais le sel de sulfate correspondant est utilisé en médecine comme agent stimulant du rythme cardiaque. Elle est également utilisée pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement. L'éphédrine, isolée d'*Ephedra sinica*, est utilisée avec succès dans le traitement de l'asthme bronchique et également comme médicament analgésique et anti-allergique. La papavérine, isolée de *Papaver somniferum* a une activité vasodilatatrice et des propriétés hypnotiques et analgésiques. La berbérine, isolée de *Berberis vulgaris*, a des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes. La morphine, isolée de la plante de la famille des opiacées, le *Papaver somnifère*, reste encore à ce jour un des analgésiques les plus efficaces utilisés en médecine. Enfin, la galanthamine agit en tant qu'inhibiteur compétitif de la cholinestérase, et de ce fait utile dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

I.3.4. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un des groupes les plus importants chez les végétaux, issus de la grande voie d'aromagenèse ; shikimates ou acide shikimique (figure 2) et de la voie acétate-malonate et peuvent être divisés en diverses classes sur la base de leur structure moléculaire, et plus de 8000 composés différents ont été décrits. Les plus abondants sont les acides phénols, les flavonoïdes, les stilbènes et les

lignanes, dont les flavonoïdes et les acides phénols comptent 60% et 30%, respectivement, de polyphénols diététiques. Plus de 4000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées, et partagent un squelette carboné commun de diphenylpropanes (C6–C3–C6 ; c.-à-d., deux noyaux benzènes jointifs par une chaîne linéaire de trois-carbones formant un hétérocycle oxygéné) (Tableau 1). Les flavonoïdes peuvent être divisés en diverses classes selon leur structure moléculaire ; les groupes principaux sont les flavanols, les flavones, les flavanones, les flavonols, les isoflavones et les anthocyanidines. Les groupes représentatifs de flavonoïdes sont énumérés dans le Tableau 1 ainsi que leur structure moléculaire et le composé le plus connu de chaque groupe.

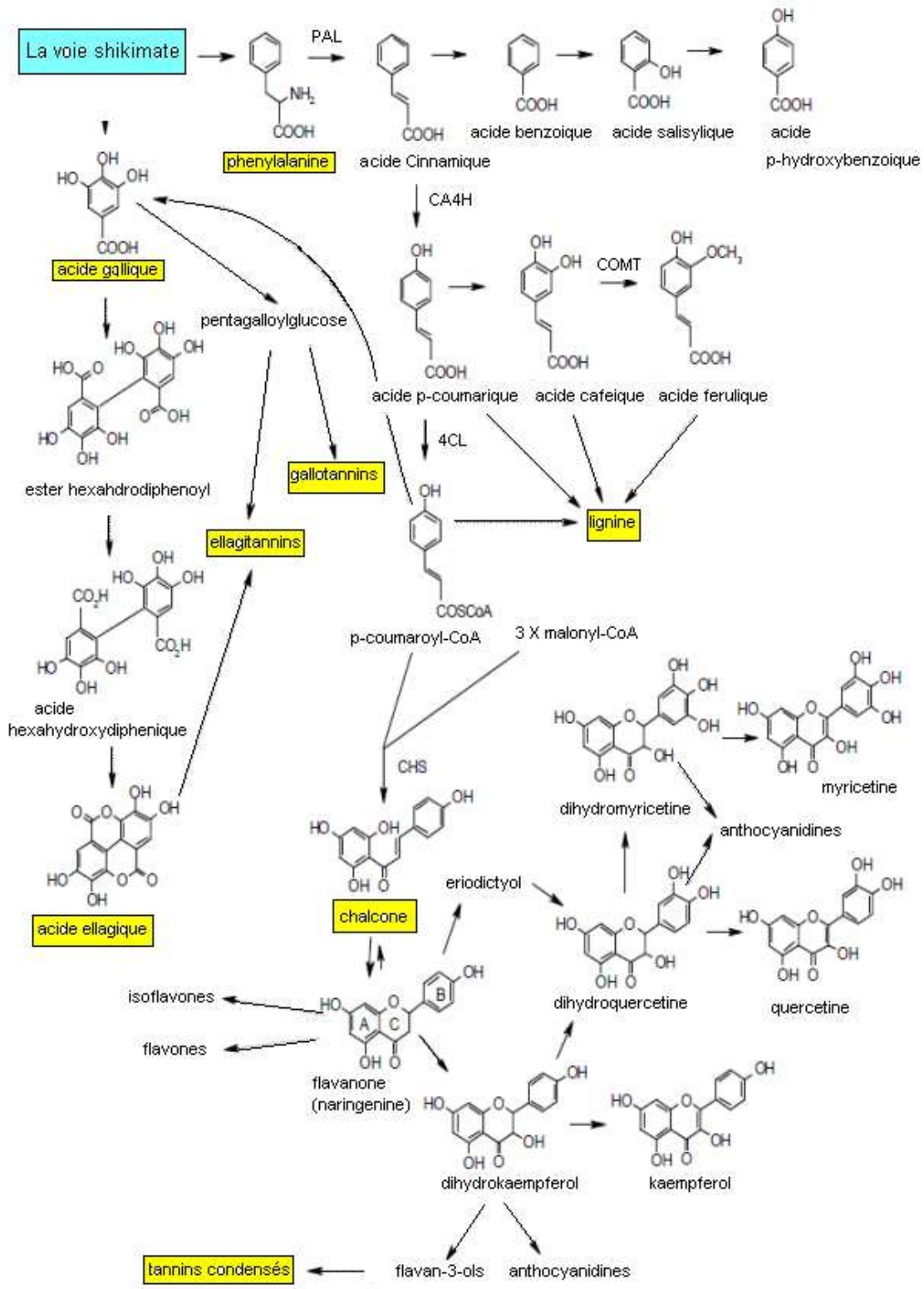
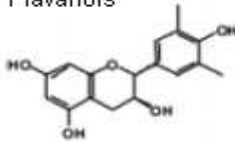
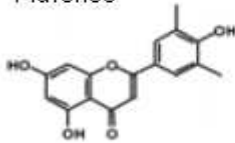
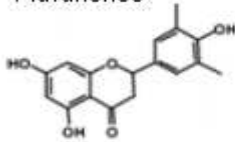
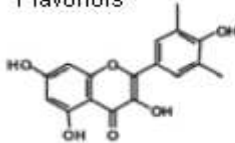
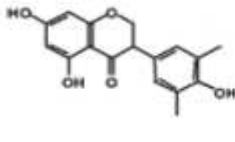
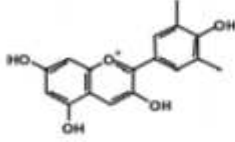


Figure 2: Biosynthèse des composés phénoliques.

Tableau 1 : Tableau représentant la structure de base des principaux flavonoïdes

Flavonoïdes Classe	Flavonoïdes (exemples)
Flavanols 	EGCG Epigallocatechine Catéchine Epicatechine
Flavones 	Luteoline Apigénine Chrysin
Flavanones 	Naringénine Hesperidine Eriodictyol
Flavonols 	Quercétine Myricétine Kaempférol Rutine
Isoflavonoïdes 	Genistéine Daidzéine
Anthocyanidines 	Pelargonidine Cyanidine Malvidine

II.1. *Tamarix aphylla* (L.) Karst.

II.1.1. Noms vernaculaires

Nom français : Tamaris, Tamarin

Nom anglais : Athel tree, Athel pine, Salt cedar, Tamarisk

Nom arabe : Tlaïa, Ethel, Tabarakat, Tarfa

II.1.2. Présentation et description botanique

Le *Tamarix aphylla* (L.) Karst. (Figure 3) est un arbre puissant à tronc robuste souvent ramifié dès la base. Feuilles formant une gaine complète autour des rameaux donnant à ceux-ci un aspect articulé dépourvu de feuille. Chatons grêles au sommet de jeunes tiges. Etamines 5 insérées entre les cornes du disque.

La floraison se produit en automne. Le fruit est une capsule pyriforme contenant 20 à 30 graines surmontées d'une aigrette. La galle du *Tamarix* est une excroissance produite sur l'arbre par un papillon : *Amblypalpis Olivierella*. Elle se développe au dépend des inflorescences mais l'infection n'entrave en rien le développement de l'arbre.

II.1.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Caryophyllales

Famille: Tamaricaceae

Genre: *Tamarix*

Nom Latin: *Tamarix aphylla* (L.) Karst.

II.1.4. Composition et propriétés biologiques

Les feuilles du *Tamarix aphylla* contiennent du Rhamnétine glucuronide trisulphate, la galle contient de l'acide tamarixellagique et les acides déhydrodigallique et déhydrotrigallique. El Ansari et al. (1976) ont isolé de la quercétine isoféruylglucuronide et le kaempférol 7,4'-diméthyl-éther sulfate des fleurs de *Tamarix aphylla*. Une analyse récente faite par Mohammed et Akhlaq (2011) révèle la présence de trois nouveaux acides phénoliques dans la galle : l'acide benzoïque, l'acide tamarixoïque et l'acide diméthylénoxy-diférulique.

La première utilisation et la plus ancienne du *T. aphylla* était la production de galle utilisée pour le tannage des peaux de mouton et de chèvre. En médecine traditionnelle, les *Tamarix* sont utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques et toutes les parties étaient utilisées pour leur astringence. Les fleurs sont appliquées en cataplasme sur les abcès cutanés et les plaies. Les galles, riches en tanins (50-55%), en infusion ou décoction sont anti-diarrhéiques. Ils sont utilisés pour soulager les douleurs dentaires.

II.2. *Tamarix pauciovulata* J. Gay

II.2.1. Noms vernaculaires

Nom français : Tamaris mâle

Nom arabe : Azaoua, Azawa, L'arich

II.2.2. Présentation et description botanique

Le *Tamarix pauciovulata* J. Gay (Figure 4) est une espèce endémique saharienne, arbuste à feuilles très courtes, très obtuses au sommet et des fleurs grandes. Capsule de 5-10mm, étamines de 5-10 insérées sur les cornes du disque.

II.2.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Caryophyllales

Famille: Tamaricaceae

Genre: *Tamarix*

Nom Latin: *Tamarix pauciovulata* J. Gay

II.2.4. Composition et propriétés biologiques

Cette espèce n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique et phytothérapeutique, de rares travaux scientifiques sont publiés et concernent dans la majorité des cas des études du comportement écophysiological et botanique.

Cette espèce, en usage médicinale est utilisée par la population saharienne de la même façon que le *Tamarix aphylla*, de plus c'est un bon pâturage des zones arides en période de sécheresse.

II.3. *Paronychia argentea* (pour.) Lamk.

II.3.1. Noms vernaculaires

Nom français : Paronyque argenté, Thé Algérien, Thé arabe, Herbe-au-panaris

Nom anglais : Silvery, Whittle-Wart, Mountain-knot-grass, Algerian Tea

Nom arabe : Fersch n'dah, B'sat el moulouk, Thai el arab

II.3.2. Présentation et description botanique

C'est une plante vivace herbacée de 10 à 40cm de long, articulé, allongé, pubescente par des poils courts. Feuilles vertes, opposées sur des nœuds renflés,

sessiles. Calice sans poils en crosse, de petites fleurs blanches et des bractées bien plus longues que les fleurs, largement ovales. On rencontre cette espèce dans les lieux arides et généralement sableux de la région méditerranéenne. Elle est distribuée dans toute l'Algérie (figure 5).

II.3.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Caryophyllales

Famille: Caryophyllaceae

Genre: *Paronychia*

Nom Latin: *Paronychia argentea* Lamk

II.3.4. Composition et propriétés biologiques

Elle contient des saponines (oleanane), des flavonoïdes, des stérols et des huiles volatils. Utilisée dans le Maghreb comme boisson et remède populaire à titre préventif contre la formation des calculs rénaux et vésiculaires. La population algérienne l'emploi en infusion diurétique, utilisée comme un thé car elle donne une tisane au goût agréable. Les extraits chloroformiques présentent une bonne activité antimicrobienne contre les souches *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Morganella morganii*. Les feuilles et fleurs sont utilisées pour traiter les calculs rénaux, le diabète et les maladies cardiovasculaires.

II.4. *Paronychia chlorothyrsa* (Murb.) Maire

II.4.1. Noms vernaculaires

Nom arabe : Fersch n'dah, Ataï el djebel

II.4.2. Présentation et description botanique

Paronychia chlorothyrsa (figure 6) est une plante herbacée à sépales très inégaux, veloutés intérieurement, 3 nerviés dans leur portion inférieure, de 3-13cm de long, feuilles lancéolées ou oblancéolées de 4-8mm de long et de 1-2mm de large, fleurs avec 5 sépales groupées en cymes glomérulaires subterminales. Distribuée dans l'Afrique subtropicale, du Maroc jusqu'en Lybie, Europe méridionale (sud-est de l'Espagne). Dans les déserts, dunes, les rochers et les sols sablonneux.

II.4.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Caryophyllales

Famille: Caryophyllaceae

Genre: *Paronychia*

Nom Latin: *Paronychia chlorothyrsa* Murb.

II.4.4. Composition et propriétés biologiques

De rares travaux scientifiques sur la plante, tous dans le contexte écologique, botanique et statistique. La population algérienne la confond avec l'espèce précédente et l'utilise de manière identique à *P. argentea*.

II.5. *Thymelaea hirsuta* Endel.

II.5.1. Noms vernaculaires

Nom français : Passerine hérissée, Passerine hirsute, Thymélée hirsute

Nom anglais : Hairy Thymelaea

Nom arabe : Mitnan, Metenan, Methnane, Matnan el akhdar

II.5.2. Présentation et description botanique

Le genre *Thymelaea* comprend 20 espèces que l'on trouve autour de la Méditerranée, et jusqu'en Asie centrale et Pakistan. Son aire de distribution est essentiellement circumméditerranéenne (sud de l'Europe, sud-ouest de l'Asie, Afrique du Nord). Elle s'étend cependant à l'ouest au littoral atlantique du sud de l'Espagne, du sud du Portugal et du Maroc nord-occidental. En Afrique du Nord, la limite sud de son aire coïncide à peu près exactement avec la bordure du Sahara. *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. (= *Passerina hirsuta* L.) (figure 7) est une Thymelaeaceae vivace arbustive susceptible d'atteindre 2-3 mètres de hauteur, à feuilles très petites densément imbriquées, coriaces ovoïdes aigues, glabres en dessous, pubescentes- laineuses en dessus ainsi que les tiges. Fleurs 2-5 au sommet des rameaux à calice rapidement caduc, jaunâtre, polygame. La plante porte sur des pieds différents soit des fleurs unisexuées soit des fleurs hermaphrodites. Les fruits sont des baies glabres, consommées par les animaux (dispersion zoochore). La floraison va d'octobre à avril, c'est une plante entomogame.

II.5.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Malvales

Famille: Thymelaeaceae

Genre: *Thymelaea*

Nom Latin: *Thymelaea hirsuta* Endel.

II.5.4. Composition et propriétés biologiques

Les extraits de cette plante possèdent des effets antimélanogène dus aux daphnanes. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés antiseptique, hypoglycémique, anti-hypertension, contre les affections de la peau (dermatoses). C'est aussi une source de fibres à papier.

II.6. *Daphne gnidium* L.

II.6.1. Noms vernaculaires

Nom français : Garou, Daphné Garou, Thymèle, Saint Bois

Nom anglais : Flax-leaved Daphne

Nom arabe : Lazzaz

II.6.2. Présentation et description botanique

C'est un arbuste des garrigues méditerranéennes et des sables atlantiques, existe dans tout le Tell de l'Algérie (figure 8), de 60 cm à 2 m de haut ou plus, à rameaux minces très feuillés. Des feuilles persistantes ou caduques, lancéolées-linéaires, larges de 5-7mm au plus, cupsidées, très denses. Inflorescences terminales en panicule rameuse longue de 5-10cm, entièrement blanche – tomenteuse, fleurs blanches caduques. Le fruit est une drupe ovoïde, rouge orangé. La floraison va d'octobre à mars, c'est une plante entomogame.

II.6.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Malvales

Famille: Thymelaeaceae

Genre: *Daphne*

Nom Latin: *Daphne gnidium* L.

II.6.4. Composition et propriétés biologiques

Le *Daphne gnidium* contient des coumarines (Daphnéline, daphnine, acétylimbelliférone, daphnorétine) et des flavonoïdes (lutéolin-3',7-di-*O*-glucoside, lutéoline, orientine, isoorientine, quercétine, apigénine-7-*O*-glucoside, genkwanine, 5-*O*-β-D-primeverosyl genkwanine, 2,5,7,4'-tétrahydroxyisoflavanol). Les graines et les écorces des différentes espèces de *Daphne* renferment des diterpènes toxiques, la daphnétoxine (écorce) et la mézéréine (graines). L'ingestion des fruits déclenche une ulcération du tube digestif et le contact des écorces avec la peau ou les muqueuses provoque une irritation importante.

Anciennement, l'écorce des plantes du genre *Daphne* et plus particulièrement du *Daphne gnidium* était utilisé sous forme de pommade aux propriétés épispastiques. En Phytothérapie, la plante est indiquée dans le traitement des leucémies, des tumeurs solides, la sclérose en plaque et le sida. Le principe actif susceptible de détruire les leucoblastes malins dans la leucémie myéloblastique aigue en évolution est le Primeverosyl B genkwanine, hétéroside extrait primitivement du *Gnidia kraussiana*, plante de la savane africaine et actuellement du *Daphne gnidium*, plante méditerranéenne; cette dernière contient en effet un plus fort pourcentage de principe actif; dont la purification est plus facile. Dans la pharmacopée traditionnelle, il était utilisé pour ses propriétés antiseptique, insecticide, dépurative, cicatrisante, sudorifique et abortive. Le Garou possède des effets cytotoxique, antioxydant et antimicrobien.

II.7. *Haloxylon scoparium* Pomel.

II.7.1. Noms vernaculaires

Nom français : Bunge, Saligne à balai

Nom arabe : Remt, Rimth, Remth

II.7.2. Présentation et description botanique

Les espèces du genre *Haloxylon*, sont des arbustes ou de petits arbres à rameaux cylindriques, souvent articulés, sans feuilles distinctes, assez proches des *Anabasis* par leurs caractères botaniques. Réparties dans les steppes du Turkestan, dans le désert de Syrie, dans le Sahara, etc., ces espèces ont des exigences écologiques assez voisines de celles des *Anabasis* et sont également des xérophytes-halophytes.

Haloxylon scoparium Pomel. (= *Haloxylon articulatum* subsp. *Scoparium* (Pomel) Batt. = *Hammada scoparia* (Pomel) = *Arthrophytum scoparium* (Pomel) (figure 9), distribué en sud-est de l'Espagne, Afrique du Nord et en partie dans la région Irano-Turaniénne ; en Iran, Turquie, et la Syrie, est un Arbrisseau, à tiges grêles dressées, très rameuses. Rameaux secondaires rapidement érigés, verts foncés noircissant sur le sec. Entrenoeuds allongés (0,8-3 cm pour les inférieurs). Périanthe fructifère à ailes en général striées de rose ou de pourpre de 7 mm de diamètre. Inflorescences courtes, groupées au sommet des rameaux. Les fleurs sont dépourvues de pétales.

II.7.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Caryophyllales

Famille: Amaranthaceae

Genre: *Haloxylon*

Nom Latin: *Haloxylon scoparium* Pomel.

II.7.4. Composition et propriétés biologiques

Haloxylon scoparium renferme des polyphénols, des saponosides et plus particulièrement des alcaloïdes, ainsi des dihydroisocoumarines. *Haloxylon scoparium* de l'Algérie contient la cargenine, et la *N*-méthylisosalsoline comme alcaloïdes majoritaires type tétrahydroisoquinoline et la isosalsoline, salsolidine, isosalsolidine, déhydrosalsolidine, tryptamine et la *N*-méthyltryptamine comme alcaloïdes minoritaires.

Les feuilles contiennent des flavonols triglycosides , l'isorhamnétin 3-*O*- β -D-xylopyranosyl- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-galactopyranoside, l'isorhamnétin 3-*O*- β -D-apiofuranosyl- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-galactopyranoside, l'isorhamnétin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-galactopyranoside.

Les parties aériennes sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les désordres et les problèmes de l'œil et la vision, les problèmes de digestion, les dermatoses, les piqûres des scorpions. Les extraits aqueux ont un pouvoir anticancéreux, anti-spasme et larvicide. *In vivo*, Bourogaa et al. (2012) ont démontré que les extraits aqueux des feuilles de *H. scoparium* exercent une activité hépatoprotectrice chez le rat.

II.8. *Arthrophytum schmittianum* (pomel)

II.8.1. Noms vernaculaires

Nom français : Bunge

Nom arabe : Remt, Rimth, Remth, Baguel

II.8.2. Présentation et description botanique

C'est un arbrisseau à tiges grêles dressées, très rameuses. Rameaux secondaires rapidement érigés, verts foncés. Entrenoeuds allongés (0,8-3 cm pour les inférieurs). Périanthe fructifère à ailes en général striées de rose ou de pourpre de 7 mm de diamètre. Inflorescences allongées en général sur toute la longueur des rameaux. Plante des pâturages désertiques (figure 10).

II.8.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Caryophyllales

Famille: Amaranthaceae

Genre: *Arthrophytum*

Nom Latin: *Arthrophytum schmittianum* (Pomel) M. et W.

II.8.4. Composition et propriétés biologiques

La plante renferme des triterpènes, des alcaloïdes, les dérivés cycloheximides, des coumarines, des dérivés stérols. La partie aérienne contient une série d'alcaloïdes dont l'haloxynine, pipéridine, halosaline, anabasine, hordénine, N-méthyltyramine, haloxine et aldotripipéridine. Ils servent à la défense contre les insectes et les herbivores. Ferheen et al. (2005) ont isolé deux haloxylines ; alcaloïdes de type pipéridine et ont prouvé un potentiel antifongique et inhibiteur vis-à-vis des cholinestérases.

II.9. *Morettia canescens* Boiss.

II.9.1. Noms vernaculaires

Nom arabe : Habalia, Slagh

II.9.2. Présentation et description botanique

Plante désertique, rameuse, étoilée, blanchâtre, à indumentum étoilé. Feuilles ovales. Inflorescences en grappes allongées à siliques appliquées. Fleurs allant du blanc au mauve très petites. Pétales linéaires. Siliques de 5-15mm, cylindriques, aigues au sommet, plus ou moins tronquées à la base, hispides. Valves saillantes intérieurement entre les graines et constituant des cloisons transversales incomplètes, graines uninerviées et aptères (figure 11).

II.9.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Brassicales

Famille: Brassicaceae

Genre: *Morettia*

Nom Latin: *Morettia canescens* Boiss.

II.9.4. Composition et propriétés biologiques

Très peu documentée, Cette plante pousse très rapidement après une pluie et représente un excellent aliment pour les animaux, la population du Sahara algérienne l'utilise dans l'alimentation des chameaux.

II. 10. *Calotropis procera* (Ait.)

II.10.1. Noms vernaculaires

Nom français : Pommier de Sodome, Arbre à soie, Arbre de Satan, Arbre à couilles

Nom anglais : Sodome Apple, Akund Crown flower, Dead Sea Fruit

Nom arabe : Kranka, Torha, Torcha

II.10.2. Présentation et description botanique

Calotropis procera (Ait.) (figure 12), de la famille des Apocynacées (Asclepiadacées), arbuste de 2 à 2,50 m de haut portant des fleurs odorantes de couleur rose, tachetées de pourpre avec grandes feuilles, d'origine Saharo-Sindienne, espèce commune dans le Sahara central et méridional, en Afrique orientale et en Libye, où elle est associée au *Balanites oegyptiaca*, en Egypte. C'est une xérophyte typique bien que peu xéromorphe.

Calotropis procera ou l'arbre à soie est un arbuste à latex blanc. Son écorce est épaisse et ligneuse et les rameaux sont finement pubescents. Les feuilles sont persistantes ovales, opposées, sessiles jusqu'à 30 cm de long et 16 cm de large. Inflorescence en cymes axillaires portant des fleurs de 1 à 2 cm de diamètre. Gros fruits vert, ovoïdes de 5 à 10 cm de long. Graines nombreuses entourées d'une bourre fine de couleur argentée. La floraison se déroule durant toute l'année aussi bien en saison sèche qu'en saison des pluies.

II.10.3. Systématique

Règne: Végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Gentianales

Famille: Apocynaceae

Genre: *Calotropis*

Nom Latin: *Calotropis procera* Aiton

II.10.4. Composition et propriétés biologiques

Les feuilles et les tiges de cette espèce renferment de la calotropine et de la calotropagénine. Le latex renferme les principes cardiaques calotropine, uscharine et calotoxine. *C. procera*, contient également des résinols et de la gigantine. On l'emploie pour soigner la gale des chameaux et en médecine populaire comme émétique et antidysentérique. La teinture de feuilles pour le traitement du paludisme. Réduites en poudre, les fleurs sont efficaces à petite dose contre les rhumes, la toux, l'asthme et l'indigestion. La poudre tirée de l'écorce de la racine calme la dysenterie. A faible dose, c'est un diaphorétique et un expectorant, et à forte dose un émétique. En pâte, elle est utilisée contre l'éléphantiasis.

Le latex a une action violemment irritante sur la peau et les muqueuses. Kerbaro et Adam (1974) ont démontré que les feuilles fraîches séchées de *C. procera* étaient atoxiques, contrairement aux extraits de feuilles fraîches, qui renferment du latex dont la toxicité est redoutable.

Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle et en pharmacologie elle possède donc de nombreuses propriétés: diaphorétiques, anthelmintiques, antisyphilitiques, purgatives, hépatoprotectrice, anti-tumorale, antipyrétique, antitussive et antidontalgique. Elle est connue pour son action antibiotique, antifongique, nématocide, molluscicide et insecticide. Elle traite la lèpre et les callosités.

III.1. validation de l'activité biologique des plantes médicinales

Les outils du chercheur se sont tellement perfectionnés et ce d'une manière exponentielle, que toutes les méthodes ont été bouleversées. Tant en chimie qu'en pharmacologie des substances naturelles, que dans le domaine des biotechnologies, les récents développements techniques ont déterminé trois approches différentes, ce sont celles de la chimie, de la pharmacologie et des biotechnologies.

Les recherches chimiques sur les substances naturelles s'appuient sur des techniques de séparation des constituants (chromatographie) et de leur détermination structurale (spectrographie). Aujourd'hui, les multiples possibilités de chromatographie sur des supports de plus en plus différenciés permettent d'isoler sans difficultés insurmontables des produits autrefois inaccessibles. Il y a eu accroissement considérable de la puissance et de la finesse d'analyse. La détermination de structure des molécules est donc de plus en plus facile, mais elle devient aussi, et de plus en plus, l'affaire de spécialistes maîtres de tous petits créneaux techniques, et nantis d'un matériel très onéreux.

Le chercheur doit aussi étudier l'activité des plantes médicinales et de leurs extraits et donc, tenter de plus en plus de sélectionner les plantes en fonction de leur activité biologique, ensuite se préoccuper de garantir à l'utilisateur une source permanente et suffisante de principes actifs, sans détruire les gîtes naturels productifs.

III.2. Activité antioxydante

III.2.1. Stress et Radicaux libres

III.2.1.1. Définition du stress

Le stress oxydant apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur de l'état pro-oxydant.

III.2.1.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairier son électron. L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène (Tableau 2): anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle (OH^{\bullet}) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

A côté des ROS, il existe des ERN (espèces réactives nitrogénées) dont le représentant majeur le NO^{\bullet} . C'est un agent vasodilatateur. Il est synthétisé par les NO synthases (NOS). Le NO^{\bullet} est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés pour former des molécules plus toxiques comme les peroxy-nitrites.

Tableau 2 : Molécules du stress oxydatif

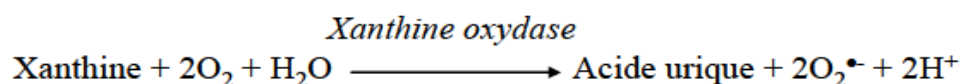
nomenclature	structure	principales réactions
Superoxyde	$\bullet\text{O}=\text{O}^{\bullet}$	Catalyseur de la réaction de Haber-WeiB par recyclage de Fe^{2+} et Cu^+ ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxydinitrite
Peroxyde d'hydrogène	$\text{HO}=\text{OH}$	Formation du radical hydroxyle ; inactivation d'enzymes ; oxydation de biomolécules
Radical hydroxyle	$\bullet\text{OH}$	abstraction de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols
ozone	$^{\bullet}\text{O}=\text{O}^+=\text{O}$	Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formations des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques
Oxygène singulet	$\bullet\text{O}=\text{O}$	Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides
Oxyde nitrique	$\bullet\text{N}=\text{O}$	Formation de peroxydinitrite, réaction avec autres radicaux
peroxydinitrite	$\text{O}=\text{N}=\text{O}=\text{O}^{\bullet}$	Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules
Hypochlorite	ClO^{\bullet}	Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore
radical	R^{\bullet}	abstraction de l'hydrogène, formation des radicaux peroxy et autres radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules
Radical peroxy	$\text{R}=\text{O}=\text{O}^{\bullet}$	abstraction de l'hydrogène, formation des radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules
Hydroperoxyde	$\text{R}=\text{O}=\text{OH}$	Oxydation de biomolécules, destruction de membranes biologiques
ions fer et cuivre	$\text{Cu}^{2+}, \text{Fe}^{3+}$	Formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton et Haber-WeiB

III.2.1.3. Production de radicaux libres

Dans l'organisme, la production physiologique d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) se fait de manière continue. Ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire. Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes.

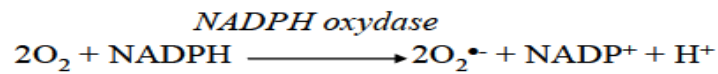
La principale source de ROS est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire, elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires. Il existe de nombreuses autres sources parmi lesquelles l'autooxydation des petites molécules, Les cyclooxygénases et lipooxygénases, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase, le réticulum endoplasmique et les peroxysomes. L'auto-oxydation de la dopamine est en partie impliquée dans le processus apoptotique lors de pathologies neurodégénératives, notamment lors de la maladie de Parkinson.

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie-reperfusion ou d'hypoxie. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi l'O₂^{•-}.



Le NADPH oxydase joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire et plus précisément dans la lutte contre les micro-organismes. Il catalyse le transfert d'électrons de son substrat le NADPH à l'accepteur final l'oxygène entraînant la

production d'anions superoxyde et ses dérivés de réduction : le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et l'oxygène singulet.



Les enzymes NO synthases sont responsables de la synthèse de monoxyde d'azote (NO[•]) à partir de la L-arginine dans les tissus des mammifères. Le monoxyde d'azote (NO[•]) interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxynitrite, composé extrêmement réactif et toxique. Le NO[•] et le peroxynitrite interagissent avec des protéines et peuvent altérer leurs propriétés. D'autres oxydants très puissants existent qu'ils soient des radicaux libres ou non, par exemple, des oxydants chlorés (HOCl) sont libérés par les macrophages et ont une activité bactéricide importante (figure 13).

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions pour détoxifier les molécules liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques. La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques, produisant ainsi des ROS ; des ions superoxyde O₂^{•-} et du peroxyde d'hydrogène H₂O₂. Toutefois, l'H₂O₂ est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification dans le foie et le rein. Seule une faible quantité d'H₂O₂ produit au niveau du peroxysome pourrait échapper à la catalase.

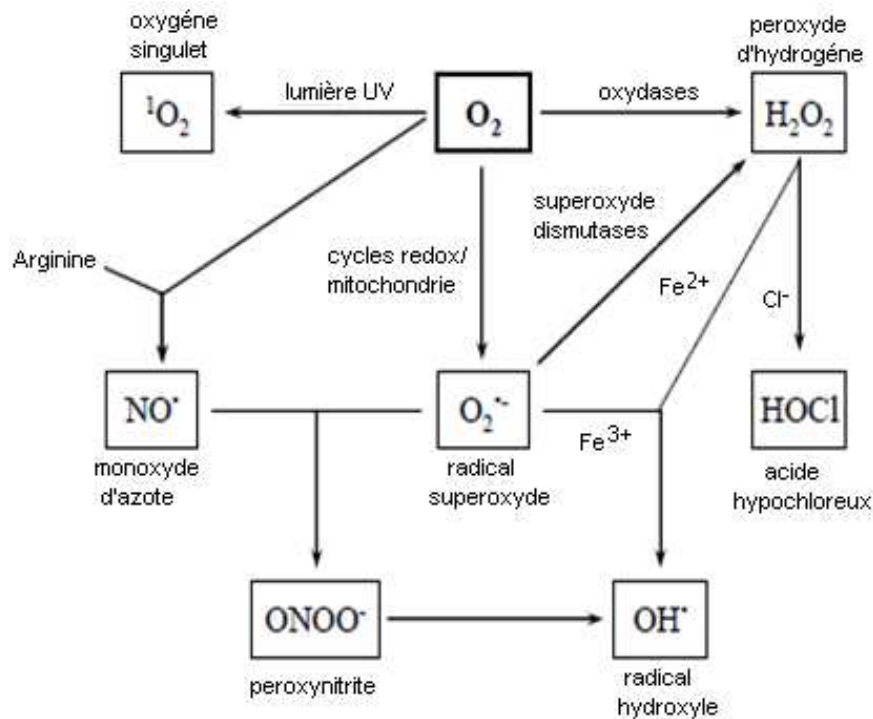
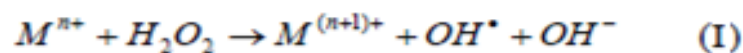


Figure 13: Mécanisme de production des ROS et RNS

Les métaux de transition participent également au stress oxydant. Leur action conduit à la conversion d'oxydants relativement stables en des radicaux puissants à haute réactivité, suivant la réaction de Fenton (I).



Où **M** représente un cation métallique au degré d'oxydation n ou n+1.

Les facteurs exogènes sont également très variés. Parmi: Les radiations ionisantes, ultraviolets, micro-ondes, les insecticides, antibiotiques, médicaments, les aliments riches en protéines et/ou en lipides, les polluants ; la fumée ; le SO₂ ; le NO₂ ; le O₃ ; les hydrocarbures ; les métaux ; l'arsenic ; l'amiante ; le nickel.....etc).

La figure 14 résume les facteurs endogènes et exogènes responsables de la production des radicaux à l'origine du stress oxydatif.

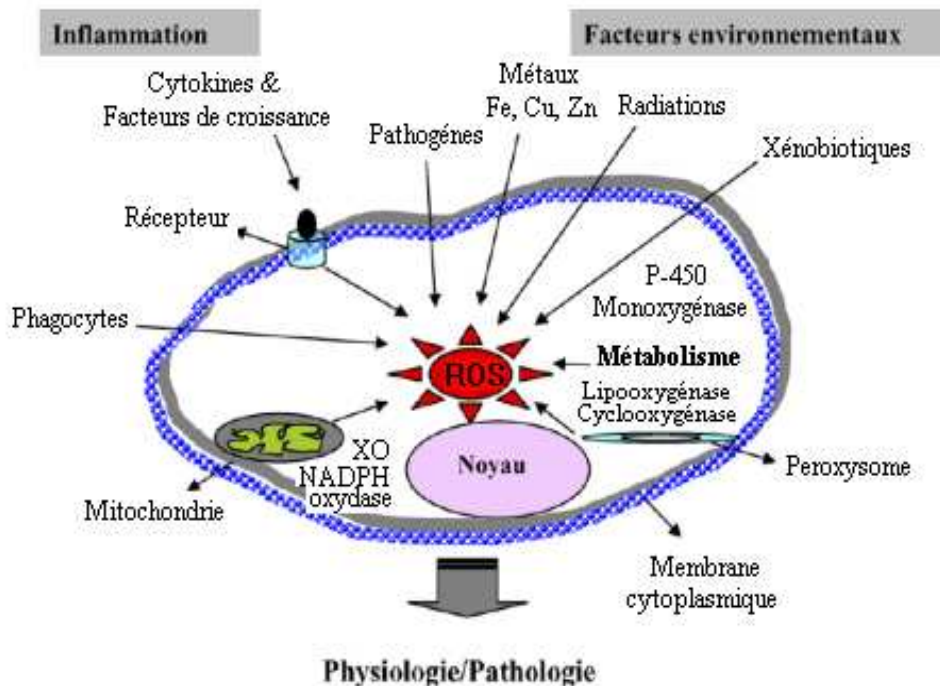


Figure 14 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène. XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450

III.2.1.4. Les maladies liées au stress oxydant

III.2.1.4.1. Oxydation des molécules biologiques

Les espèces activées de l'oxygène de part leur structure électronique instable peuvent attaquer les composants cellulaires (figure 15).

Les molécules biologiques : protéines, les lipides, glucides et l'ADN sont sujettes à l'attaque radicalaire, provoquant ainsi un dysfonctionnement dans les activités vitales des cellules à l'origine du développement de diverses pathologies.

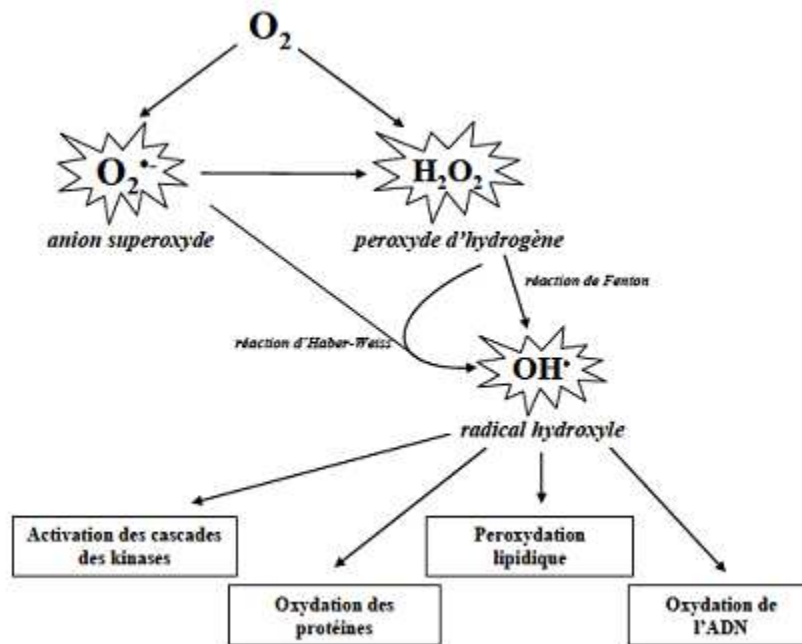


Figure 15 : Les molécules cibles de l'attaque radicalaire

III.2.1.4.1.1. Oxydation des lipides

Les AGPI sont la cible lipidique majeure des ROS. Les membranes plasmiques et des organites cellulaires sont particulièrement vulnérables. La peroxydation lipidique est la détérioration oxydative des AGPI, dans notre organisme, des lésions d'origine radicalaire sont en effet susceptibles de modifier la structure des lipides, qui va se propager à d'autres types moléculaires et produire des aldéhydes génotoxiques.

Les produits de peroxydation lipidique (4-HNE, malondialdéhyde) sont hautement délétères pour les cellules. Le 4-HNE peut oxyder les protéines en se liant à leur groupement thiol (SH). La peroxydation des lipides membranaires altère la fluidité et les propriétés biologiques de la membrane et peut mener à l'inactivation d'enzymes et de récepteurs liés à la membrane, ce qui risque d'affecter le fonctionnement cellulaire normal et d'augmenter la perméabilité. La peroxydation lipidique contribue également au phénomène du vieillissement et semble responsable

du développement de nombreuses maladies liées à l'âge, donc de diverses maladies chroniques.

III.2.1.4.1.2. Oxydation des acides nucléiques

L'ADN est plus vulnérable aux dégâts oxydatifs, les ROS peuvent réagir avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH₂DG) qui est capable d'induire des mutations spécifiques. Les dégâts sur l'ADN peuvent résulter en des cassures de brins, des enchainements croisés protéines-ADN et des modifications de bases. La figure 16 résume les dommages de l'ADN causés par les radicaux libres.

L'accumulation de dommages oxydatifs à l'ADN risque de développer un cancer au cours de la vie. Les mécanismes oxydatifs ont été reconnus pour avoir un rôle important à jouer dans les principales étapes de la carcinogenèse, soit l'initiation, la promotion et la progression du cancer.

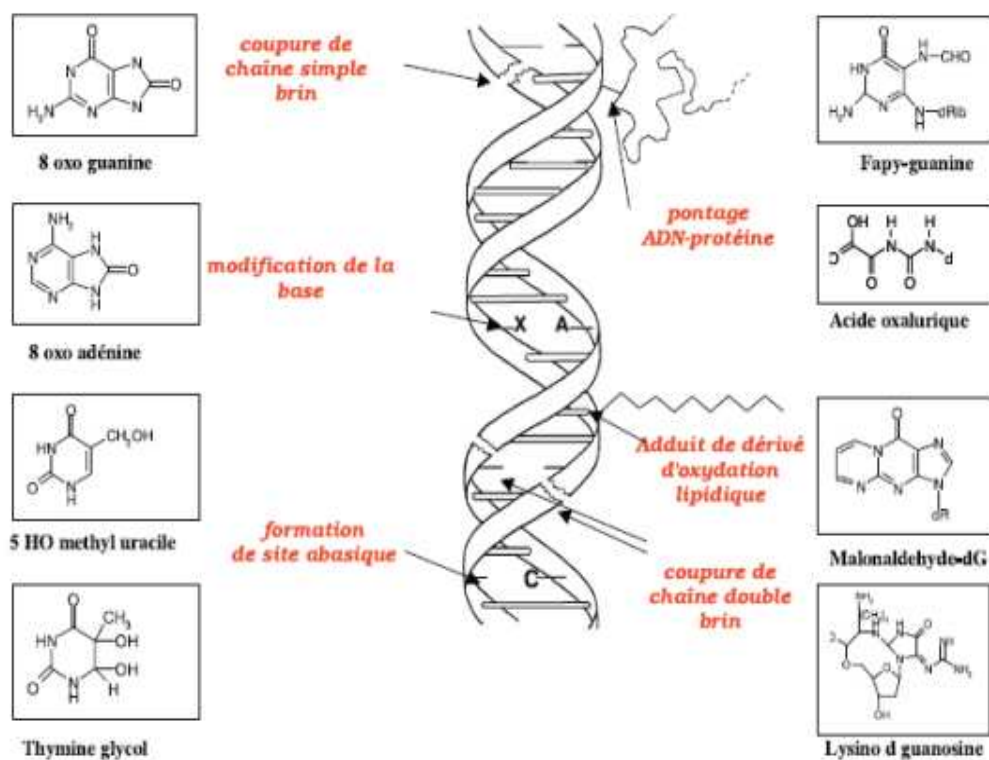


Figure 16 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules

III.2.1.4.1.3. Oxydation des protéines

Les modifications des structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par les ROS sont à la base de la formation de dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés. Une série de rapports montrant une relation entre l'accumulation de protéines oxydées et le processus du vieillissement. Cette accumulation présente le risque de développer une maladie chronique. C'est d'ailleurs le cas de la maladie d'Alzheimer pour laquelle il a été suggéré que les dommages oxydatifs aux protéines soient responsables de la formation des dégénérescences neurofibrillaires, des plaques séniles et de la mort de nombreux neurones au cours du développement de la maladie.

III.2.1.4.1.4. Oxydation des lipoprotéines

Le dommage oxydatif provoque des changements dans la structure des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont riches en acides gras polyinsaturés. La peroxydation induite dans les LDL par les ROS provoque la formation d'aldéhydes (MDA et HNE), qui peuvent à leur tour oxyder les LDL.

Les LDL oxydées peuvent nuire au bon fonctionnement cardio-vasculaire de deux façons: soit en s'attaquant au cœur, soit en s'attaquant aux vaisseaux sanguins.

III.2.1.4.2. Les maladies du stress

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies (figure 17), incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale d'un ensemble de fonctions physiologiques ainsi que d'une susceptibilité plus élevée face à différentes maladies. La théorie radicalaire explique ces altérations par l'accumulation de molécules oxydées et par conséquent l'apparition de mutations, la carbonylation des protéines, leur dénaturation et leur agrégation, l'oxydation des lipides. Une élévation des marqueurs biologiques du stress oxydant comme la 8-oxo-guanine, le dialdéhyde malonique (MDA) et les isoprostanes a été observée au cours du vieillissement. En plus, l'efficacité des mécanismes de réparation cellulaire comme le protéasome, les protéines chaperons, plusieurs enzymes réductrices et les systèmes de réparation de l'ADN diminuent avec l'âge, ce qui contribue à la fixation et à l'accumulation des anomalies.

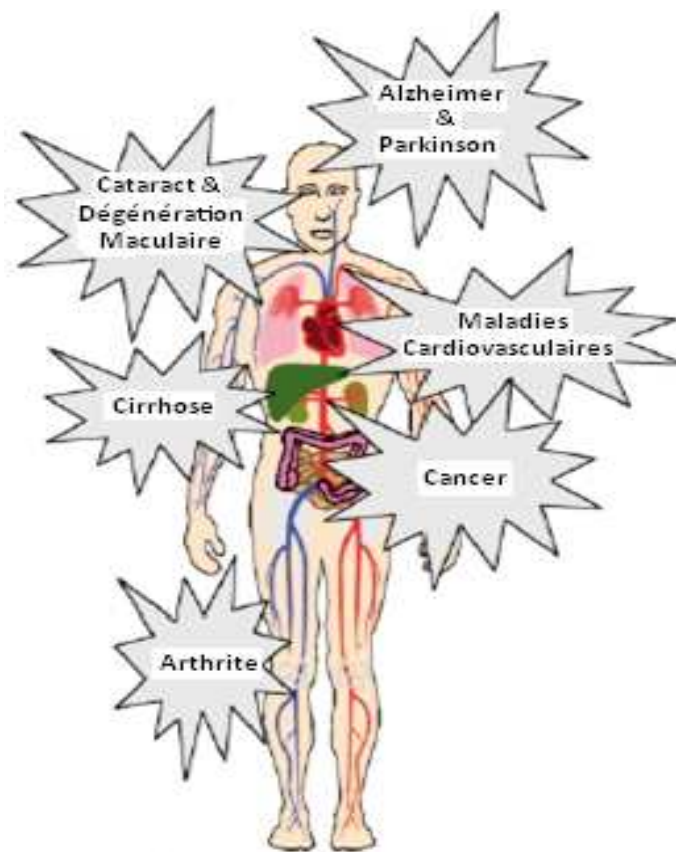


Figure 17: ROS et Maladies : Les ROS endommagent les protéines, lipides et ADN entraînant des changements de structure et de fonction des structures biologiques et sont impliquées dans de nombreuses maladies.

Les ROS sont impliqués dans plusieurs pathologies rénales et c'est durant la reperfusion qu'apparaissent les ROS mettant en jeu l'implication du stress oxydant dans les lésions d'IR (Ischémie-reperfusion). Les ROS ont également été identifiées comme étant l'agent causal de la perte neuronale dans la maladie d'Alzheimer, l'épilepsie, l'ischémie cérébrale, la commotion cérébrale, la maladie de Parkinson, la sclérose amyotrophique latérale et dans le processus de vieillissement du cerveau.

Le stress oxydatif joue un rôle important dans la progression de nombreux problèmes de santé. Des études sur des adipocytes isolés ont démontré que le peroxyde d'hydrogène était capable de mimer l'effet de l'insuline : inhibition de la lipolyse, activation du transport du glucose et de son oxydation. L'effet du peroxyde d'hydrogène s'exerce sur la voie de la signalisation de l'insuline, en activant la phosphorylation de son récepteur. Il existe aussi une relation entre le stress oxydant et l'obésité. L'obésité est considérée comme un état inflammatoire caractérisé par une augmentation du stress oxydant systémique. Yamato et al. (2007) ont démontré in vivo chez des souris, que l'induction de l'obésité par un régime hyperlipidique augmente significativement les concentrations circulantes des marqueurs de la peroxydation lipidique et induit l'oxydation de l'albumine plasmatique.

Les études épidémiologiques ont mis clairement la toxicité des polluants atmosphériques dont deux polluants majeurs : l'ozone et les particules atmosphériques responsables de maladies respiratoires. Leur toxicité passe en grande partie par le stress oxydant. L'ozone (O_3) est un gaz oxydant extrêmement réactif, grâce à ses deux électrons libres, est capable d'oxyder directement des molécules biologiques du fluide periciliaire. Il peut s'agir des acides gras polyinsaturés tels que l'acide arachidonique, dont la peroxydation conduit à la formation de radicaux libres comme le radical hydroxyle, et donne des produits de réactions stables comme H_2O_2 , des aldéhydes, des hydroperoxydes lipidiques et des produits d'ozonation des lipides.

III.2.2. Mécanismes de régulation de l'état d'oxydoréduction cellulaire

L'oxygène est essentiel pour le métabolisme aérobie en tant qu'accepteur final des électrons de la chaîne respiratoire, mais son utilisation implique la formation des molécules dérivées de l'oxygène: peroxyde d'hydrogène, anion superoxyde, radical hydroxyle...etc. Ces ROS participent à la signalisation cellulaire et sont indispensables aux processus physiologiques mais présentent également un danger pour les cellules et peuvent oxyder les protéines, les lipides et l'ADN. Pour se protéger contre les effets néfastes des ROS, les cellules adoptent un certain nombre de stratégies de lutte (figure 18) et sont équipées des moyens qui leur permettent la régulation de la production et la dégradation de ces molécules (figure 19).

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme. On en compte trois principales: la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutes trois présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la Mitochondrie. En plus de ces trois enzymes, le corps produit d'autres antioxydants tels l'acide urique, le N-acétylcystéine et la mélatonine. L'organisme a également la capacité de synthétiser quelques antioxydants aussi retrouvés dans l'alimentation. C'est le cas du glutathion, considéré comme le plus important antioxydant du cytosol, l'acide alpha-lipoïque, l'albumine et la coenzyme Q10. Le tableau 3 résume le système antioxydant endogène employé par les cellules pour pallier l'excès des radicaux libres et empêcher les réactions radicalaires.

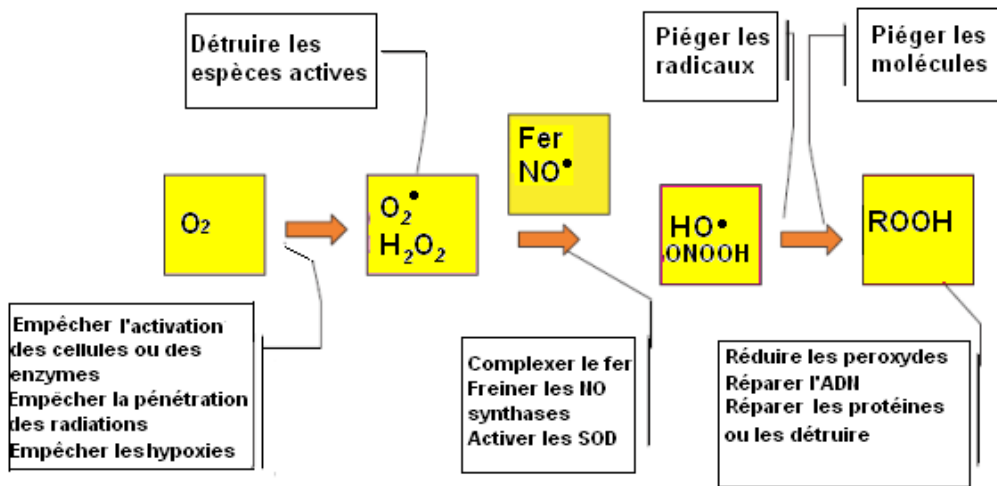


Figure 18 : Stratégie de conception de systèmes antioxydants susceptibles de prévenir la formation de radicaux libres oxygénés ou de permettre leur destruction

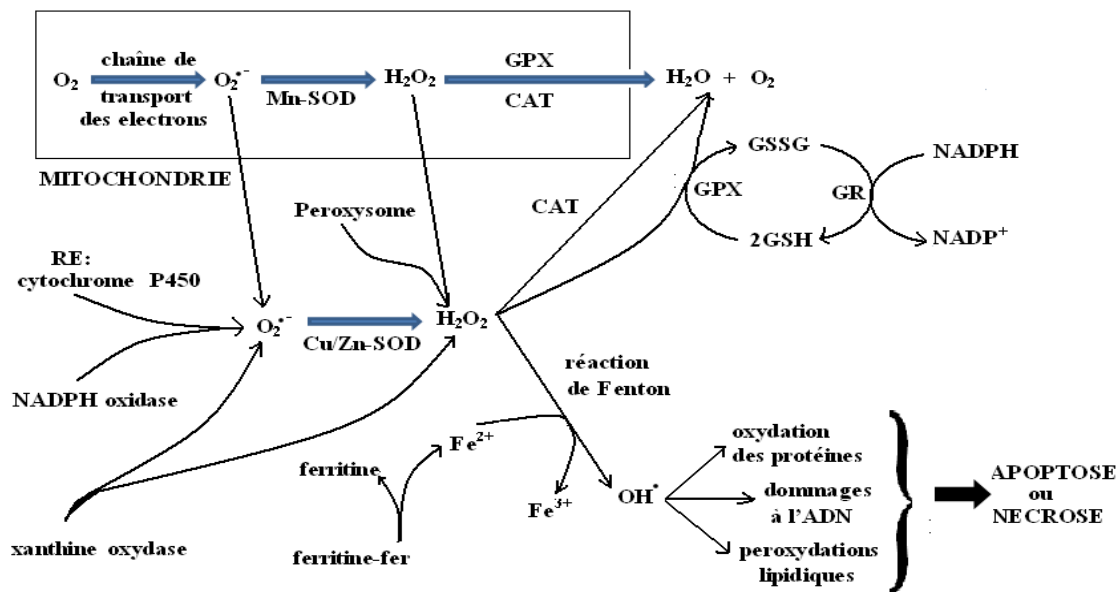


Figure 19: Schéma représentant les sources de ROS et les systèmes de détoxification de la cellule : les ROS sont produites par des mécanismes cellulaires très divers (ex : réticulum endoplasmique). La cellule possède des systèmes enzymatiques qui permettent la transformation de H_2O_2 en eau. Mn-SOD et Cu/Zn-SOD : superoxyde dismutase dépendante du manganèse (mitochondrie) ou du cuivre et du zinc (cytoplasme). CAT : Catalase, GPX : Glutathion peroxydase. En présence de fer libre intracellulaire, le radical hydroxyle est produit à partir de H_2O_2 et peut oxyder les constituants de la cellule.

Tableau 3: Antioxydants endogènes

Antioxydant	Phase	Action
Superoxyde dismutase (SOD)	Hydrophile	Dismutase d' $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 et O_2
Catalase	Hydrophile	Dismutase d' H_2O_2 en H_2O et O_2
Glutathion peroxydases (GPX)	Hydrophile ou lipophile	Réduction de R-OOH en R-OH
Glutathion réductase (GSR)	Hydrophile	Réduction du glutathion oxydé
Glutathion-S-transférase (GST)	Hydrophile	Conjugaison de R-OOH au GSH ($\rightarrow GS-OR$)
Métallothionéines	Hydrophile	fixation aux métaux de transition (= neutralisation)
Thiorédoxines	Hydrophile	Réduction de R-S-S-R en R-SH
Glutathion	Hydrophile	Réduction de R-S-S-R en R-SH Piégeur des radicaux libres Cofacteur de la GPX et GST
Ubiquinol	Lipophile	Piégeage des radicaux libres Recyclage des tocophérols (vitamine E) Maintient les enzymes dans leur état réduit
Rétinoïdes (vit A) et caroténoïdes	Lipophile	Piégeage des radicaux libres désactiver oxygène singulet 1O_2
Tocophérols (vit E)	Lipophile	Piégeage des radicaux libres (prévient LPO) Augmenter l'absorption du sélénium
Sélénium	Amphiphile	Constituant de la GPX et thiorédoxines

III.2.3. Les Antioxydants

III.2.3.1. Définition

Le terme « antioxydant » a été formulé comme « une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels ». Vansant (2004) définit les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes.

Les systèmes de défense contre les dommages induits par ROS/RNS sont classés dans trois catégories : Les antioxydants préventifs qui suppriment la formation de radicaux libre, les antioxydants piègeurs de radicaux, qui inhibent ou empêchent le déclenchement des réactions en chaîne et arrêtent la propagation et les antioxydants impliqués dans des processus de réparation.

III.2.3.2. Les antioxydants naturels

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes.

Les antioxydants d'origines naturelles sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures et sont en générales des composés phénoliques. Ils agissent par la désactivation des radicaux par création d'addition covalente, la réduction des métaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition et le captage de l'oxygène singulet. Le tableau 4 énumère les principaux antioxydants et cite des exemples de quelques importantes sources en ces composés naturels.

Le tocophérol : l'antioxydant non enzymatique, tocophérol a une importance cruciale dans la protection de molécules lipophiles. En raison de son radical stable et de ses propriétés moléculaires, il protège efficacement les membranes cellulaires contre l'oxydation. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ (figure 20) avec une activité antioxydante variable. La forme la plus active est α -tocophérol. Il protège les membranes et les lipides de la peroxydation lipidique en neutralisant les radicaux peroxyde, alkyle et alcoyle ($ROO\bullet$) (II). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' α -tocophérol cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO_2 .

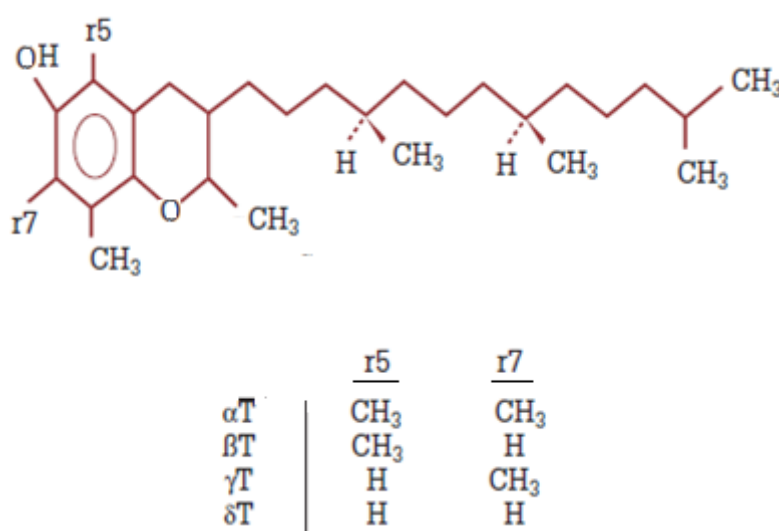
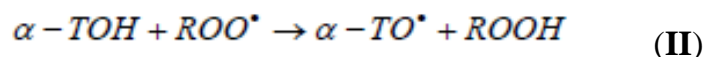


Figure 20 : Structure chimique des différents tocols

Tableau 4 : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β -carotène	Légumes et fruits
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tannins	Lentilles, thé, raisins

La vit E est présente dans les huiles végétales (huile de palme, d'arachide, de soja, de maïs, de charbon, d'olive pressé à froid et de tournesol), ainsi que dans les graines, les noix, le lait, les œufs, les légumes à feuilles vertes et les amandes.

L'acide ascorbique (figure 21) est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (figure 22). On retrouve la vitamine C principalement dans les aliments suivants : les légumes, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi.

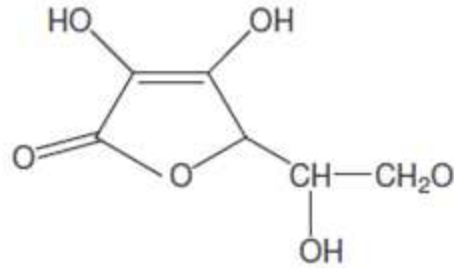


Figure 21 : L'acide ascorbique

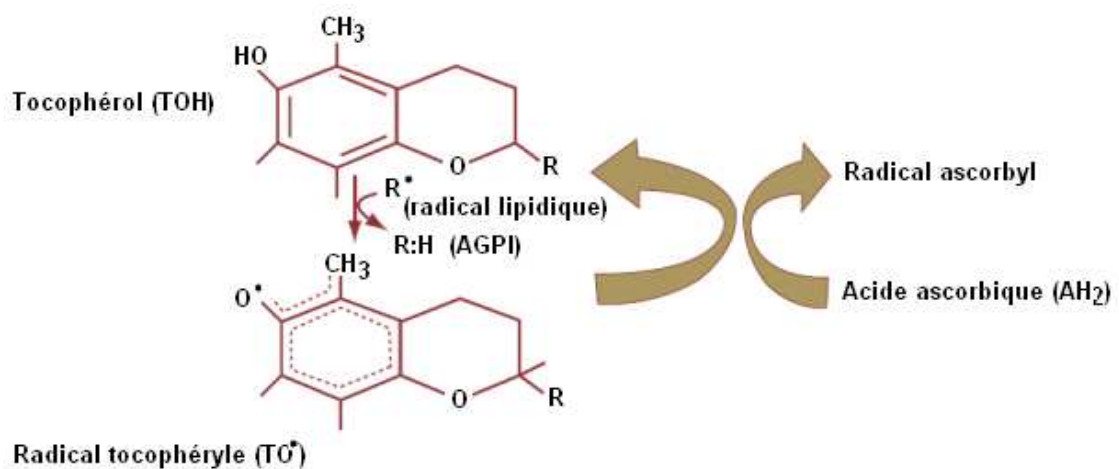


Figure 22 : Régénération de la vitamine E via l'action de la vitamine C lors de la peroxydation lipidique

La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée.

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles de couleur jaune, orangée à rouge. Malgré l'identification de plus de 600 caroténoïdes spécifiques, seul un nombre limité d'entre eux sont présents en quantité sensible dans le sang et les tissus humains (Beecher et Khachik, 1992). Malgré la similarité de leur structure, ils exercent

différentes fonctions biologiques, dont certains préviennent ou contrôlent efficacement la génération de radicaux libres.

Le β -carotène (provitamine A) possède la capacité de capter l'oxygène singulet et se trouve dans les légumes verts, la salade, les carottes, les épinards, l'abricot, la papaye, le melon, le potiron et d'autres fruits jaunes. Sa constitution polyénique (Figure 23A) lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une olifine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydropéroxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour.

Les suppléments en β -carotène, lycopène et tocophérol diminuent l'oxydation des LDL. De même, il a été montré une association inverse entre les taux de l'ensemble des caroténoïdes et le risque de différents types de cancers : cancer du poumon, cancers du sein, du col de l'utérus et cancers de l'appareil digestif. Aussi, il existe une corrélation entre l'augmentation des taux de caroténoïdes transportés par les lipoprotéines et la diminution du risque de cardiopathie coronarienne. Des expériences ont montré que la supplémentation en β -carotène a stimulé certains indices de la fonction immunitaire chez des hommes âgés et des hommes non-fumeurs en bonne santé. Aussi, le β -carotène est essentiel au bon fonctionnement de la communication cellulaire, de la différenciation cellulaire et de la reproduction.

Le lycopène (Figure 23B), pigment rouge extrait de la tomate, piège les radicaux libres avec une efficacité supérieure d'au moins 70 % à celle du β -carotène. Le lycopène présente un grand intérêt du fait de ses propriétés antimutagènes. La lutéine (figure 23C) (avec la zéaxanthine) est concentrée dans la région maculaire de la rétine. Sa propriété antioxydante s'exerce au travers d'une fonction de filtre de lumière de la lumière bleue et de capteur de l'oxygène singulet dans les tissus rétinien, prévenant ainsi la dégénérescence, première cause de cécité chez la personne âgée. Il a été montré qu'une supplémentation à long terme de lutéine chez des patients atteints d'une faiblesse pigmentaire peut induire une augmentation significative de cette pigmentation et réduire ainsi la dégénérescence maculaire.

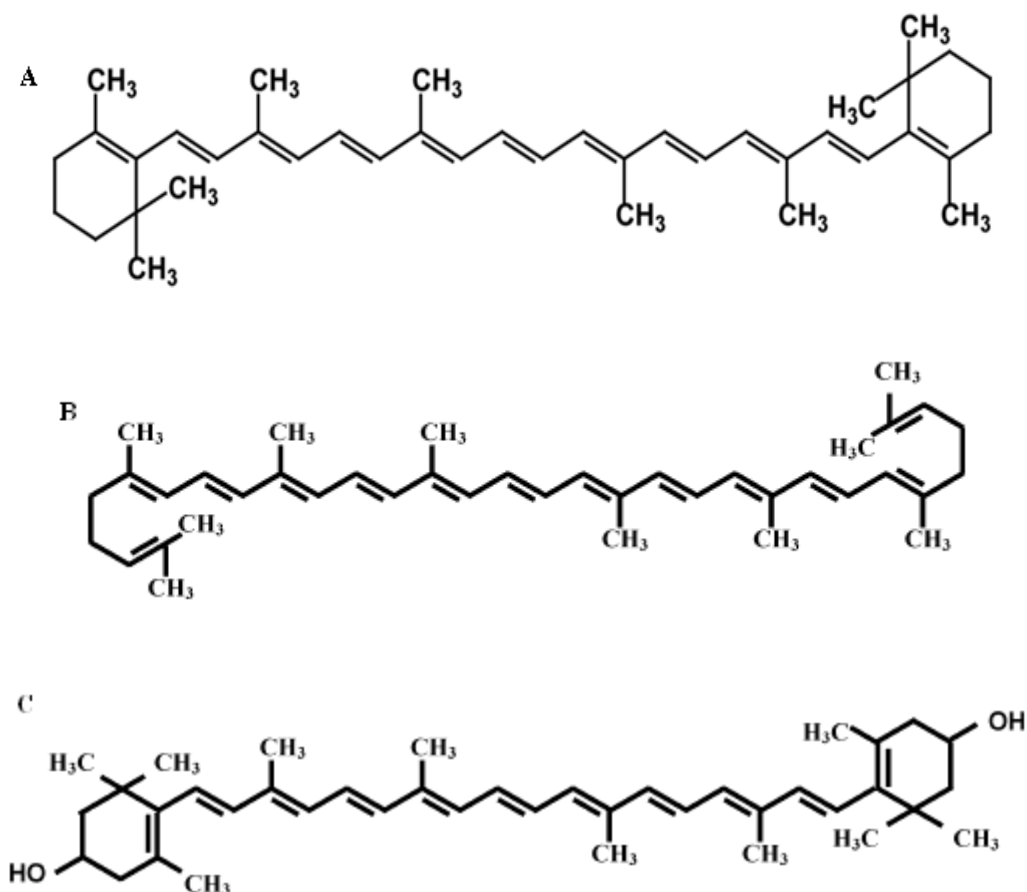


Figure 23: Structure chimique du β -carotène (A), lycopène (B) et lutéine (C)

Le sélénium est un oligo-élément indispensable à l'enzyme antioxydante appelée la glutathion-péroxydase. Le sélénium est capable d'interagir dans l'organisme avec de nombreux métaux (As, Cd, Pb Hg) et est de ce fait susceptible de moduler leur toxicité. Le sélénium agit à plusieurs niveaux dans le métabolisme de l'acide arachidonique notamment en contrôlant la concentration intracellulaire des hydroperoxydes, ce qui explique son action anti-aggrégante. Un rôle bénéfique du sélénium est décrit en dermatologie et dans la prévention de maladies rhumatologiques. Le sélénium pourrait également diminuer de façon très significative l'incidence générale des cancers et serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-vieillessements. Il est efficace dans le traitement de l'arthrose. On le retrouve dans la viande, le poisson, et les céréales. Il a été montré qu'un apport quotidien en sélénium de 200 microgrammes faisait baisser de moitié le risque du cancer de la prostate.

Le zinc, son importance dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres est primordiale. Le zinc joue un rôle dans l'activité et le maintien de la SOD qui est un piègeur capital des ions superoxydes. Il protège également les groupements thiols des protéines et peut inhiber partiellement les réactions de formation des espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre.

Les polyphénols : Les dérivés végétaux sont extrêmement nombreux, qu'il s'agisse de principes extraits de légumes, d'épices, de fruits ou de plantes médicinales. Ils appartiennent à de nombreuses familles chimiques, alcaloïdes, glucosides, dérivés indoliques, mais celle des polyphénols a donné le plus de molécules antioxydantes. Les plus utilisés sont la quercétine, le resvératrol et la curcumine. Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et, en plus d'autres constituants, un ou plusieurs groupes hydroxyle.

Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins. Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les pathogènes ou le rayonnement UV. Ils ont été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels. C'est un regard tout à fait différent qu'on leur porte aujourd'hui, après la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes. Leur nature chimique fait de ces composés des agents réducteurs et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation. On en consomme en moyenne 1 g par jour. Les bienfaits des polyphénols alimentaires suggèrent un rôle protecteur à l'encontre des cancers (figure 24) et des maladies chroniques. Les polyphénols sont présents dans de nombreuses espèces végétales, à titre d'exemple, les feuilles de thé vert peuvent contenir 35 % de leur poids sec polyphénols ; ce sont principalement des flavanols tels que la catéchine, épicatechine, epigallocatechine, épicatechine gallate et épigallocatechine gallate.

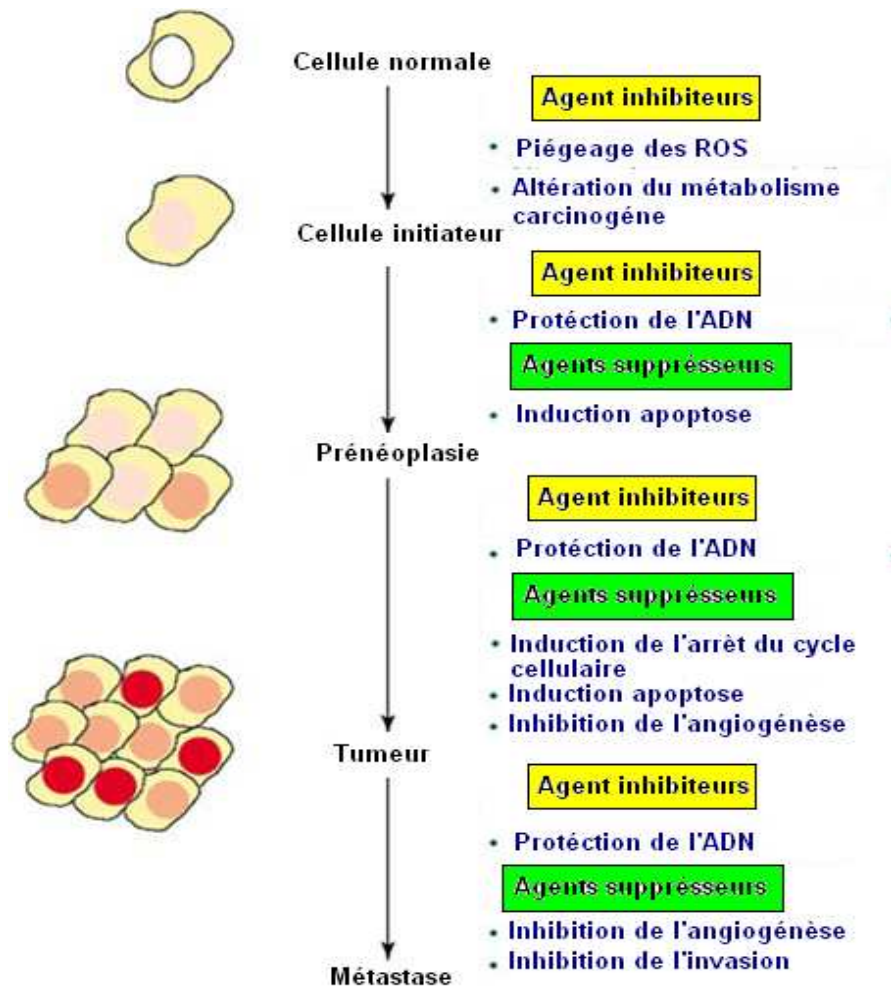


Figure 24: Model expliquant les étapes de carcinogénèse et les effets potentiels des polyphénols sur la progression du cancer

Les flavonoïdes : tous les flavonoïdes dérivent de la même structure de base : l'enchaînement 2-phényl chromane. La forme qui prédomine à l'état naturel est celle des hétérosides flavonoïdiques. La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être « veino-actifs ». Ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Cette propriété leur a valu, par ailleurs, le nom de « vitamine P ». Ces composés phénoliques sont en outre des agents antioxydants capables de piéger les radicaux libres (RL). Ils inactivent et stabilisent les RL grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif (C3-OH). Ils sont également capables de

chélater les ions métalliques largués à partir de leur protéine de fixation ou de transport. Ces ions métalliques renforcent les effets délétères du stress oxydant en stimulant la production des radicaux hydroxyles. En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber le processus de la carcinogenèse mis en œuvre par des mutations engendrées par l'altération de l'ADN par les radicaux libres, Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales. Ce sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la protéine kinase C et des enzymes de l'inflammation : la cyclo-oxygénase, la phospholipase A2 et la lipo-oxygénase. Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire. Le Tableau 5 énumère quelques sources naturelles des flavonoïdes.

Les tanins possèdent des propriétés antioxydantes significatives et agissent comme capteurs et donneurs de protons face aux radicaux libres lipidiques produits lors de la peroxydation. Ainsi ont été démontrées leurs actions inhibitrices de l'auto-oxydation de l'acide ascorbique, du linoléate et de la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Le thé vert (*Camelia sinensis*) est l'exemple le plus cité. Les intérêts des polyphénols de celui-ci, spécifiquement le gallate d'épigallocatechine, sont attribués à leurs propriétés anticancéreuses non négligeables et ont aussi prouvé des activités antimutagènes. Les tanins permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections.

Les coumarines ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Les conditions structurales requises pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes. Les différents types se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses ; certaines coumarines contribuent à fluidifier le sang alors que d'autre comme les furanocoumarines soignent les affections cutanées et que la khelline est un puissant vasodilatateur coronarien.

Les xanthones possèdent des propriétés inhibitrices envers la monoaminoxidase. Ils sont antimicrobiens et cytotoxiques, ils inhibent la

peroxydation des lipides en plus du captage des radicaux libres (contre les anions superoxydes).

Tableau 5: Quelques sources naturelles de flavonoïdes

Flavonoïde	Source : produits alimentaires et plantes médicinales
Flavones (Apigénine)	<i>Apium graveoles, Passiflora incarnata, Perroselinum sativum</i>
Flavones glycosylés (Baicaline)	<i>Scutellaria baicalensis</i>
Flavonols	
(Quercétine)	<i>Allium cepa, Crataegus cuneata, Ginkgo biloba, Glycyrrhiza glabra, Morus alba, Olea europea, Solanum lycopersicum, Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera, Pueraria thumbergiana</i>
(Kaempférol)	<i>Cichorea endivia, Ginkgo biloba, Raphanus sativus, Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
(Myricétine)	<i>Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera</i>
Flavonols glycosylés (Rutine)	<i>Eucalyptus macrorrhyncha, Fagopyrum esculentum, Stellaria media, Sophora japonica</i>
Flavan-3-ols (Catéchine)	<i>Thea sinensis, Vitis vinifera</i>
Flavanones (Naringénine)	Fruits du genre <i>Citrus</i> (sp. <i>aurantium, limon, etc.</i>)
Isoflavones (Génistéine)	<i>Soya hispida, Stellaria media, Pueraria lobata, Sophora japonica</i>

III.3. Activité antifongique

III.3.1. Le genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus*, un membre des ascomycètes (Ascomycota), inclut plus de 185 espèces connues, environ 20 d'entre elles causent des infections nocives chez l'homme et les animaux. Peut-être l'espèce la plus importante dans ce genre est *Aspergillus flavus*.

La plupart des *Aspergillus* sont saprophytes. Ils colonisent les végétaux déjà abîmés par des blessures, des piqûres d'insectes ou des attaques d'autres champignons. Mais ils sont aussi présents sur la surface des graines. Dans les mauvaises conditions de stockage, ces champignons peuvent évoluer et devenir des parasites.

Les champignons appartenant à ce genre sont responsables de maladies chez l'homme et les animaux (aspergillose pulmonaire, allergies ou mycotoxicoses). Cependant ils sont aussi capables de produire des acides organiques et des pigments utiles en alimentation et en industrie.

III.3.2. *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus, moisissure de couleur vert jaune à vert olive, caractérisée par des conidiophores nettement rugueux et incolores, des vésicules globuleuses ou subglobuleuses de 25 à 45 µm de diamètre, généralement bisériées, des phialides verdâtres, de 6-10 x 4.0-5.5 µm, des conidies subsphériques à ellipsoïdales, de 3 à 6 µm, vert pâle et légèrement rugueuses. C'est une espèce à prédominance tropicale et subtropicale, peut coloniser de nombreux substrats, fréquemment rencontrée dans le sol, les produits végétaux en décomposition, les fourrages, les grains et semences en stockage, les aliments pour animaux, les dérivés de céréales,...etc. *A. flavus* présente également un important pouvoir pathogène. Il attaque principalement les voies respiratoires de l'homme et des animaux. C'est l'un des principaux responsable des aspergilloses bronchiques allergiques. Il élabore divers métabolites toxiques, mais surtout des aflatoxines, notamment l'aflatoxine B1 qui est l'un des plus puissants

hépato-carcinogènes connus à l'heure actuelle. L'aflatoxinogénèse peut avoir lieu de 12°C à 42°C, avec un optimum situé entre 25°C et 30°C.

III.3.3. Les mycotoxines

Le terme mycotoxine vient du mot grec « mycos » qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison. Il désigne des métabolites secondaires élaborés par des moisissures naturellement présentes dans l'air ambiant, le sol et sur les cultures.

Les mycotoxines sont des contaminants naturels de l'alimentation humaine et animale, elles sont produites par les moisissures toxigènes des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Elles ont une composition chimique très variable, ce qui fait que leurs propriétés physico-chimiques et toxicologiques sont extrêmement variées. Plus de 400 mycotoxines sont identifiées à l'échelle internationale, elles sont produites par quelques 200 variétés de champignons toxiques. Vu leur stabilité thermique, ces substances constituent un danger potentiel chez l'homme et les animaux.

Elles sont produites sur une large variété de denrées alimentaires avant, pendant et après la récolte. Elles affectent de nombreux produits agricoles dont les céréales, les fruits secs, les noix, les grains de café, les raisins et graines oléagineuses. Des moisissures toxigènes peuvent pousser sur les denrées alimentaires, diffuser à l'intérieur et élaborer des mycotoxines qui, en cas d'ingestion d'aliments contaminés, peuvent provoquer des intoxications chez le consommateur. Les principales mycotoxines contaminant les denrées alimentaires destinées à l'alimentation humaine et animale sont : les aflatoxines, les fumonisines, l'ochratoxine A, le désoxynivalénol et la zéaralénone.

Plusieurs molécules toxiques ont été identifiées chez les champignons mais seule une vingtaine de familles posséderait des caractéristiques toxiques préoccupants pour l'homme (Tableau 6) ou l'animale. Leur structures chimique est très diversifiée, ce qui explique leurs effets biologiques différents : cancérigène, mutagène, tératogène, oestrogénique, neurotoxique, ou immunosuppresseur.

Les mycotoxines appartiennent à différentes catégories :

(I) les polyacétates : aflatoxines, citrinines, ochratoxines, patuline, zéaralénone, fumonisine.

(II) les terpènes : tricothécènes (sesqui), toxine T-2, verrucarine, roridines, fusarénone, trémorgènes (di), désoxynivalénol, diacétoxyscirpénol.

(III) peptides : ergotamine, tryptoquivaline, acide aspergillique, acide cyclopiazonique, slaframine.

(IV) dicéto-pipérazines : gliotoxine, roquefortine, sporidesmine.

Tableau 6 : Exemples des espèces de moisissures sécrétant certaines mycotoxines et les effets probables des mycotoxines sur l'homme

mycotoxine	Moisissure sécrétant la mycotoxine	Effets sur l'homme
aflatoxines	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Aspergillus bombycis</i> , <i>Aspergillus ochraceoroseus</i> , <i>Aspergillus nomius</i> , <i>Aspergillus pseudotamarii</i>	Cancérogène : Cancer du foie et des voies biliaires, cancer broncho-pulmonaire et bronchique (B1) Mutagène : anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN (B1)
Citrinine	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Aspergillus niveus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>	des troubles rénaux : élargissement des tubules collecteurs Néphropathie
Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium proliferatum</i> , <i>Fusarium nygamai</i> , <i>Alternaria alternata</i>	Cancérogène : association avec des cancers de l'œsophage (notamment chez les femmes) et du foie
Ochratoxine A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Cancérogène : Cancer du rein Mutagène : anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN Immunosuppresseur : Néphropathie

Suite Tableau 6

mycotoxine	Moisissure sécrétant la mycotoxine	Effets sur l'homme
Patuline	<i>Penicillium griseofulvum</i> , <i>Penicillium expansum</i>	Immunosuppresseur : diminution du nombre de lymphocytes du sang (lymphopénie) si intoxication chronique Neurotoxique : Troubles nerveux (action antiacétylcholinestérase)
Stérimatocystine	<i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Aspergillus nidulans</i>	carcinogène, lésions hépatiques
Trichothécènes	<i>Fusarium spp.</i> , <i>Myrothecium spp.</i> , <i>Phomopsis spp.</i> , <i>Stachybotrys spp.</i> , <i>Trichoderma spp.</i> , <i>Trichothecium spp.</i> , <i>Memnoniella spp.</i>	Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN Immunodépresseur : altération de la phagocytose, inhibition de la synthèse protéique Respiratoire : Pneumopathie interstitielle desquamative
Zéaralénone	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium equiseti</i> , <i>Fusarium crookwellense</i> , <i>Fusarium sporotrichioides</i>	Oestrogénique: Puberté précoce et gynécomastie

III.3.4. Aflatoxines

Les aflatoxines sont un groupe de métabolites secondaires toxiques, produits principalement par certaines souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Les aflatoxines B1, B2, G1 et G2 (AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2) sont les quatre toxines principales parmi au moins 16 toxines. *Aspergillus flavus* produit les aflatoxines B1 et B2. D'autres composés toxiques produits par *A. flavus* sont : acide cyclopiazonique, acide kogique, acide β -nitropropionique, aspertoxine, aflatrème et l'acide aspergillique. *A. parasiticus* produit aflatoxine G1 et G2, en addition à B1 et B2 mais non l'acide cyclopiazonique. Aflatoxine B1 est prédominante, la plus toxique et le composé naturel potentiellement hépatotoxique le plus caractérisé.

Les aflatoxines ont été isolées et caractérisées pour la première fois en Angleterre après la mort d'environ 100.000 dindonneaux suite à l'ingestion d'une farine d'arachide importée du Brésil. Ce sont des cristaux incolores ou jaune pâle-fluorescents de façon très intense sous une lumière ultra-violette. Les aflatoxines B1 et B2 émettent une fluorescence bleue et les aflatoxines G1, G2, une fluorescence vert jaune. Ces couleurs de fluorescence sont à l'origine du nom des mycotoxines (B pour *Blue* et G pour *Green*). L'aflatoxine M1 présente une fluorescence bleu-violette sous irradiation ultra-violette et a été isolé du lait. Les aflatoxines sont généralement peu solubles (10-30 mg/ml), par contre elles sont très solubles dans les solvants organiques de polarité moyenne (CHCl₃, CH₃OH, DMSO).

Les aflatoxines est un groupe de polycétone dérivé de furanocoumarine. La biosynthèse débute par la conversion des malonyl-CoA en polycétone noranthrone. La noranthrone est convertie en acide norsolorinique (NOR), le premier intermédiaire stable, ensuite transformé en averantine (AVN). Après une série de réactions, l'AVN est convertie en versicolorine B (VERB), qui produit du *O*-methyl-sterigmatocystine (OMST) ou dihydro-*O*-methylsterigmatocystine (DHOMST). L'aflatoxine B1 et G1 proviennent de la conversion du OMST, alors que l'aflatoxine B2 et G2 sont produites par le DHOMST.

III.3.5. Aflatoxine B1 (AFB1)

Une des plus célèbres mycotoxines et possédant le profil toxicologique le plus sérieux, l'aflatoxine B1 (AFB1) dont le nom chimique est le suivant : 6-thoxydifurocoumarone2,3,6 α ,9 α -tétrahydro-4-méthoxy-cyclopenta-[c]furo [3',2':4,5] furo [2,3-h] [1] benzopyran-1,11-dione (figure 25).

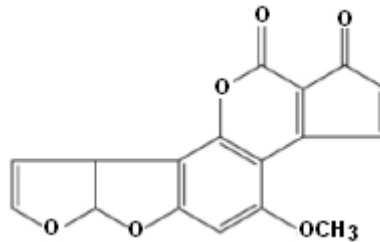


Figure 25 : Structure chimique de l'aflatoxine B1

Des dérivés secondaires de l'AFB1 (AFB2, AFG1, AFG2, AFM1) ont été identifiés. Ils sont caractérisés au niveau moléculaire par des structures de coumarines bifuraniques auxquelles sont accolées des pentanones (AFB) ou des lactoses hexatomiques (AFG).

Toutes les aflatoxines se rattachent à l'un de ces deux types de structure (AFB, AFG) et ne diffèrent entre elles que par la position de divers radicaux sur le noyau. Les effets des aflatoxines sur la santé animale varient suivant l'espèce. Les animaux comme le veau, le poulet, le caneton, le cobaye et le porc sont sensibles à l'AFB1 alors que la chèvre, le mouton, le rat et la souris sont relativement résistants. L'AFB1 est la plus toxique, suivie par ordre décroissant de toxicité par l'AFM1, l'AFG1, l'AFB2 et l'AFG2.

L'AFB1 présente des effets hépatotoxique, mutagène et génotoxique, immunotoxique et tératogène. l'AFB1 provoquent une dépression de la réponse immunitaire et augmente la sensibilité de l'individu aux infections. De nombreux travaux ont montré que l'aflatoxine B1 est capable d'exercer à la fois l'activation des proto-oncogènes *ras* et d'inactiver par mutation génique le gène p53 suppresseur de

tumeurs. La mutagénicité de l'aflatoxine B1 a été démontrée, elle requiert une bioactivation hépatique par des cytochromes P450 résultant en la formation du AFB1 8,9-époxyde (figure 26). Le principal mode d'action toxique de cet époxyde est la formation d'adduits à l'ADN et à l'ARN en position N7 de la guanine, ayant pour conséquence l'altération de la synthèse d'acides nucléiques (transcription, blocage de l'ARN polymérase II) et de la synthèse peptidique (traduction, blocage de la synthèse des ARNr, ARNt et ARNm). L'AFB1 8,9-époxyde peut aussi se lier à des protéines (protéines nucléaires, liaison aux histones H3) et en modifier la structure et les fonctions comme l'altération du transport des électrons et de la respiration cellulaire (cytochromes b et c).

L'AFB1 est la substance la plus cancérigène parmi les substances d'origine naturelle. En effet, l'AFB1 est classée par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer dans le groupe 1 comme un cancérogène potentiel chez l'homme et les animaux.

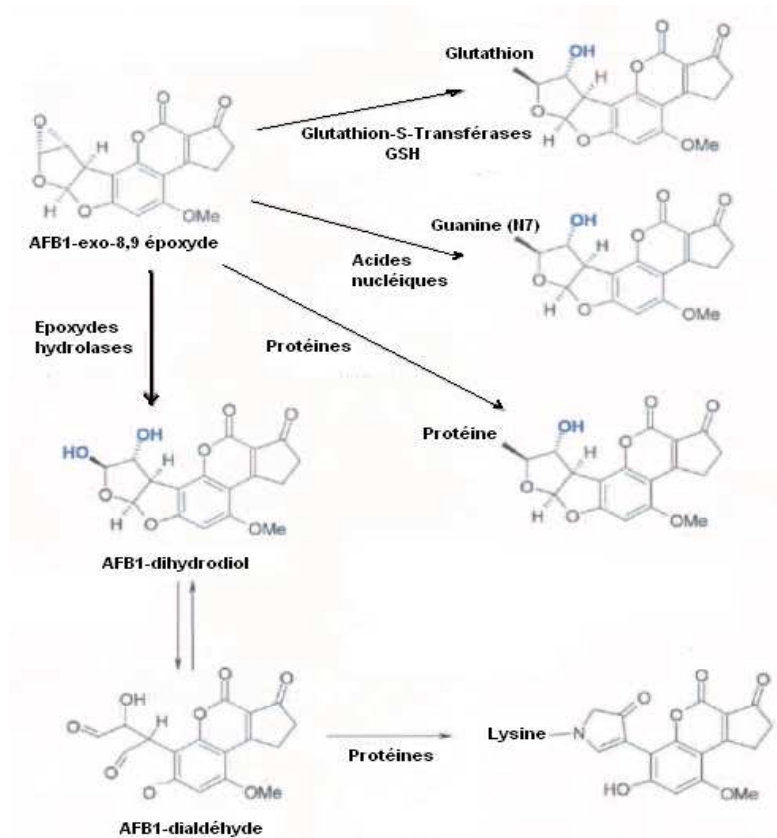


Figure 26: Bioconversion de l'AFB1 exo-8,9-époxyde

III.3.6. Lutte contre *Aspergillus* et la production des aflatoxines

La lutte chimique semble être le moyen le plus efficace pour juguler les parasites fongiques des cultures maraîchères. Cependant, elle présente de nombreux inconvénients tels que la pollution de l'environnement, les problèmes d'intoxication des opérateurs et des consommateurs, l'élimination de l'entomofaune utile, le coût élevé des appareils et des produits de traitement, l'accumulation de résidus dans la chaîne alimentaire et notamment l'apparition de champignons résistants dans le temps. Pour pallier à ces nombreuses contraintes liées à l'emploi des pesticides, d'autres stratégies de lutte ont été envisagées, à savoir la lutte variétale qui consiste en la sélection de matériel végétal et la lutte biologique qui consiste en l'utilisation de biopesticides et des ennemis naturels.

Les substances naturelles des plantes ont été utilisées traditionnellement dans la conservation des aliments, *in vitro*, les extraits et la poudre de certains végétaux ont montré leur capacité d'inhiber les moisissures toxigènes et la production des toxines. Dans cette lutte, les produits végétaux ont pris une part considérable dans les travaux de recherche et plus précisément les huiles essentielles, cependant, très peu d'études ont été réalisées jusqu'à ce jour concernant les extraits naturels (Tableau 7). Les inhibiteurs de la biosynthèse de l'AF agissent à trois niveaux: (1) modulent les facteurs physiologique et environnementales affectant la biosynthèse de l'aflatoxine, (2) inhibent les circuits de signalisation des voies biosynthétiques, ou (3) inhibe directement l'expression des gènes ou l'activité des enzymes (figure 27).

Tableau 7: Composés inhibiteurs de la production de l'Aflatoxine (AF) montrant une inhibition accrue de la croissance

Nature de l'inhibiteur	Composé exemple	Milieu de culture
Alcaloïdes :	caféines	YES
	pipérine	YES
		PDA
	berbérine	
	pipemonaline	PDA
Biflavonoides	Amentoflavone	YES
	6,6''-Bigenkwanine	YES
	Tétradiméthoxybigenkwanine	
	Amenthoflavone	
	7,7'-diméthoxyagastisflavone	
Coumarines	Acide p-Coumarique	YES GYS
Flavonoides	Cyanidin	
	Cyanidin-3-glucoside	
	Cyanidin-3-galactoside	
	Kaempferol	
	Luteolin	
Acides phénols	Acide gallique	
	Acide ferulique	
	Acide vanillique	YES
Terpénoides	Camphène	PDA
	α -Carotène	
	β -Carotène	
	Limonène	YES
		PDA
	Salicylaldehyde	YES

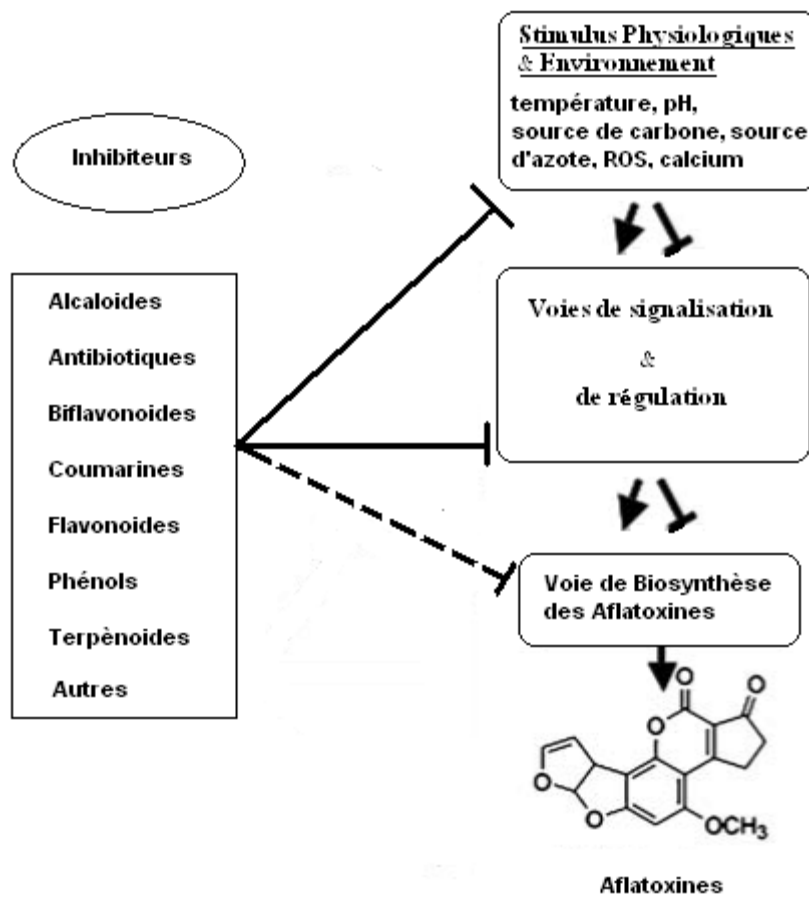


Figure 27: Représentation schématique de la régulation et de biosynthèse de l'AF avec les modes d'action potentiels des groupes majeurs des inhibiteurs

IV. Matériel et Méthodes

IV.1. Matériel végétale : source et conservation

Les plantes ont été récoltées de différentes régions de l'Algérie (figure 28). L'identification des espèces végétales a été réalisée au niveau de deux laboratoires, Laboratoire de Biologie végétale et Laboratoire de Recherche Ecologie et gestion des Ecosystèmes naturels. Le Tableau 8 comprend les stations de récolte, les familles botaniques et les noms scientifiques genre espèce des plantes, ainsi que les parties utilisées.

Les espèces ont été triées, séparées et séchées à l'ombre dans un endroit bien aérée, ensuite les parties végétales ont été bien conservées jusqu'à leur utilisation à des fins pratiques.

IV.2. Méthode d'extraction

Le contenu bioactif de chaque matière végétale a été extrait par des solution hydroalcoolique.

1°/ Pulvérisation: un broyeur de type MF 10 basic IKA WERKE a été utilisé pour obtenir une poudre végétale fine.

2°/ Extraction des composés bioactifs : l'extraction a été effectué à froid par macération de la poudre végétale dans du méthanol en solution (70%) pendant 48 heures. Après une double filtration sur papier Whatman N°01 et papier filtre micropore de porosité 0.45µm, Les filtrats ont été soumis à une évaporation sous vide via un rotavapeur type Laborota 4000 à la température de 50°C.

3°/ Lyophilisation : Les résidus secs résultants ont été ensuite solubilisés dans de l'eau distillée tiède, congelés et lyophilisés (lyophilisateur CHRIST-ALPHA 1-4). Les poudres obtenues sont pesées pour la détermination du rendement.



Figure 28: Carte géographique montrant les régions de récolte des espèces végétales

Tableau 8 : les espèces végétales utilisées

Espèce	Lieu de récolte	Partie utilisée	Nom vernaculaire	Famille
<i>Haloxylon scoparium</i> Pomel	Ghardaia	partie aérienne	Remt	Amaranthacées
<i>Atriplex schmittianum</i> Pomel	Tébessa	Partie aérienne	Remt	Amaranthacées
<i>Daphne gnidium</i> L.	Tlemcen	feuilles	Lazzaz	Thymelaeacées
<i>Thymelae hirsuta</i> Endl.	Mascara (Bouhamfia)	feuilles	Métanane	Thymelaeacées
<i>Paronychia chlorophylla</i> Muirb.	Tiaret (Frenda)	partie aérienne	Ferch n'adah	Caryophyllacées
<i>Paronychia argentea</i> Lam.	Mécheria	partie aérienne	Ferch n'adah	Caryophyllacées
<i>Tamarix pauciovulata</i> J. Gay	Adrar (Aougrou)	feuilles	L'arich	Tamaricacées
<i>Tamarix aphylla</i> (L.) Karst.	Adrar	feuilles	Tiaïa	Tamaricacées
<i>Morettia canescens</i> Boiss.	Adrar (Aougrou)	La partie aérienne	Slagh	Brassicacées
<i>Calotropis procera</i> (Aiton) W.T.	Adrar (Aougrou)	Les feuilles	Torchha.	Apocynacées

IV.3. Le fractionnement

Pour localiser la fraction antioxydante la plus active, le fractionnement de l'extrait méthanolique brut a été mené en utilisant successivement deux solvants organiques : l'acétate d'éthyle et le Butanol pour en avoir trois fractions : la fraction acétate d'éthyle (FAE), la fraction butanolique (FB) et la fraction aqueuse (FQ).

IV.4. Analyse phytochimique

IV.4.1. Analyse qualitative

Les extraits méthanoliques ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les métabolites secondaires responsables de la plupart des activités biologiques de chaque espèce végétale. Ces essais ont été menés selon les techniques décrites par Farnsworth (1966), Harbone (1973), Rizk (1982), Al-Yahia (1986) et Silva et al. (1993).

Le test de Keller-Killiani est utilisé pour la détection des glycosides cardiotoniques en se basant sur la formation d'un anneau brun à l'interface. Le réactif au chlorure de fer est employé pour l'identification des tannins. Un précipité bleu noir ou verdâtre indique la présence des tannins hydrolysables ou condensés respectivement. La méthode à la cyanidine pour détecter les flavonoïdes, le réactif de dragendorff's pour la détection des alcaloïdes, la méthode du papier imprégné de picrate de sodium pour déceler les glycosides cyanogènes et le test de Liberman-Burchard pour la mise en évidence des stérols et triterpènes.

IV.4.2. Analyse quantitative

IV.4.2.1 Dosage des polyphénols

Le contenu phénolique total est déterminé par la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (FCR). Un millilitre (1ml) de l'extrait dans le méthanol est mélangé avec FCR (dilué 10 fois). Après un repos de 5min à 22°C, un volume de 750ml NaCO₃ est

ajouté au mélange. L'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 725nm par un spectrophotomètre (Shimadzu UV mini1240). Les résultats sont exprimés en équivalents acide gallique (mg GAE/g extrait).

IV.4.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes est déterminé en utilisant comme référence la rutine. Un millilitre (1ml) d'extrait de plante dans le méthanol est mélangé avec 1ml de chlorure d'aluminium. L'absorbance est lue à 415nm. Le contenu flavonique est exprimé en mg Rutine/g extrait.

IV.4.3. Analyse par HPLC-UV

L'analyse par HPLC-UV est réalisée pour l'échantillon végétal endémique, le *Tamarix pauciovulata*, la colonne utilisée pour la séparation est C18 en phase inverse avec un détecteur UV à barrette de diode (DAD), l'identification de chaque composé est établie en comparant les temps de rétention et les spectres UV-Vis des pics dans l'échantillon extrait avec ceux obtenus par l'injection des standards.

IV.5. Tests biologiques

IV.5. 1. Test antifongique / anti-aflatoxinogène

IV.5.1.1. Souche fongique et milieux de culture

La souche aflatoxinogène *Aspergillus flavus* MNHN 994294 a été utilisée dans le test antifongique et antiaflatoxinogène. Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été utilisé pour préparer l'inoculum fongique et pour le test antifongique. Le milieu SMKY (Sucrose - Magnesium sulphate - potassium nitrate - Yeast extract) pour le test antiaflatoxinogène.

IV.5.1.2. test d'inhibition de la croissance

La méthode du milieu empoisonné est utilisée pour tester la sensibilité de la souche fongique vis-à-vis des différents extraits. Des boîtes de pétri stériles de 10cm de diamètre, contenant milieu PDA, supplémentés de 5µg/ml extrait ont été ensemencés par un disque fongique de 6mm de diamètre (obtenu d'une préculture de 7 jours d'incubation sur milieu solide PDA). Le témoin est préparé sans extrait. Les boîtes de pétri sont placées dans une étuve à la température de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pour une durée d'incubation de 4 jours. Pour chaque extrait, le pourcentage d'inhibition de croissance I(%) est exprimé par la réduction du diamètre de la colonie fongique par rapport au témoin selon la formule suivante:

$$I(\%) = [1 - (D_{\text{test}} / D_{\text{témoin}})] \times 100$$

Dont : D_{test} : diamètre de la colonie dans le test en mm

$D_{\text{témoin}}$: témoin diamètre de colonie témoin en mm

IV.5.1.3. test d'inhibition de la production des aflatoxines

La quantité des aflatoxine B1 produite en milieu SMKY par la souche toxigène est mesurée par la méthode chromatographique sur couche mince, sur gel de silice et dosage du pouvoir absorbant à la longueur d'onde de 363nm.

IV.5.1.3.1. test anti-aflatoxinogène

Aspergillus flavus est cultivé dans des fioles coniques, contenant 25ml milieu liquide SMKY, supplémenté de différente concentration de l'extrait. Le milieu SMKY sans extrait est utilisé comme contrôle positif. L'incubation a duré 10 jours dans une étuve à la température de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

IV.5.1.3.2. Détermination de la masse du mycélium

Après 10 jours, la couche superficielle occupée par le mycélium est retiré successivement par deux filtrations, une sur tissu, l'autre papier filtre Whatman N°1. Le matériel fongique humide est séché à 110°C jusqu'à un poids constant.

IV.5.1.3.3. Extraction des aflatoxines

Le filtrat séparé du mycélium est soumis à l'extraction par du chloroforme. Ce filtrat contient les aflatoxines. Dans une ampoule à décanter, le filtrat est mélangé à du chloroforme. Après une série d'agitation et dégazéification. Le mélange est laissé reposer pendant une nuit. La phase chloroformique est récupérée et évaporée à sec à la température de 50°C dans un évaporateur rotatif. Le résidu contenant les aflatoxines est solubilisé dans un volume de chloroforme (extrait aflatoxine).

IV.5.1.3.4. chromatographie sur couche mince des AFB1

Pour chaque espèce végétale, des volumes de l'extrait aflatoxine ont été déposés sous forme de taches à 2cm du bord inférieur et à intervalle de 2cm sur plaque de gel de silice 60 F254 (0.25mm ep.). En parallèle, une autre CCM dans les mêmes conditions opératoires a été préparée par une solution étalon d'aflatoxine B1. Les plaques sont développées dans le système solvant : toluène/alcool isoamylique/méthanol. Pour l'identification des spots après élution, les plaques sont observées à l'obscurité sous une lampe UV.

Chaque tache est récupérée, purifiée et solubilisée dans méthanol. Une mesure d'absorbance est effectuée dans un spectrophotomètre à 363nm. La concentration des aflatoxines est calculée par la formule: $[(D \times M) / (E \times L)] \times 1000$.

IV.5.2. Tests antioxydants

IV.5.2.1. Test du piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée par la méthode du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Pour chaque échantillon végétal et pour chaque concentration, 0.1ml extrait dans du méthanol est additionné à 3.9ml DPPH solution dans du méthanol. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre après 30min à la longueur d'onde de 515nm. Le pourcentage de décoloration du DPPH est déterminé par la formule : $[1 - (\text{Absorbance du test} / \text{Absorbance du contrôle})] \times 100$ où le contrôle négatif est constitué par la solution DPPH sans extrait. Le test standard (acide ascorbique) est mesuré de la même façon que l'échantillon.

IV.5.2.2. Test de piégeage du peroxyde d'hydrogène

Une solution de 20 μ M de peroxyde d'hydrogène est préparée dans le tampon phosphate. Un millilitre (1ml) extrait (fraction ou standard) à différentes concentrations dans le méthanol est additionné à 2ml solution PBS. L'absorbance est lue après 10min contre un blanc sans peroxyde d'hydrogène. Le pourcentage de piégeage (I%) est calculé par la formule suivante : $I (\%) = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$

IV.5.2.3. Test du pouvoir réducteur

Les extraits végétaux sont préparés dans de l'eau distillée. Pour chaque échantillon, 1ml extrait est mélangé avec le tampon phosphate et le ferricyanide de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. un volume de 2.5ml acide trichloroacétique est ajouté au mélange, on centrifuge pendant 30min (3000 rpm). Le surnageant est mélangé avec l'eau distillée et FeCl_3 . L'absorbance est mesurée à 700nm. L'augmentation de l'absorbance indique l'augmentation du pouvoir réducteur.

IV.5.2.4. Test de blanchiment du β -carotène

Dans cette analyse la capacité anti-oxydante est déterminée par la mesure de l'inhibition des composés organiques volatils et les hydro-péroxydes conjugués diène résultant de l'oxydation de l'acide linoléique.

Le β -carotène, l'acide linoléique et le Tween 40 sont mélangés à 0.5ml chloroforme. Le chloroforme est évaporé sous vide à 45°C par le moyen d'un évaporateur rotatif. Le mélange restant est dilué avec 10ml eau distillée. L'émulsion est ajustée à 50ml avec de l'eau distillée oxygénée. De cette émulsion 4ml est transférée dans un tube à essai contenant 0.2ml échantillon test. Le BHA est utilisé comme référence pour la comparaison. Le tube contrôle contient solvant et émulsion. Les tubes sont placés dans un bain marie. Les absorbances pour tous les extraits/fractions tests, standard et contrôle sont mesurés à 470nm prises à t=0 et chaque 20min jusqu'à t=180min contre un blanc constitué par une émulsion sans β -carotène. L'activité antioxydante (AA) correspondante au blanchissement du β -carotène est calculée par la formule suivante :

$$AA \text{ (Inhibition \%)} = [1 - ((AC_{ti} - AE_{ti}) / (AC_{t0} - AE_{t0}))] \times 100$$

IV.5.2.5. Test de xanthine oxydase

L'activité de la Xanthine oxydase est déterminée par la mesure de la formation de l'acide urique. La solution xanthine est préparée par dissolution de la xanthine dans le PBS. L'enzyme, la xanthine oxydase est préparée à froid dans le tampon PBS à la concentration de 0.4U/ml. La solution test consiste à mélanger 1ml extrait (ou fraction, différentes concentrations sont utilisées), 2.9ml PBS et 2ml de xanthine. Le mélange est pré-incubé à 25°C pendant 15min. la réaction est initiée par ajout de solution xanthine oxydase, l'ensemble est incubé à 25°C pendant 30min. La réaction est stoppée par addition de l'acide chlorhydrique. L'absorbance est lue à 295nm. La solution contenant de la xanthine et xanthine oxydase est utilisée comme contrôle. Allopurinol, inhibiteur de la xanthine oxydase est utilisé comme contrôle positif. Le

pourcentage d'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase est calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition en \%} = [((A-B)-(C-D)) / (A-B)] \times 100$$

Dont : A : est l'activité de l'enzyme sans extrait, B : contrôle de A sans extrait et sans enzyme, C et D : les activités de l'extrait avec et sans xanthine oxydase.

IV.6. Analyse statistique

Chaque expérience est répétée trois fois, les valeurs sont représentées par la moyenne \pm écart type. Les résultats ont été analysés par le test ANOVA et la valeur $p < 0.05$ est considérée significative.

V. Résultats

V.1. Etude phytochimique

V.1. 1. Le rendement des extractions

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité. Les rendements enregistrés avec les extraits bruts varient entre un minimum de (60.55 ± 6.44 mg/g), épuisé de la poudre végétale des feuilles de *C. procera* et un maximum de (488.75 ± 14.62 mg/g), obtenu des feuilles de *T. hirsuta* (Tableau 9). Des teneurs notables sont enregistrées avec *T. pauciovulata* (285.2 ± 18.86 mg/g; feuilles), *M. canescens* (287.05 ± 22.45 mg/g; partie aérienne) et *H. scoparium* (172.95 ± 17.67 mg/g; partie aérienne).

Tableau 9 : les rendements de l'extraction par les solutions méthanoliques et du fractionnement par les solvants organiques (acétate d'éthyle et butanol), exprimés en mg/g

	<i>EMB (mg/g)*</i>	<i>FAE (mg/g EMB)</i>	<i>FB (mg/g EMB)</i>	<i>FQ (mg/g EMB)</i>
<i>T. aphylla</i>	67.50 ± 9.48	43.20 ± 17.05	95.14 ± 19.44	388.23 ± 47.10
<i>T. pauciovulata</i>	285.2 ± 18.86	94.05 ± 16.02	67.86 ± 15.86	534.53 ± 95.45
<i>T. hirsuta</i>	488.75 ± 14.62	187.20 ± 27.94	41.06 ± 8.26	516.35 ± 58.96
<i>H. scoparium</i>	172.95 ± 17.67	68.72 ± 19.99	104.06 ± 21.37	498.54 ± 34.48
<i>P. argentea</i>	128.33 ± 8.12	40.00 ± 6.52	102.49 ± 11.06	602.71 ± 44.29
<i>P. chlorothyrsa</i>	149.7 ± 7.78	58.95 ± 11.86	90.39 ± 16.36	470.44 ± 75.53
<i>M. canescens</i>	287.05 ± 22.45	20.93 ± 5.42	75.48 ± 12.72	536.76 ± 69.31
<i>C. procera</i>	60.55 ± 6.44	95.15 ± 12.60	116.75 ± 15.10	722.43 ± 50.13
<i>A. schmittianum</i>	130.95 ± 6.86	30.99 ± 1.32	168.80 ± 16.34	768.59 ± 119.70
<i>D. gnidium</i>	96.50 ± 6.26	131.21 ± 27.91	220.87 ± 13.90	627.53 ± 37.72

* : mg/g poudre végétale sèche

Les solvants organiques acétate d'éthyle et le butanol permet une première sélection et séparation des métabolites et aussi une réduction de la charge de la matière organique végétale contenu dans les extraits bruts. Chaque fraction va comprendre un ou plusieurs types moléculaires, qui sont soit très ou solubles dans l'acétate d'éthyle et on parle de la fraction acétate d'éthyle (FAE), soit solubles dans le butanol pour donner la fraction butanolique (FB). Les métabolites, qui ne sont entraînés ni par l'un ou l'autre restent solubles dans l'eau et constitue la fraction aqueuse (FQ).

Quantitativement et d'après les résultats du Tableau 9, une grande partie des constituants des extraits bruts restent dans la fraction aqueuse. Ces teneurs sont déterminées en mg/g extrait brut et fluctuent entre 388.23 ± 47.10 mg/g (*T. aphylla*) et 768.59 ± 119.70 mg/g (*A. schmittianum*). En revanche, les teneurs des fractions acétate d'éthyle varie de 20.93 ± 5.42 mg/g (*M. canescens*) et 187.20 ± 27.94 mg/g (*T. hirsuta*), alors que celles enregistrées avec le butanol vont de 41.06 ± 8.26 mg/g; un minimum enregistré avec *T. hirsuta*, jusqu'à 220.87 ± 13.90 mg/g; un maximum enregistré avec le *D. gnidium*. Pour le reste des échantillons, les rendements sont intermédiaires et restent appréciables.

Pour chaque espèce végétale et au sein de la même espèce, la nature des composants phytochimiques est à l'origine des activités biologiques de chaque extrait ou fraction. Ces activités sont aussi en dépendance de la teneur de la substance ou l'ensemble des substances biologiquement actives.

V.1. 2. Analyse phytochimique qualitative et quantitative

- *Analyse qualitative*

La phytochimie qualitative basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur les extraits reconstitués à partir de la poudre lyophilisée de chaque échantillon végétal génère pour une première estimation des données préliminaires sur les constituants des extraits. Le résultat de ce criblage phytochimique est résumé dans le Tableau 10. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire. Effectivement quatre groupes de composés bioactifs

sont identifiés dans tous les extraits : stérols et triterpènes, flavonoïdes, tannins et glycosides cardiotoniques, alors que tous les extraits sont dépourvus des composés cyanogènes. En revanche, les alcaloïdes sont révélés uniquement dans les extraits bruts de *T. hirsuta*, *H. scoparium*, *M. canescens*, *C. procera* et *A. schmittianum*.

Tableau 10 : Résultat de la phytochimie qualitative des extraits méthanoliques bruts de différentes espèces végétales

	<i>Flavonoïdes</i>	<i>Tannins</i>	<i>Stérols et triterpènes</i>	<i>Alcaloïdes</i>	<i>Composes cyanogènes</i>	<i>Glycosides cardiotoniques</i>
<i>T. aphylla</i>	+	+	+	–	–	+
<i>T. pauciovulata</i>	+	+	+	–	–	+
<i>T. hirsuta</i>	+	+	+	+	–	+
<i>H. scoparium</i>	+	+	+	+	–	+
<i>P. argentea</i>	+	+	+	–	–	+
<i>P. chlorothyrsa</i>	+	+	+	–	–	+
<i>M. canescens</i>	+	+	+	+	–	+
<i>C. procera</i>	+	+	+	+	–	+
<i>A. schmittianum</i>	+	+	+	+	–	+
<i>D. gnidium</i>	+	+	+	–	–	+

- **Analyse quantitative**

Le contenu phénolique total des extraits bruts est calculé par la relation de la courbe étalon ($r^2= 1$). Les valeurs sont exprimées en équivalent acide gallique par gramme extrait ou fraction (mg EAG/ g), alors que le total des flavonoïdes est déterminé par l'équation ($r^2=0.9$) obtenu par une courbe d'étalonnage établie avec de la rutine. Les données sont exprimées en microgramme équivalent rutine par gramme extrait ou fraction ($\mu\text{g ER/g}$).

Les valeurs du contenu phénolique figurent dans le Tableau 11 et montrent clairement que la quasi-totalité des composés phénoliques présents dans les extraits bruts sont épuisés par les solvants organiques au cours du fractionnement et réparties dans la fraction acétate d'éthyle et/ou butanolique, confirmé par les valeurs très faibles de la fraction aqueuse où le maximum phénolique ne dépasse pas 7.48 ± 0.13 mg EAG/g obtenu avec *A. schmittianum*.

Tableau 11 : Le contenu phénolique dans les extraits bruts et les fractions, exprimé en mg EAG/g

	EMB (mg EAG/g) ^a	FAE (mg EAG/g) ^b	FB (mg EAG/g) ^c	FQ (mg EAG/g) ^d
<i>T. aphylla</i>	62.00±5.67	45.83±6.43	3.18±0.08	1.18±0.11
<i>T. pauciovulata</i>	401.06±32.09	216.67±12.21	16.14±0.71	0.68±0.005
<i>T. hirsuta</i>	44.81±3.76	10.47±0.65	68.06±10.32	0.87±0.008
<i>H. scoparium</i>	16.00 ±0.1152	22.89±1.05	37.31±5.14	4.34±0.06
<i>P. argentea</i>	597.23±67.18	26.54±2.90	12.34±0.86	1.99±0.06
<i>P. chlorothyrsa</i>	27.19±4.13	23.15±0.89	7.91±0.19	3.29±0.004
<i>M. canescens</i>	145.35±12.38	237.50±9.03	535.29±24.25	2.69±0.001
<i>C. procera</i>	50.84±7.04	9.24±0.05	24.21±0.40	4.10±0.10
<i>A. schmittianum</i>	24.44±2.13	30.50±3.02	9.25±0.07	7.48±0.13
<i>D. gnidium</i>	18.79±0.64	64.38±7.71	9.60±1.38	2.53±0.03

^a : /g EMB ;

^b : /g FAE ;

^c : /g FB ;

^d : /g FQ

La richesse en ces métabolites secondaires est observée dans l'extrait brut de *P. argentea* (597.23 ± 67.18 mg EAG/g), l'extrait brut (401.06 ± 32.09 mg EAG/g) et la fraction acétate d'éthyle (216.67 ± 12.21 mg EAG/g) du *T. pauciovulata*, dans l'extrait brut et les deux fractions acétate d'éthyle et butanolique de *M. canescens*: 145.35 ± 12.38 mg EAG/g, 237.50 ± 9.03 mg EAG/g et 535.29 ± 24.25 mg EAG/g respectivement. Des teneurs aussi appréciables sont révélées dans les échantillons suivants : extrait brut et fraction acétate d'éthyle du *T. aphylla* (62.00 ± 5.67 mg

EAG/g et 45.83 ± 6.43 mg EAG/g respectivement), extrait brut et fraction butanolique de *T. hirsuta* (44.81 ± 3.76 mg EAG/g et 68.06 ± 10.32 mg EAG/g respectivement), l'extrait brut de *C. procera* (50.84 ± 7.04 mg EAG/g), la fraction acétate d'éthyle du *D. gnidium* (64.38 ± 7.71 mg EAG/g), par contre le contenu phénolique le plus faible (autre que les fractions aqueuses) enregistré pour les extraits bruts est celui du *D. gnidium* (18.79 ± 0.64 mg EAG/g), pour les fractions acétate d'éthyle : *T. hirsuta* (10.47 ± 0.65 mg EAG/g) et pour les fractions butanoliques : le *T. aphylla* (3.18 ± 0.08 mg EAG/g) (Tableau 11).

Ce pendant, la majorité des extraits bruts sont riches en flavonoïdes à l'exception du *D. gnidium* (10.59 ± 0.3066 µg ER/g). Les plus riches en flavonoïdes sont dans l'ordre : *M. canescens* (52416.67 ± 3417.7 µg ER/g), *P. argentea* (37860.86 ± 11036 µg ER/g) et *T. aphylla* (34768.98 ± 4004 µg ER/g). Les résultats de ce dosage sont mentionnés dans le Tableau 12.

Le contenu en flavonoïdes des fractions est très variable selon les espèces et les fractions. Les flavonoïdes sont présents en prépondérance dans les fractions du *T. pauciovulata*, *M. canescens* et *T. hirsuta*. Les teneurs enregistrées sont dans l'ordre : FB de *M. canescens* (61622.81 ± 4031.7 µg ER/g) > FAE de *M. canescens* (46153.85 ± 2719.6 µg ER/g) > FB de *T. hirsuta* (20977.01 ± 1430.5 µg ER/g) > FB du *T. pauciovulata* (14619.88 ± 1012.03 µg ER/g) > FAE du *T. pauciovulata* (6645.57 ± 567 µg ER/g). Notant aussi la teneur notable de flavonoïdes (383.14 ± 32.04 µg ER/g) de la fraction acétate d'éthyle du *T. aphylla*, alors que le contenu pour le reste des fractions est très inférieur à celui enregistré avec les échantillons cités en haut.

Tableau 12 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits bruts et les fractions, exprimée en mg ER/g

	<i>EMB</i> ($\mu\text{g ER/g}$) ^a	<i>FAE</i> ($\mu\text{g ER/g}$) ^b	<i>FB</i> ($\mu\text{g ER/g}$) ^c	<i>FQ</i> ($\mu\text{g ER/g}$) ^d
<i>T. aphylla</i>	34768.98±4004	383.14±32.04	4.21±0.27	0.14±0.02
<i>T. pauciovulata</i>	13423.58±640.12	6645.57±567	14619.88±1012.03	185.60±14.15
<i>T. hirsuta</i>	14446.95±834.6	4.21±0.1977	20977.01±1430.5	408.50±34.98
<i>H. scoparium</i>	12329.97±679.54	4.36±0.545	20.68±1.34	757.04±98.67
<i>P. argentea</i>	37860.86±1103.6	21.90±2.059	35.61±2.91	1.24±0.28
<i>P. chlorothyrsa</i>	3446.84±313.09	13.98±1.21	9895.83±703.56	0.58±0.02
<i>M. canescens</i>	52416.67±3417.7	46153.85±2719.6	61622.81±4031.7	1765.87±561.09
<i>C. procera</i>	4174.53±285.19	7.42±0.81	3.39±0.78	1.33±0.012
<i>A. schmittianum</i>	15968.80±10203.2	30.01±3.64	17.93±1.21	3151.71±277
<i>D. gnidium</i>	10.59±0.3066	57.37±8.005	18.97±0.74	0.02±0.0009

^a : /g EMB ; ^b : /g FAE ; ^c : /g FB ; ^d : /g FQ

En ce qui concerne les fractions aqueuses, l'abondance est observée dans les fractions suivantes : *T. hirsuta* (408.50±34.98 $\mu\text{g ER/g}$), *H. scoparium* (757.04±98.67 $\mu\text{g ER/g}$), *M. canescens* (1765.87±561.09 $\mu\text{g ER/g}$), *A. schmittianum* (3151.71±277 $\mu\text{g ER/g}$) et *T. pauciovulata* (185.60±14.15 $\mu\text{g ER/g}$) mais dans l'ensemble, ces quantités sont faibles en comparaison avec celles obtenues groupées ou non par les fractions organiques. L'exception est soulevée uniquement avec les deux échantillons : *H. scoparium* et *A. schmittianum*, où les flavonoïdes se sont retrouvés essentiellement dans la fraction aqueuse, ce qui peut être expliqué par la grande polarité et la plus grande hydro-solubilité des flavonoïdes présents dans ces deux espèces.

V.1. 3. Analyse par HPLC-UV

L'analyse réalisée par HPLC-UV sur l'échantillon endémique *T. pauciovulata* montre la richesse des feuilles de cette espèce désertique en composés phénoliques, quantitativement en acide phénolique : l'acide syringique (1070mg/100g), des flavonoïdes de type flavonols ont été séparés et identifiés dont le plus important est la

quercétine (34.1mg/100g), aussi la présence des catéchines et dérivés à des taux < 0.1mg/g (Tableau 13). Ces composés sont connus par leurs multiples activités biologiques et sont donc responsables dans la plupart des cas de toutes les propriétés médicinales de cette espèce. La figure 29 présente les structures chimiques des différents composés phénoliques identifiés

Tableau 13 : Le contenu phénolique des feuilles du *T. pauciovulata* analysé par HPLC-UV

	Teneur (mg/100g poudre végétale)
Acide syringique	1070
Quercétine	34.1
Isoquercétine	< 5
Kaempférol	5.77
Isorhamnétine	5
Catéchine	< 0.1
Epicatéchine	< 0.1
Epicatéchine gallate	< 0.1
Epigallocatechine	< 0.1
Epigallocatechine gallate	< 0.1

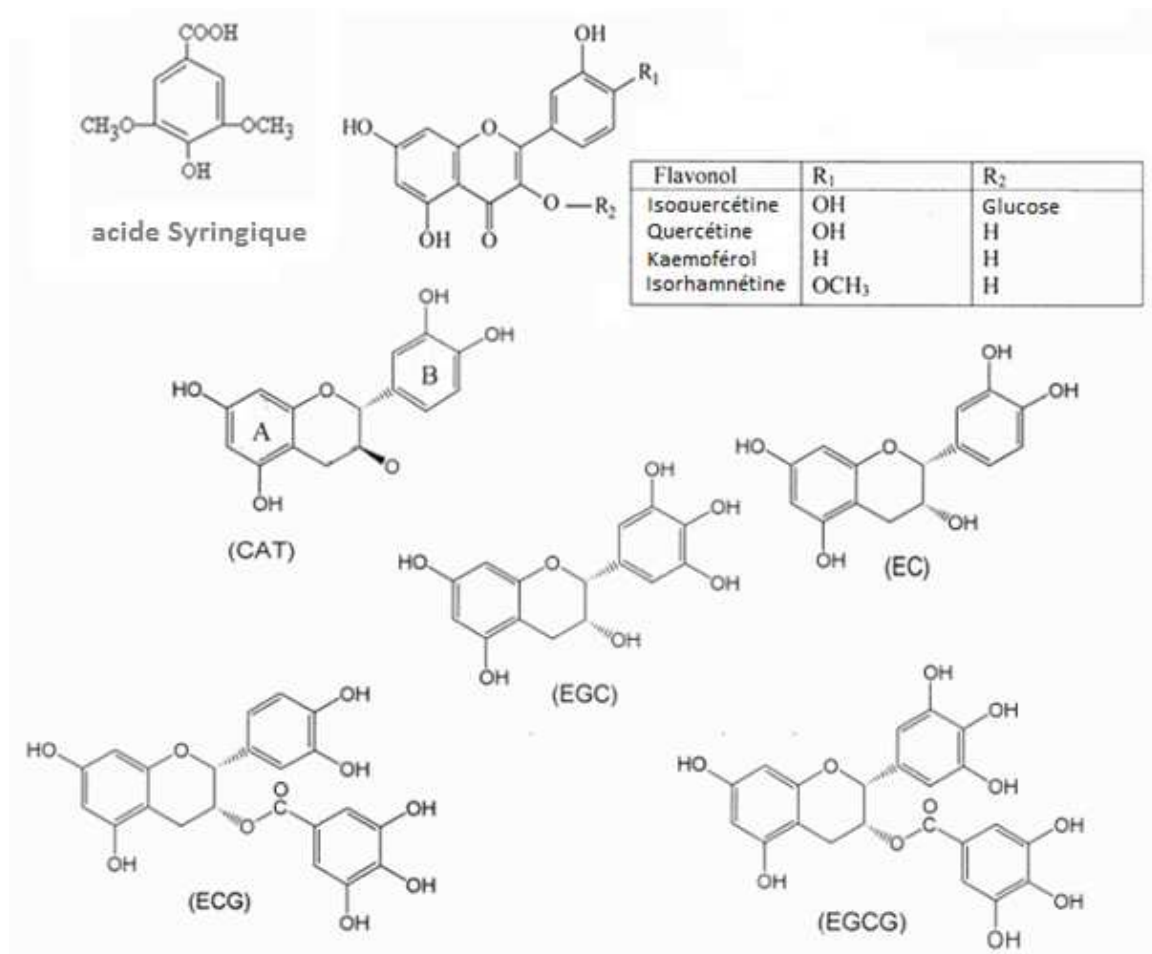


Figure 29 : Structure chimique des composés identifiés dans les feuilles du *Tamarix pauciovulata*

V.2. Résultats de l'activité antifongique et antiaflatoxinogène

V.2.1. Effet des extraits sur la croissance d'*A. flavus*

Différentielles efficacités sont notées entre les différents extraits sur la croissance de l'espèce fongique, potentiellement toxigène *A. flavus*. L'action sur la croissance, élucidée dans le Tableau 14, exprime une sensibilité significative de la moisissure à tous les extraits par rapport au témoin ($p < 0.05$). Cette sensibilité est sous la dépendance de la composition chimique en métabolites secondaires et fonction de la nature des substances naturelles à caractère antimicrobien, agissant comme des phytoalexines, qui sont présentes et caractérisent chaque extrait.

Les deux espèces apparentées et riches en alcaloïdes, *H. scoparium* et *A. schmittianum* ont inhibé fortement la croissance de la souche *A. flavus*. Le pourcentage d'inhibition est de 65.33% et 83.56% respectivement. Ce pendant, l'extrait de la plante aromatique *D. gnidium* a inhibé complètement (100%) la croissance d'*A. flavus*. Cet extrait contient des substances antifongiques, fortement inhibitrices par rapport à tous les extraits végétaux utilisés dans cet essai antifongique. En parallèle, les autres extraits sont aussi efficaces contre cette souche mais cette activité est très distante et modeste en comparaison avec les espèces citées plus haut. Leur pouvoir inhibiteur se situe entre 24.67% (*P. argentea*) et 47.33% (*C. procera*). En plus, l'analyse statistique entre les espèces de même genre montre une différence non significative. *P. argentea* et *P. chlorothyrsa* (30.22%), ainsi que *T. aphylla* (40%) et *T. pauciovulata* (30%) présentent une activité antifongique similaire.

Tableau 14: les effets toxiques des extraits (5µg/ml) sur la croissance de la souche *A.*

flavus

	Diamètre de la colonie (mm)	Taux d'inhibition (%)
<i>T. aphylla</i>	45 ± 1.00	40
<i>T. pauciovulata</i>	52.50 ± 3.53	30
<i>T. hirsuta</i>	53.33 ± 2.58	28.89
<i>H. scoparium</i>	26 ± 3.60	65.33
<i>P. argentea</i>	56.50 ± 3.10	24.67
<i>P. chlorothyrsa</i>	52.33 ± 1.54	30.22
<i>M. canescens</i>	41.67 ± 2.88	44.44
<i>C. procera</i>	39.50 ± 1.08	47.33
<i>A. schmittianum</i>	12.33 ± 2.12	83.56
<i>D. gnidium</i>	0	100
<i>Témoin</i>	75 ± 1.41	0

V.2.2. Effet des extraits sur la production de l'aflatoxine B1

Parallèlement au premier test, un autre test complémentaire a été effectué afin de mesurer les potentialités antifongiques que possèdent les extraits non seulement sur la croissance mais aussi sur la biosynthèse et la production des toxines par cette souche, connue par ces immenses potentialités à produire des mycotoxines dont les plus toxigènes sont les aflatoxines. La production de l'aflatoxine B1 est mesurée après une durée d'incubation de 10 jours et les résultats sont donnés dans le Tableau 15.

Les résultats enregistrés expliquent une relation proportionnelle entre les biomasses et les aflatoxines, qui est dose-dépendante. A chaque fois qu'on augmente la dose de l'extrait dans le milieu de culture, la réduction de biomasse mycélienne est accompagnée par une baisse dans la sécrétion de l'aflatoxine B1 mais non identique en pourcentage. Effectivement, la comparaison des taux de réduction obtenus pour les biomasses et leur équivalent pour les aflatoxines, montre qu'ils sont dans 75% significativement différent ($p < 0.05$), ce qui veut dire que la baisse de production de l'aflatoxine B1 n'est pas seulement en relation avec la croissance du mycélium mais elle est due à l'action directe des extraits sur les voies de biosynthèse de la mycotoxine. Les substances végétales ou naturelles exercent une action directe et indirecte sur la biosynthèse des aflatoxines.

La plupart des extraits sont de bons inhibiteurs de la production de l'aflatoxine B1, l'activité la plus remarquable est constatée avec le *D. gnidium*. Cet extrait exerce une très bonne activité antifongique et antiaflatoxinogène. Les pourcentages de réduction de l'AFB1 est de 93.50%. L'extrait de *T. pauciovulata* et celui d'*H. scoparium* sont sans effet sur la production de l'AFB1 ($p > 0.05$) quand la dose administré est faible (2.5µg/ml), l'effet sur la production de la toxine s'observe qu'après augmentation de la dose dans le milieu de culture pour atteindre à la dose de 10µg/ml un seuil de 85.49% et 85.51% respectivement, alors que les biomasses fongiques sont réduits à 52.83% et 63.26% respectivement.

Tableau 15: Effet des extraits sur la biomasse et la production de l'aflatoxine B1

	Concentration (µg/ml)	Biomasse (g)	Taux de réduction de Biomasse (%)	Teneur en AFB1 (µg/g)	Inhibition de la production d'Aflatoxine B1 (%)
<i>T. aphylla</i>	2.5	0.1396±0.00028	49.42	66.195±0.07425	51.46
	5	0.1367±0.00071	50.47	63.775±0.54801	53.24
	7.5	0.1341±0.00078	51.41	61.356±0.17183	55.01
	10	0.1334±0.00028	51.67	39.775±0.24395	70.84
<i>T. pauciovulata</i>	2.5	0.1457±0.0029	47.21	130.594±1.12713 ^{ns}	04.24
	5	0.139 ±0.00042	49.49	43.264±1.22754	68.28
	7.5	0.1351±0.00092	51.05	31.744±0.88813	76.72
	10	0.1302±0.00191	52.83	19.784±0.15274	85.49
<i>T. hirsuta</i>	2.5	0.1368±0.00226	50.44	106.943±4.90944	21.58
	5	0.1311±0.00311	52.50	61.725±2.31577	54.74
	7.5	0.1089±0.00785	60.54	54.938±3.09571	59.72
	10	0.1014±0.00099	63.26	40.431±1.64049	70.35
<i>H. scoparium</i>	2.5	0.1398±0.0053	49.35	131.470±1.73241 ^{ns}	3.60
	5	0.1198±0.00339	56.59	110.750±5.48008	18.79
	7.5	0.1141±0.0029	58.66	40.441±2.43315	70.35
	10	0.1014±0.00778	63.26	19.768±2.26981	85.51
<i>P. argentea</i>	2.5	0.1409±0.00042	48.95	120.560±3.83252	11.60
	5	0.1408±0.00057	48.99	86.002±4.24405	36.94
	7.5	0.1398±0.00601	49.35	51.329±2.97621	62.37
	10	0.0528±0.01393	80.87	36.562±2.90267	73.19
<i>P. chlorothyrsa</i>	2.5	0.1388±0.00051	49.71	44.928±4.0763	67.06
	5	0.1378±0.00048	50.07	29.067±3.8067	78.68
	7.5	0.1367±0.0011	50.47	22.315±1.9801	83.64
	10	0.1212±0.0037	56.09	17.52±1.8675	87.15
<i>M. canescens</i>	2.5	0.1385±0.00057	49.82	67.774±1.29118	50.30
	5	0.1370±0.00141	50.36	41.151±1.34562	69.83
	7.5	0.1322±0.00156	52.10	36.275±2.19132	73.40
	10	0.1284±0.00332	53.48	13.976±1.39654	89.75
<i>C. procera</i>	2.5	0.1441±0.00198	47.79	87.521±1.13915	35.82
	5	0.1357±0.00219	50.83	83.953±2.04566	38.44
	7.5	0.1312±0.00085	52.68	61.022±2.46215	55.25
	10	0.1306±0.02164	52.46	56.997±4.24123	58.21
<i>A. schmittianum</i>	2.5	0.1418±0.00085	48.62	111.537±5.33866	18.21
	5	0.1415±0.00106	48.73	62.720±3.71938	54.01
	7.5	0.1316±0.00113	52.32	29.727±2.79166	78.20
	10	0.1286±0.00431	53.41	24.220±1.73595	82.24
<i>D. gnidium</i>	2.5	0.1259±0.0029	54.39	86.378±3.87707	36.66
	5	0.1235±0.00106	55.25	37.929±1.31522	72.19
	7.5	0.1154±0.00382	58.19	34.315±1.94313	74.84
	10	0.0159±0.00156	94.24	8.866±0.97123	93.50
<i>Témoin</i>	0	0.2760±0.01435	0	136.375±5.46099	0

ns: non significatif (p > 0.05)

L'activité antiaflatoxinigène est donc classée dans l'ordre suivant (prenant en compte la concentration 10µg/ml) : *D. gnidium* (93.50%), *M. canescens* (89.75%), *P.chlorothyrsa* (87.15%), *H. scoparium* (85.51%), *T. pauciovulata* (85.49), *A. schmittianum* (82.24%), *P. argentea* (73.19%), *T. aphylla* (70.84%), *T. hirsuta* (70.35%), *C. procera* (58.21%).

V.3. Résultats des tests antioxydants

Les résultats d'une méthode ne donnent que des suggestions réduites sur les propriétés antioxydantes des extraits. La combinaison de plusieurs techniques complémentaires, associant des mécanismes différents serait idéale pour une évaluation efficace et complète des potentiels antioxydants chez une ou plusieurs espèces. Cinq méthodes sont employées : piégeage du radical libre DPPH, neutralisation du dérivé oxygéné H₂O₂, la chélation des métaux de transition, mesurée par la méthode du pouvoir réducteur, blanchissement du β-carotène et l'inhibition de la xanthine oxydase.

V.3.1. Piégeage du radical libre stable DPPH

L'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH par les extraits et fractions est dose-dépendante. Les résultats de cette activité sont exprimés par le paramètre EC50 et figurent dans le Tableau 16. L'extrait (ou fraction) possédant la valeur EC50 la plus basse, exerce l'activité anti-radicalaire la plus puissante. Selon le Tableau 16, tous les extraits et fractions sont dotés d'une activité antioxydante, qui varie d'un extrait à un autre et d'une fraction à une autre pour différents ou le même échantillon végétale.

Tableau 16 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH, exprimés par la concentration efficace EC50 en µg/ml

	<i>EMB</i>	<i>FAE</i>	<i>FB</i>	<i>FQ</i>
<i>T. aphylla</i>	911.73±11.88	206.41±4.728	118.39±1.335	483.62±9.196
<i>T. pauciovulata</i>	49.357±2.42679	2653±401.64	1002.6±70.71	892.03±11.60786
<i>T. hirsuta</i>	95.65±0.6690	196.66±3.01	80.27±0.4185	749.50±9.03
<i>H. scoparium</i>	26.94±0.2128	23.13±0.6361	8.78±0.8362	133.78±11.05
<i>P. argentea</i>	17.26±0.4015	23.63±0.1505	29.60±0.5015	258.86±4.515
<i>P. chlorothyrsa</i>	877.43±6.385	214.33±1.278	218.39±1.533	322.85±8.172
<i>M. canescens</i>	41.74±0.4598	24.78±0.1787	14.13±0.1181	223.75±6.789
<i>C. procera</i>	94.82±0.7099	57.89±0.6266	400.33±17.356	749.38±3.366
<i>A. schmittianum</i>	52.51±0.7664	10.07±0.1533	9.59±0.1931	11.71±0.8360
<i>D. gnidium</i>	55.52±0.3345	11.59±0.1278	30.41±0.5621	129.04±5.038
Standard: <i>Ac. ascorbique</i>	4.498±0.75095			

La comparaison entre les extraits bruts et les fractions montre que dans 70%, les fractions acétate d'éthyle et butanoliques présentent des capacités de piégeage du radical DPPH plus efficaces que les extraits bruts et seulement 20% des fractions aqueuses sont meilleures que les extraits bruts, alors que la comparaison entre les fractions montre que les deux fractions acétate d'éthyle et butanoliques sont dans 90% plus puissante que la fraction aqueuse. Ce qui explique que la plupart des substances antioxydantes ont été entraînées par les deux solvants organiques au cours du fractionnement. L'exception est faite pour l'extrait brut de *P. argentea* (17.26±0.4015 µg/ml) et *T. pauciovulata* (49.357±2.42679 µg/ml) manifestant une capacité très élevée par rapport à l'ensemble des fractions, alors que les activités les plus faibles dans l'ensemble sont observées dans les fractions aqueuses.

L'activité antioxydant par la même méthode est mesurée pour l'acide ascorbique, pris comme antioxydant de référence. Ce dernier a manifesté in vitro une

capacité très puissante sur le radical libre DPPH, justifiée par la valeur EC50 la plus basse obtenue expérimentalement par cette méthode ($4.498 \pm 0.75095 \mu\text{g/ml}$). Ce standard (ac. ascorbique) demeure le piègeur le plus efficace, dirigé contre les radicaux libres dans les systèmes biologiques hydrosolubles.

Statistiquement, l'analyse comparative entre le standard et les différents échantillons a abouti aux résultats suivants :

- ac. ascorbique vs de tous les extraits bruts et toutes les fractions : la différence est significative ($p < 0.05$). L'activité antioxydante de l'acide ascorbique est très différente et élevée par rapport aux extraits et fractions.

Si, l'antioxydant de référence est le plus puissant piègeur du radical libre DPPH d'après l'analyse statistique, cela n'empêche pas qu'un certain nombre d'extraits et fractions sont très actifs et sont aussi d'excellents piègeurs après l'acide ascorbique vu les valeurs EC50 très basses obtenues expérimentalement. Il s'agit dans l'ordre des fractions butanoliques d'*H. scoparium* ($8.78 \pm 0.8362 \mu\text{g/ml}$), d'*A. schmittianum* ($9.59 \pm 0.1931 \mu\text{g/ml}$), les fractions acétate d'éthyle d'*A. schmittianum* ($10.07 \pm 0.1533 \mu\text{g/ml}$), *D. gnidium* ($11.59 \pm 0.1278 \mu\text{g/ml}$), la fraction aqueuse d'*A. schmittianum* ($11.71 \pm 0.8360 \mu\text{g/ml}$) et l'extrait brut de *P. argentea* (17.26 ± 0.4015).

V.3.2. piégeage du peroxyde d'hydrogène

Les résultats de l'activité antioxydante figurent dans le Tableau 17 et expriment les capacités de détoxification in vitro du peroxyde d'hydrogène par les différents échantillons. Cette molécule très réactive est un générateur de dérivés oxygénés très toxiques tel que le radical hydroxyle.

Les résultats éminents révèlent une très bonne activité et donc tous les extraits et fractions ont la capacité de neutraliser le peroxyde d'hydrogène dont 100% des fractions acétate d'éthyle et 90% des fractions butanoliques ainsi que aqueuses ont donné des valeurs IC50 plus basses à celles des extraits bruts. Les échantillons les plus actifs sur H_2O_2 sont : les extraits brut de *T. hirsuta* ($12.37 \pm 0.307 \mu\text{g/ml}$), *A.*

schmittianum (17.36±1.218 µg/ml) et *D. gnidium* (3.01±1.003 µg/ml). Toutes les fractions acétate d'éthyle, parmi les plus puissantes, on cite *T. pauciovulata* (0.20±0.002 µg/ml) et qui possède le potentiel le plus remarquable de tous les échantillons, *T. hirsuta* (1.96±0.151 µg/ml), *D. gnidium* (2.70±0.174 µg/ml), *P. argentea* (3.01±0.301 µg/ml), *M. canescens* (3.09±0.040 µg/ml) et *T. aphylla* (3.99±0.031 µg/ml). Les fractions butanoliques du *T. pauciovulata* (1.51±0.018 µg/ml), *T. hirsuta* (2.84±0.042 µg/ml), *C. procera* (2.68±0.335 µg/ml), *P. argentea* (6.44±0.828 µg/ml), *A. schmittianum* (9.03±1.419 µg/ml) et le *D. gnidium* (10.03±0.201 µg/ml). Pour les fractions aqueuses, on cite *T. hirsuta* (1.82±0.084 µg/ml), *D. gnidium* (4.14±0.358 µg/ml), *P. chlorothyrsa* (7.22±0.134 µg/ml), *A. schmittianum* (8.03±2.006 µg/ml) et *C. procera* (9.03±0.335 µg/ml).

Tableau 17 : Résultats de l'activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène par les extraits, fractions et standard, exprimée en IC50 (µg/ml)

	EMB	FAE	FB	FQ
<i>T. aphylla</i>	123.97±2.784	3.99±0.031	44.45±0.639	25.92±0.418
<i>T. pauciovulata</i>	40.057±2.587	0.20±0.002	1.51±0.018	13.83±0.178
<i>T. hirsuta</i>	12.37±0.307	1.96±0.151	2.84±0.042	1.82±0.084
<i>H. scoparium</i>	53.18±3.133	13.11±0.234	17.06±0.348	11.24±0.460
<i>P. argentea</i>	113.04±3.066	3.01±0.301	6.44±0.828	38.63±1.171
<i>P. chlorothyrsa</i>	27.36±0.746	13.57±0.587	13.91±0.134	7.22±0.134
<i>M. canescens</i>	152.73±5.107	3.09±0.040	51.84±0.335	37.12±0.335
<i>C. procera</i>	56.19±1.004	5.28±0.505	2.68±0.335	9.03±0.335
<i>A. schmittianum</i>	17.36±1.218	12.12±0.418	9.03±1.419	8.03±2.006
<i>D. gnidium</i>	3.01±1.003	2.70±0.174	10.03±0.201	4.14±0.358
Standard: <i>Ac. ascorbique</i>	4.77±0.121			

La comparaison entre l'acide ascorbique (4.77±0.121 µg/ml) et l'ensemble des résultats obtenus dans le Tableau 17 montre suite à une analyse statistique :

- une différence significative (p<0.05) avec un pouvoir de piégeage du peroxyde d'hydrogène de l'acide ascorbique supérieur et meilleur que 65% des échantillons suivants : l'extrait brut et les fractions d' *H. scoparium*, *P. chlorothyrsa* et *A. schmittianum*. L'extrait brut et les fractions butanoliques et

aqueuses du *T. aphylla* et *M. canescens*. L'extrait brut et la fraction aqueuse du *T. pauciovulata*, *P. argentea* et *C. procera*. L'extrait brut de *T. hirsuta* et la fraction butanolique du *D. gnidium* mais le résultats de cette analyse n'exclue pas qu'un grand nombre des échantillons de ce groupe sont de bons antioxydants, comme le montre les valeurs EC50, qui figurent dans le Tableau 17.

- une différence significative ($p < 0.05$) avec une activité antioxydante de 25% des échantillons (tous sont des fractions) élevée à l'acide ascorbique. Ces échantillons hautement antioxydants sont dans l'ordre : la fraction acétate d'éthyle et butanolique du *T. pauciovulata*, la fraction aqueuse et acétate d'éthyle de *T. hirsuta*, la fraction butanolique de *C. procera*, la fraction acétate d'éthyle du *D. gnidium*, la fraction butanolique de *T. hirsuta*, les fractions acétate d'éthyle de *P. argentea*, *M. canescens* et *T. aphylla*. Aussi, il est à noter que l'analyse statistique entre le premier échantillon de ce groupe et le reste des fractions du groupe cité en haut, montre que la fraction acétate d'éthyle du *T. pauciovulata* est potentiellement la plus active et est très différente de ce groupe des fractions ($p < 0.05$).
- une différence non significative ($p > 0.05$) entre l'acide ascorbique et 10% des échantillons suivants : l'extrait brut et la fraction aqueuse du *D. gnidium*, la fraction acétate d'éthyle de *C. procera* et la fraction butanolique de *P. argentea*. Ce résultat explique une activité antioxydante similaire au standard.

V.3.3. Pouvoir réducteur

Les fractions acétate d'éthyle et butanoliques ont exprimées un pouvoir réducteur largement différent et très élevé aux extraits bruts et aussi par rapport à la majorité des fractions aqueuses. Ces potentialités est en relation avec la nature des substances réductrices existantes dans ces échantillons. Les résultats montre que 90% des fractions butanoliques et 80% des fractions acétate d'éthyle ont un pouvoir

réducteur qui dépasse 50% à la dose test de 100µg/ml. Cette constatation est aussi observée avec le standard ; Trolox dont le pouvoir réducteur atteint 66.12% à la même dose. Notant aussi que, les fractions acétate d'éthyle et butanoliques de *M. canescens*, *H. scoparium* et d'*A. schmittianum* ont respectivement le pouvoir réducteur le plus puissant de tous les échantillons (figure 30).

L'analyse statistique basée sur la multiple comparaison entre le standard (Trolox) et les différents extraits bruts et fractions, nous a permis de classer les échantillons dans trois catégories :

- les échantillons au pouvoir réducteur supérieur au Trolox ($p < 0.05$) sont : les fractions acétate d'éthyle d'*H. scoparium* (90.47%), *P. argentea* (77.39), *M. canescens* (96.23%) et *A. schmittianum* (88.21%). Les fractions butanoliques du *T. aphylla* (72.77%), *T. pauciovulata* (79.20%), *H. scoparium* (90.89%), *M. canescens* (92.87%) et *A. schmittianum* (81.99%) et la seule fraction aqueuse de cette dernière espèce (75.63%).
- Les échantillons au pouvoir réducteur similaire au Trolox ($p > 0.05$) : cette catégorie est occupée uniquement par les fractions butanoliques des échantillons suivants : *T. hirsuta* (67.30%), *D. gnidium* (66.34%), *P. chlorothyrsa* (66.29%), *P. argentea* (60.82%) et la fraction acétate d'éthyle de *T. hirsuta* (65.33%).
- Les échantillons au pouvoir réducteur inférieur au Trolox ($p < 0.05$) : cette catégorie comprend tous les extraits bruts, toutes les fractions aqueuses à l'exception d'*A. schmittianum*, la fraction butanolique de *C. procera* et les fractions acétate d'éthyle du *T. aphylla*, *T. pauciovulata*, *P. chlorothyrsa*, *C. procera*, et le *D. gnidium*.

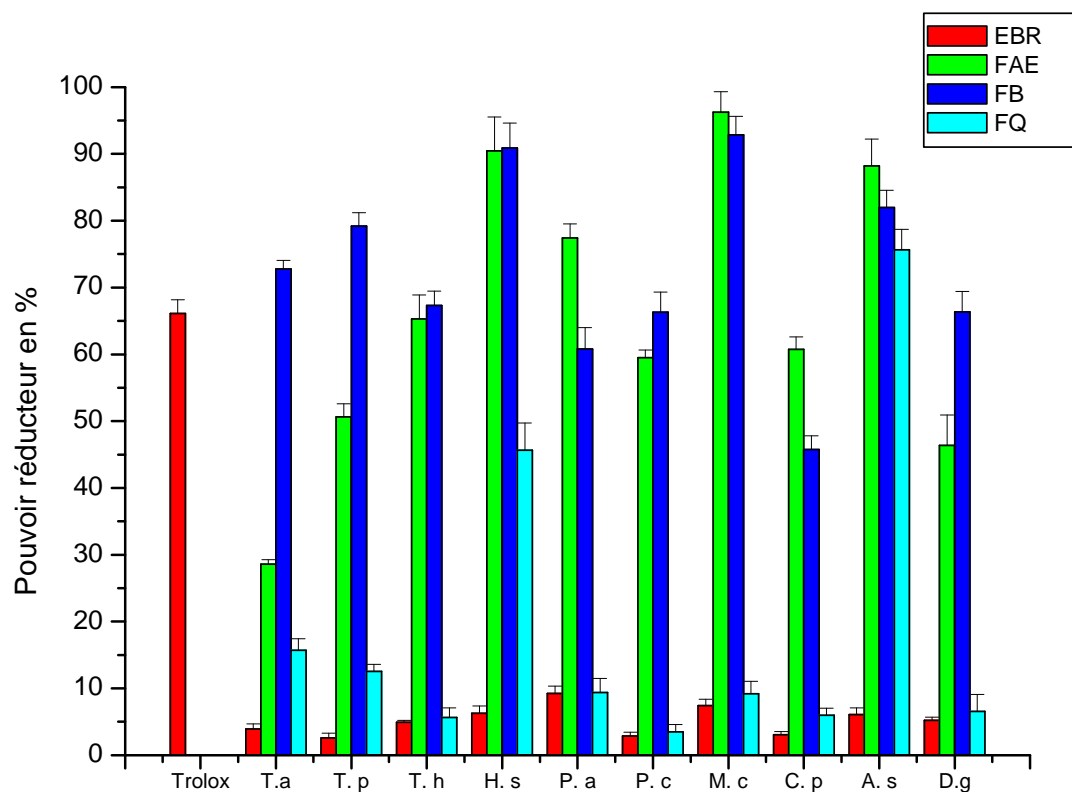
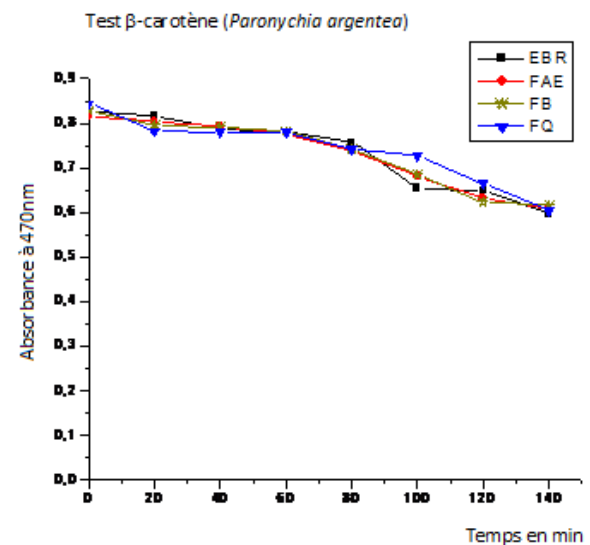
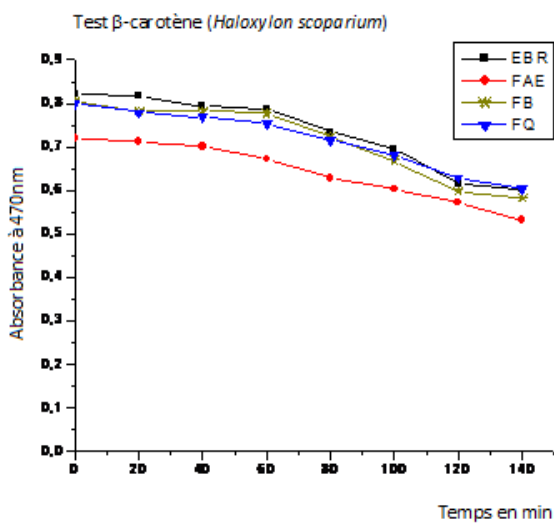
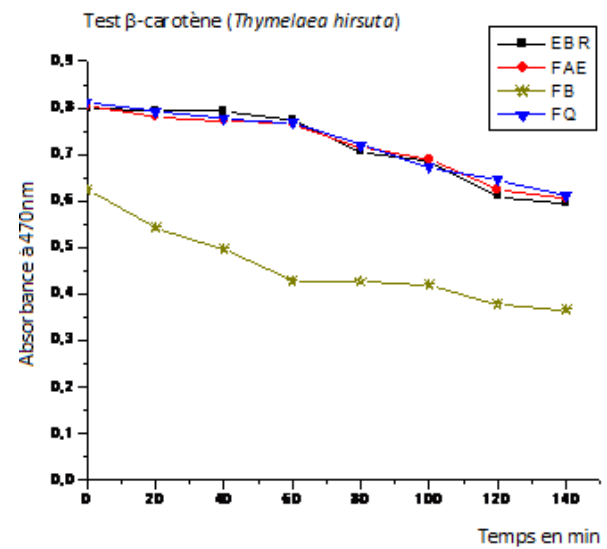
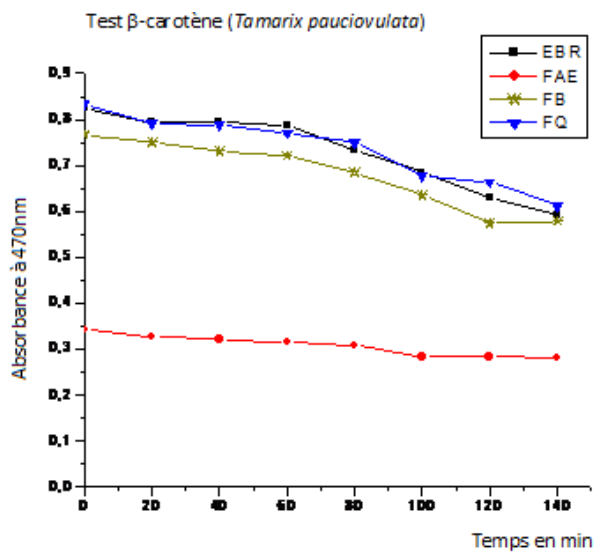
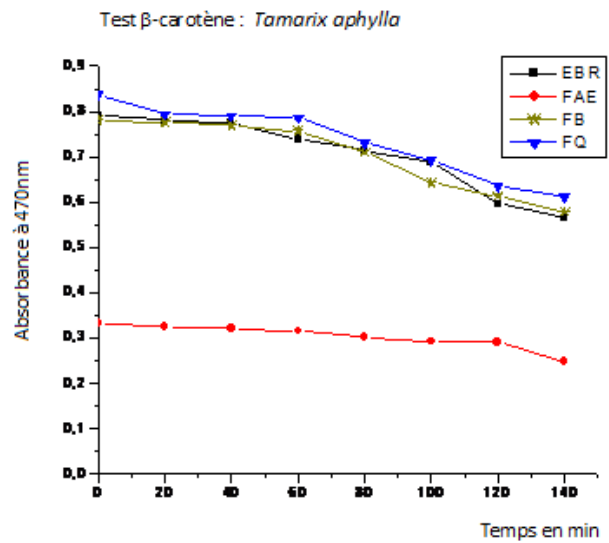
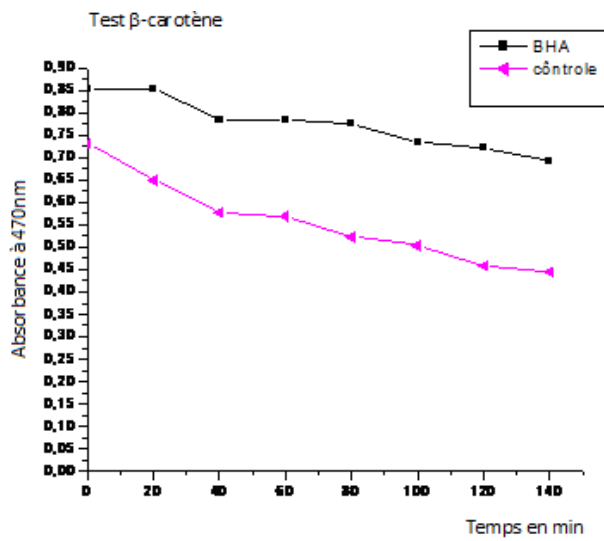


Figure 30: Pouvoir réducteur des extraits, fractions et standard à la dose test de 100µg/ml, exprimé en pourcentage

V.3.4. Blanchissement du β -carotène

Le potentiel antioxydant des extraits et fractions est évalué par la détermination de la capacité d'inhibition de l'oxydation du β -carotène. Les courbes (figure 31) montrent l'oxydation (blanchissement) du β -carotène dans un temps de 140min. la diminution de l'absorbance est due à l'oxydation du β -carotène et l'acide linoléique. L'ajout de substance antioxydante, joue un rôle protecteur et empêche ou ralentit cette oxydation. Cet effet protecteur est mesuré par le taux d'inhibition du blanchissement du β -carotène à la fin de la durée d'incubation.

La figure 32 montre le taux d'inhibition du blanchissement du β -carotène, exercée par les extraits bruts et les fractions en comparaison avec le contrôle positif (BHA) à la dose test de 100 μ g/ml, après une durée de 140min d'incubation. La plupart des échantillons ont démontré une activité modeste par rapport au BHA. Seulement cinq fractions parmi quarante échantillons ont révélé des taux inhibiteurs supérieurs à 50% dont trois fractions ont manifesté un excellent pouvoir antioxydant ; ce sont des fractions de type acétate d'éthyle et qui sont dans l'ordre : *T. aphylla* (96.52%), *T. pauciovulata* (78.75%) et *M. canescens* (67.60%). La mauvaise activité antioxydante est enregistrée avec la fraction butanolique de *T. hirsuta* (10.10%).



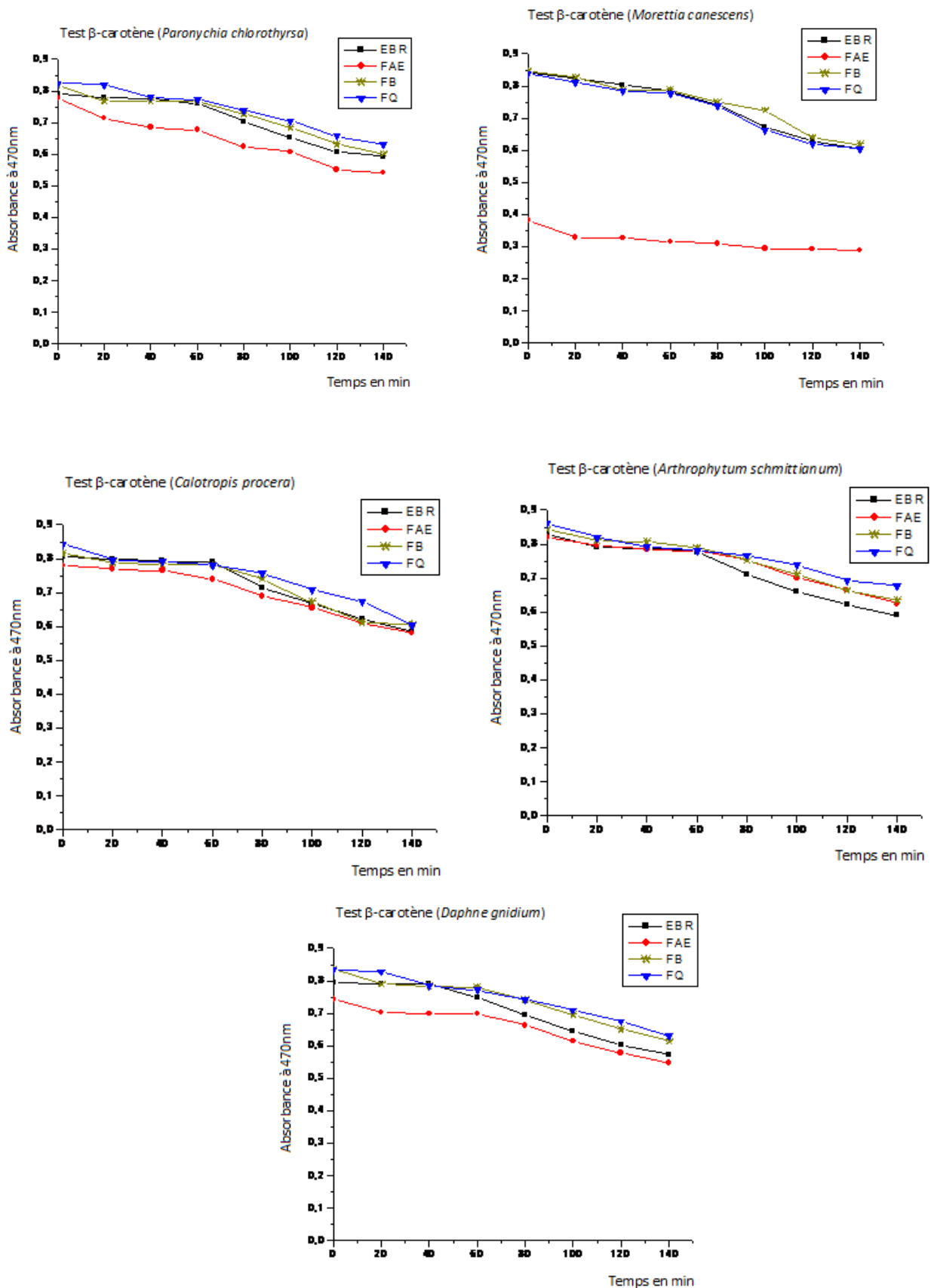


Figure 31: Effet de 140min d'incubation à la température de 50°C sur l'oxydation du β -carotène en absence (contrôle négatif) et en présence des extraits bruts/ fractions ou BHA

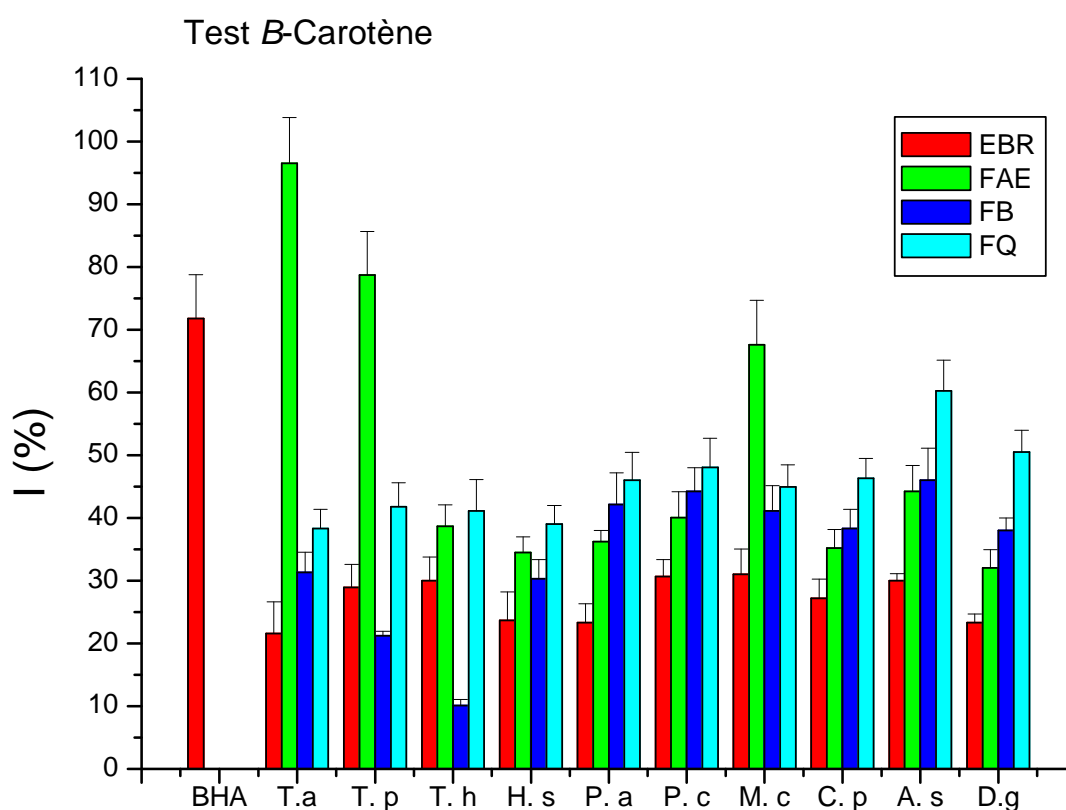


Figure 32: Activité antioxydante, exprimé en pourcentage d’inhibition du blanchiment du β -carotène des extraits et fractions de différents échantillons végétales en comparaison avec du BHA ($t=140\text{min}$, dose test= $100\mu\text{g/ml}$)

Entre extraits bruts et fractions, les meilleures activités s’observent dans les fractions. Dans chaque type de fraction : 60% ont des effets antioxydant similaires ($p>0.05$), pour les fractions acétate d’éthyle, ce sont le *D. gnidium*, *C. procera*, *P. argentea*, *P. chlorothyrsa*, *H. scoparium* et *T. hirsuta*. Pour les fractions butanoliques : *A. shmittianum*, *D. gnidium*, *C. procera*, *M. canescens*, *P. argentea* et *P. chlorothyrsa*, alors que les fractions aqueuses au pouvoir inhibiteur identiques sont : *P. argentea*, *M. chlorothyrsa*, *T. aphylla*, *T. pauciovulata*, *T. hirsuta* et *H. scoparium*. Ce pendant, la différence est non significative entre tous les extraits bruts ($p>0.05$) et donc leur activité antioxydante in vitro par cette méthode est similaire.

L'antioxydant BHA a révélé une très bonne activité de l'ordre de 71.78%, qui est statistiquement similaire aux activités exercées par les deux fractions acétate d'éthyle du *T. pauciovulata* et *M. canescens*, ainsi que la fraction aqueuse d'*A. schmittianum* ($p > 0.05$). Ce pendant notre fraction acétate d'éthyle du *T. aphylla* est d'autant plus meilleur que le contrôle BHA ($p < 0.05$) et protège plus efficacement le β -carotène contre l'oxydation.

V.3.5. Inhibition de la xanthine oxydase

L'effet des extraits et fractions sur l'activité de la xanthine oxydase est présenté dans la figure 33. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase à la dose de 100 μ g/ml, en comparaison avec l'inhibiteur de référence : allopurinol. Ce dernier a démontré une excellente activité inhibitrice (65.39%).

De l'ensemble de nos échantillons, 92.5% ont manifesté une activité faible à celle de l'allopurinol, voire extrêmement faible (les fractions brutes) ou presque nulle, c'est le cas de la fraction acétate d'éthyle de *P. argentea* (0.75%). Cette fraction est donc sans effet sur la xanthine oxydase. En revanche, 7.5% des échantillons; tous des fractions acétate d'éthyle ont prouvé une très bonne activité inhibitrice ($> 50\%$) à l'égard de cet enzyme.

La comparaison entre l'allopurinol et ces trois fractions, nous a permis de formuler les conclusions suivantes :

- La fraction acétate d'éthyle du *T. aphylla* (66.25%) et de *M. canescens* (68.74%) sont capables d'inhiber la xanthine oxydase avec la même efficacité remarquée par l'allopurinol ($p > 0.05$).
- La fraction acétate d'éthyle du *T. pauciovulata* (83%) est plus active que l'allopurinol ($p < 0.05$). Cette fraction contient des substances antioxydantes potentiellement inhibitrices, agissant directement sur la xanthine oxydase, inhibant ainsi d'une façon très efficace la formation de l'acide urique et les radicaux libres, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène.

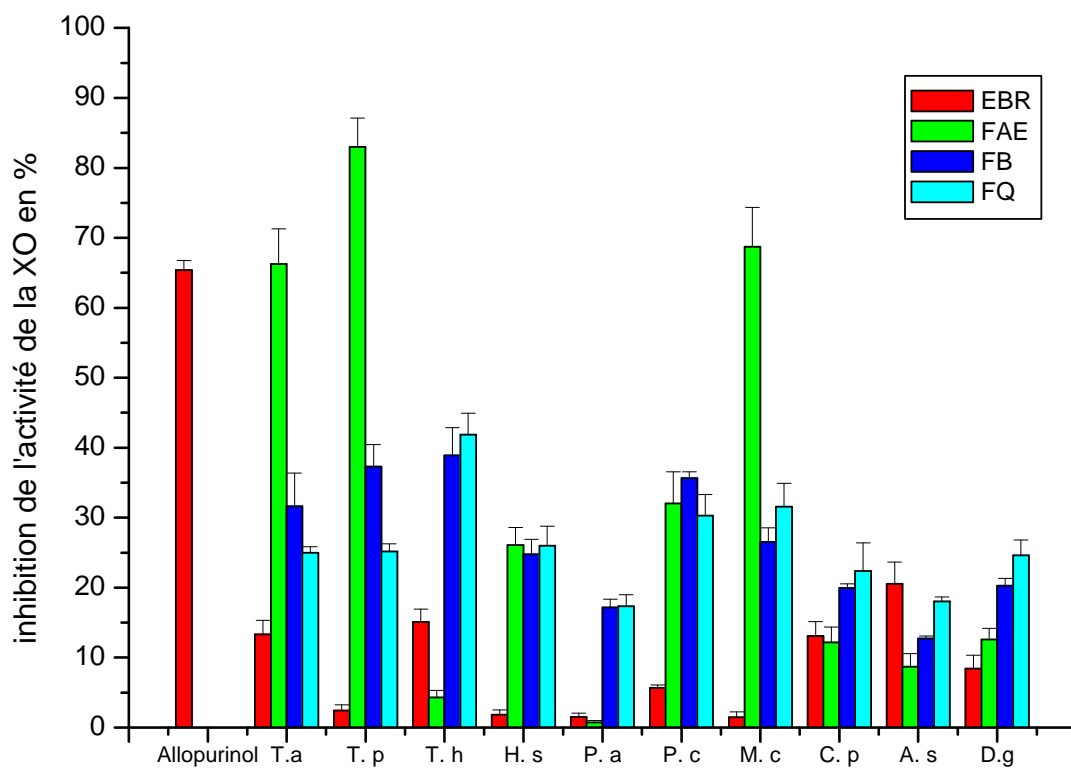


Figure 33: Effet des extraits et fractions sur l'activité de la xanthine oxydase en comparaison avec l'inhibiteur standard Allopurinol (dose test : 100µg/ml)

VI. Discussion

Les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée et l'avènement de la chimie moderne. Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et possédant des vertus médicinales. Les recherches effectuées sur les différents extraits révèlent la présence d'importants métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les glycosides cardiotoniques et les tannins, ainsi des alcaloïdes ont caractérisés les extraits de 5 espèces : *C. procera*, *H. scoparium*, *A. schmittianum*, *T. hirsuta* et *M. canescens*. De point de vue biologique, Ce groupe est constitué de principes potentiellement actifs rencontrés dans toute ou une partie de la plante. Ce sont des précurseurs de drogues très utiles en thérapie clinique.

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux. Un grand nombre d'effets biologiques sont raccordés à ces composés. Beaucoup de travaux ont décrits les propriétés analgésiques, antispasmodiques et antibactériennes des alcaloïdes. Une des propriétés biologiques des alcaloïdes leur toxicité. Ces plantes doivent être traité et manipuler avec prudence. Les composés phénoliques sont connus par de nombreuses propriétés à savoir : anti-apoptotique, anti-âge, anti-carcinogène, anti-inflammatoire, anti-athérosclérotique, protection contre les maladies cardiovasculaires et amélioration de la fonction endothéliale, ainsi que l'inhibition de l'angiogenèse et la prolifération cellulaire. Des propriétés antibactériennes, cardiotoniques sont décrites chez les terpénoïdes. Leur présence signifie que les plantes sont une bonne source en substance antimicrobiennes. Les glycosides sont connus pour abaisser la pression sanguine.

La phytochimie quantitative a révélé des taux notables et variables en polyphénols et flavonoïdes. Dans les extraits bruts, les taux les plus élevés de polyphénols se rencontrent dans l'extrait de *P. argentea* (597.23mg/g) et le *Tamarix*

pauciovulata (401.06 mg/g), les flavonoïdes se concentrent principalement dans les extraits de *M. canescens* (52416.67 µg/g), *P. argentea* (37860.86 µg/g) et le *T. aphylla* (34768.98µg/g). L'Acétate d'éthyle et le butanol sont utilisés pour le fractionnement de la charge en métabolites secondaires, principalement celle de nature phénolique. Les résultats du dosage prouvent que l'essentiel de ces métabolites se sont retrouvés dans les deux fractions organiques avec des proportions différentes d'un échantillon à un autre, cette distribution dépend de la nature des substances phénoliques contenues dans chaque extrait brut, de leur solubilité et la polarité de chaque solvant. La fraction butanolique et acétate d'éthyle de *M. canescens* (535.29mg/g ; 237.50mg/g ; respectivement) et la fraction acétate d'éthyle du *T. pauciovulata* (216.67mg/g) sont les plus riches en polyphénols. En flavonoïdes, c'est également les fractions de *M. canescens* qui ont donné des taux les plus élevés (61622.81 µg/g ; 46153.85 µg/g ; respectivement pour FB et FAE), suivi par la fraction butanolique de *T. hirsuta* (20977.01 µg/g) et du *T. pauciovulata* (14619.88 µg/g). Le groupe des composés phénoliques est l'un des groupes ubiquitaires le plus largement distribués chez les végétaux. Les antioxydants extraits des plantes sont en majeure partie des composés phénoliques dont les flavonoïdes les tannins et les acides phénols.

La plupart des aliments sont sujettes à la biodétérioration par les moisissures et autres champignons durant la transformation après récolte et pendant le transport et le stockage. Les infections fongiques altèrent les caractéristiques chimiques et nutritionnelles des graines et semences et contaminent les denrées alimentaires avec les mycotoxines. Les aflatoxines sont économiquement les plus mycotoxinogènes pour lesquelles leurs toxicités pour l'homme et pour beaucoup d'animaux ont été bien établies. Les résultats obtenus indiquent que la croissance d'*Aspergillus flavus* était affectée par tous les extraits. Cet effet inhibiteur est dose-dépendant et dépend de la substance ou les substances à caractère antifongique présentes dans chaque extrait. Ces substances agissent simultanément ou différemment, empruntent des voies semblables ou différentes, agissent ensemble ou indépendamment sur un ou plusieurs cibles, conduisant à une activité antifongique efficace. Cette activité est remarquablement exercée par l'extrait du *D. gnidium* dont sa toxicité sur la souche filamenteuse *A.*

flavus a conduit à l'inhibition complète (100%) de la prolifération du mycélium. Plusieurs chercheurs attribuent cette fonction aux composés phénoliques. Ces composés peuvent interférer avec les biomembranes en provoquant un dysfonctionnement ou une destruction cellulaire. C'est un mécanisme par lequel la croissance mycélienne peut être réduite ou totalement inhibée. A titre d'exemple, les flavonoïdes sont des substances phénoliques hydroxylées, synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbienne. Ce sont des antimicrobiennes à large spectre *in vitro*. Leur activité est probablement due à leur capacité de complexer les protéines solubles et les protéines extracellulaires. Les tannins exercent leur activité antimicrobienne à travers divers mécanismes comme la destruction des membranes, inhibition des enzymes par adhésion aux protéines, la privation des substrats et la complexation des ions métalliques. Les tannins s'adhèrent aux protéines riches en proline et interfèrent avec la synthèse des protéines. Les alcaloïdes sont dotés d'un pouvoir antimicrobiens. Ils interfèrent avec le processus de réplication de l'ADN et la transcription de l'ARN, qui sont des processus vitaux aux microorganismes. D'autres mécanismes sont l'altération de la stabilité des biomembranes et de la synthèse des protéines et d'importantes enzymes du métabolisme. Les terpènes affectent la perméabilité et les fonctions des membranes. Ces composés traversent facilement les membranes, pénètrent ainsi à l'intérieur et interagissent avec les enzymes et les protéines. Un grand nombre de travaux ont décrit l'activité antifongique des coumarines. Ce pendant, les coumarines sont observés comme des phytoalexines et sont des moyens de défense utilisés par les plantes contre les champignons pathogènes. Les mécanismes de l'action antifongique des coumarines sont très complexes. Il a été démontré que les coumarines induisent des changements morphologiques au niveau de la matrice mitochondriale pour la rendre plus dense. Ces changements dans la structure mitochondriale peuvent provoquer un manque d'énergie intracellulaire, inhibant ainsi la mitose.

Les analyses ont révélé chez le *D. gnidium* des flavonoides : apigénine, lutéoline, quercétine, orientine, isoorientine, lutéoline 7-O-glucoside, apigénine 7-O-glucoside, genkwanine, and 5-O- β -D-primeverosyl genkwanine et des coumarines:

daphnétine, daphnine, acétylumbelliférol, and daphnorétine. *Thymelea hirsuta* contient aussi des coumarines de type Daphnanes mais son pouvoir antifongique est très faible par rapport aux *D. gnidium*. Mascolo et al. (1991) ont révélé des propriétés antimicrobiennes dans les extraits des feuilles de *C. procera*, ce qui justifie son utilisation ethnobotanique dans le traitement des dermatoses avec aussi *H. scoparium* (Mharzi et Zaid, 1995). En plus des alcaloïdes, Lal et al. (1985) ont identifié chez *C. procera* des flavonoïdes dont la rutine et des polyphénols et des saponosides dans *H. scoparium* (Mharzi et Zaid, 1995). Ferheen et al. (2005) ont montré que les alcaloïdes de type pipéridines (Haloxylines) sont potentiellement antifongiques. Ces alcaloïdes se rencontrent dans *H. schmittianum*. Bibi et al. (2010) ont démontré que les triterpènes d'*A. schmittianum* possèdent des activités antimicrobiennes. *H. scoparium* contient des alcaloïdes de type tetrahydroisoquinoline et β -carboline et sont connus comme antimicrobiens. *P. argentea* contient des saponines (oleanane) et des flavonoïdes mais son activité sur la croissance d'*A. flavus* est la plus faible. Ce pendant, sur un grand nombre de champignons filamenteux. Mughal (2008) a prouvé *in vitro* que le *T. aphylla* est doté de pouvoir antifongique sur *A. flavus*. Ces résultats ont été aussi enregistré *in vitro* par Eldesouky et al., (2012) sur les souches d'*A. flavus* et *A. Fumigatus*.

La recherche de composés naturels de source végétale, capables d'inhiber la croissance de champignons et la production des aflatoxines est considérée comme une aire de recherche très attractive dans la prévention de la contamination des cultures et des aliments par les aflatoxines. Toutes les plantes ont démontré une action antiaflatoxinogène. Le *D. gnidium* est le plus puissant et inhibent fortement la production de l'AFB1 (93.499%). L'extrait de cette espèce est le plus actif de tous les extraits, exerce deux actions, inhibe la croissance mycélienne et la production de l'aflatoxine B1. Le *D. gnidium* contient des coumarines et des flavonoïdes et l'activité antifongique et antiaflatoxinogène est décrite dans un certain nombre de travaux de recherche. La plupart des inhibiteurs de la biosynthèse de l'AF agissent à l'un des trois niveaux : modifier l'environnement physiologique ou autre signalisation entrées perçues par le champignon, interférant avec la transduction de signal et expression

réseaux géniques de régulation en amont de la biosynthèse de l'AF, ou de bloquer l'activité enzymatique d'une enzyme biosynthétique. Il est possible que des composés naturels aient le même mécanisme que les composés synthétiques et présentent l'idéal et les candidats possibles pour réduire la contamination de l'AF sans encourir de problèmes écologiques et ou sanitaires. Le *D. gnidium* peut présenter une alternative ou être associé aux antifongiques synthétiques dans le contrôle biologique et la lutte contre les champignons mycotoxinogènes.

Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturelles à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certains nombre de paramètres ; la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule. Le DPPH est un radical libre stable, accepte un électron ou un proton pour donner une molécule diamagnétique stable. Il est très utilisé dans le criblage des activités de piégeage des radicaux libres. Les antioxydants réagissent avec le DPPH pour le convertir en α - α ,diphényl- β -picryl-hydrazine, de couleur jaune. Le degré de décoloration exprime le potentiel de piégeage de l'antioxydant. On considère les terpèneoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes et les tannins comme des substances potentiellement antioxydantes. Ce pendant, la présence de ces substances indique que nos extraits et fractions sont dotés d'une activité antioxydante. Les meilleurs antioxydants naturels sont les fractions butanoliques et/ou acétate d'éthyle non seulement pour ce test mais aussi pour les autres méthodes appliquées dans ce travail. Les piègeurs les plus efficaces du radical libre DPPH sont ceux possédant les valeurs EC50 les plus basses: les fractions butanoliques d'*H. scoparium* (8.78 μ g/ml) et *A. schmittianum* (9.59 μ g/ml) ainsi que sa fractions acétate d'éthyle (10.07 μ g/ml), la fraction acétate d'éthyle du *D. gnidium* (11.59 μ g/ml), la fraction aqueuse d'*A. schmittianum* (11.71 μ g/ml) et la fraction butanolique de *M. canescens* (14.13 μ g/ml). Ce qui marque ces résultats que les espèces à principes alcaloïdes : *A. schmittianum* et *H. scoparium* ont montré un bon pouvoir de neutralisation du radical DPPH.

Le peroxyde d'hydrogène ; cette molécule qui n'est pas vraiment très réactive, peut devenir très toxique pour nos cellules en augmentant le taux de l'espèce oxygénée

potentiellement toxique par sa haute réactivité, le radical hydroxyl. Cette petite molécule est capable d'inactiver directement des enzymes par oxydation des groupements thiols (-SH). *In vitro*, la plupart des échantillons sont très actives contre le peroxyde d'hydrogène dont 3 fractions et 1 extrait brut sont de même efficacité que l'acide ascorbique et 10 fractions au pouvoir supérieur à l'acide ascorbique, dont 6 font partie des fractions acétate d'éthyle, 3 des fractions butanoliques et une fraction aqueuse. Ce sont les fractions avec des valeurs IC50 inférieure, égale ou presque égale à la valeur IC50 de l'acide ascorbique, pris comme référence. Ces fractions très puissantes sont: la fraction acétate d'éthyle (0.2µg/ml) et butanolique (1.51 µg/ml) de *T. pauciovulata*, la fraction aqueuse (1.82 µg/ml) et acétate d'éthyle (1.96 µg/ml) de *T. hirsuta*, la fraction butanolique de *C. procera* (2.68 µg/ml), la fraction acétate d'éthyle du *D. gnidium* (2.70 µg/ml), la fraction butanolique de *T. hirsuta* (2.84 µg/ml), fraction acétate d'éthyle de *P. argentea* (3.01 µg/ml), , les fractions acétate d'éthyle de *M. canescens* (3.09 µg/ml) et *T. aphylla* (3.99 µg/ml), l'extrait brut du *D. gnidium* (3.01 µg/ml) la fraction aqueuse du *D. gnidium* (4.14 µg/ml), la fraction acétate d'éthyle de *C. procera* (5.28 µg/ml) et la fraction butanolique de *P. argentea* (6.44µg/ml). Le plus haut potentiel antioxydant est attribué au *T. pauciovulata*, en particulier à la fraction acétate d'éthyle. Il peut être expliqué par le fait que les substances contenues dans cette fraction réagissent directement et très rapidement avec le peroxyde d'hydrogène. L'activité antioxydante dépend des interactions entre les différents antioxydants. Le *T. pauciovulata* est très riche en composés phénolique, avec une forte teneur en acide syringique et une variété de flavonoïdes connues par leur grande activité antioxydante. Les effets synergiques entre les puissants constituants antioxydants phénoliques vis-à-vis du H₂O₂ de la fraction acétate d'éthyle a fait hausser l'activité antioxydante.

Le pouvoir réducteur sert comme indicateur très significatif du potentiel antioxydant, proposé pour tester l'activité antioxydante dont son objectif la chélation des métaux de transition. Un très bon pouvoir réducteur identique au Trolox observé chez 5 fractions dont 4 butanoliques (*T. hirsuta*, *D. gnidium*, *P. chlorothyrsa*, et *P. argentea*) et une fraction acétate d'éthyle de *T. hirsuta* (65.33%). Par ailleurs, 10

fractions dont 9 organiques ont produit un fort pouvoir réducteur, très supérieur au Trolox, qui pour certains échantillons dépasse 90%. Ce pouvoir est lu comme suite : fraction acétate d'éthyle et butanolique de *M. canescens* (96.23% ; 94.87% ; respectivement), fraction butanolique et acétate d'éthyle d'*H. scoparium* (90.89% ; 90.47% respectivement), fraction acétate d'éthyle et butanolique d'*A. schmittianum* (88.21% ; 81.99% ; respectivement), fraction butanolique du *T. pauciovulata* (79.20%), fraction acétate d'éthyle de *P. argentea* (77.39%), fraction aqueuse d'*A. schmittianum* (75.63%), les fraction butanoliques du *T. aphylla* (72.77%). Toutes ces fractions par leur pouvoir chélateur et particulièrement celle de *M. canescens* et *H. scoparium*, réduisent le potentiel redox et stabilisent les formes oxydées des ions métalliques. Les ions fer sont des pro-oxydants dans les systèmes biologiques et sont considérés aussi comme principaux pro-oxydants dans les aliments. Donc, l'aptitude à réduire le fer (III) en fer (II) par nos extraits s'avère très bénéfique.

Le mécanisme de blanchiment du β -carotène est un phénomène dont le médiateur est un radical libre. En absence d'antioxydant, le β -carotène subit une rapide décoloration. L'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux libres, qui s'attaquent au β -carotène; molécule hautement insaturée. Quand le β -carotène perd ses doubles liaisons par oxydation, le composé oxydé perd son chromophore et sa couleur orange. La présence des antioxydants réduit l'oxydation du β -carotène par les hydroperoxydes.

La dégradation et le blanchissement du β -carotène est ralenti par les antioxydants des extraits, qui neutralisent les radicaux libres formés dans le système. Ce rôle protecteur est d'autant plus puissant avec des fractions acétate d'éthyle, qui protègent efficacement le β -carotène contre l'oxydation. Ces fractions sont celle du *T. aphylla* (96.52%), significativement meilleure au BHA, ensuite vient celle du *T. pauciovulata* (78.75%) et *M. canescens* (67.60%) de pouvoir protecteur identique au BHA, ainsi que la fraction aqueuse d'*A. schmittianum* (60.28%). Il a été décrit que les propriétés réductrices sont généralement associées à la présence de structures réductrices, qui exercent une action antioxydante par rupture de la chaîne radicalaire

en propagation en cédant des atomes d'hydrogènes. On peut dire que nos fractions réagissent bien avec les radicaux libres, particulièrement les radicaux peroxydes, dérivés majeurs dans la propagation de l'auto-oxydation des chaînes lipidiques et sont donc capables de mettre à terme la propagation en chaîne de l'oxydation lipidique dans les systèmes biologiques.

L'acétate d'éthyle est souvent utilisé comme solvant d'extraction avec une sélectivité dans l'extraction des composés phénoliques à faible poids moléculaire. Il est bien évident que les fractions acétate d'éthyle des *Tamarix* possèdent un pouvoir antioxydant et protecteur. Ces fractions sont concentrées en composés phénoliques à faible poids moléculaire constitués d'acides phénols et de simples flavonoïdes. Bonina et al. (1996) ont prouvé que parmi les flavonoïdes testés, la quercétine était la plus efficace contre la peroxydation et que l'effet protecteur de la quercétine est dû aux propriétés de piégeage des radicaux libres. Ajoutant aussi que les catéchines sont capables d'inhiber la formation de produits de peroxydation des lipides et que les esters de gallate EGCG et ECG sont les plus actifs.

L'acide urique est formé à travers des voies d'oxydation. La xanthine oxydase est responsable de la conversion de la xanthine par oxydation en acide urique. Cet enzyme est aussi une source biologique importante d'espèces réactives de l'oxygène comme l'anion superoxyde, qui sont impliquées dans beaucoup de processus pathologiques, le cas des lésions d'ischémie-reperfusion, les inflammations, l'athérosclérose, le cancer et le vieillissement. La xanthine oxydase est la cible privilégiée dans les interventions pharmacologiques dans le cas d'une hyperuricémie ou la goutte. Les extraits possédant l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase font abaisser les taux d'acide urique dans le sérum. Les inhibiteurs de la xanthine oxydase ont été mis en évidence dans beaucoup de plantes utilisées en médecine traditionnelle, reconnues par la population qui les utilise pour leurs effets bénéfiques sur la goutte et le rhumatisme. Nos échantillons ont révélés cette activité et quelque soit le degré de l'activité antioxydante par ce mécanisme, nous pouvons dire que ces plantes renferment des inhibiteurs de la xanthine oxydase.

L'allopurinol est un potentiel inhibiteur de la xanthine oxydase, largement prescrit dans le traitement de l'hyperuricémie et la goutte. Il est utilisé dans notre étude comme contrôle positif. Parmi 40 échantillons testés, trois fractions acétate d'éthyle ont prouvé un potentiel inhibiteur à l'égard de la xanthine oxydase. Ce potentiel très impressionnant *in vitro*, dépasse l'action inhibitrice exercée par l'Allopurinol. Ces fractions sont par ordre de leur pouvoir inhibiteur : *T. pauciovulata* (83%), *M. canescens* (68%) et *T. aphylla* (66.25%).

Il est connu que les flavonoïdes sont des inhibiteurs des enzymes et la plus affecté est la xanthine oxydase. Les *Tamarix* sont riches en polyphénols et renferment une variété de flavonoïdes. Il est possible que cette activité particulière soit en relation directe avec la qualité des flavonoïdes dans ces espèces. La quercétine est un inhibiteur très actif sur la xanthine oxydase. Les capacités inhibitrices de cette molécule ont été prouvées et confirmées. La quercétine est le flavonol majoritaire, isolé et identifié dans les feuilles du *T. pauciovulata*. Ce composé est aussi identifié dans le *T. aphylla*. Chang et al. (1993) ont testé la quercétine et on mit en évidence une activité inhibitrice potentielle à celle de l'Allopurinol. Des études ont aussi indiqué que les flavonoïdes aglycones autre que la quercétine, comme le Kaempférol ont de très grande capacité antioxydante que leurs glycosides comme la quercétine-3-glucoside. Ces flavonoïdes caractérisent également le *T. pauciovulata*. Il a été signalé que la capacité des flavonoïdes à complexer les protéines et les métaux peut être à l'origine de l'inhibition des enzymes. Sadik et al. (2003) ont étudié l'effet de la quercétine sur la lipooxygénase et ont constaté que le mécanisme d'inhibition serait due à une inhibition irréversible résultant de la liaison covalente entre l'enzyme et les dérivés oxydés de la quercétine. D'autre part, Aucamp et al. (1997) ont montré que les catéchines sont dotés d'activité inhibitrice de la xanthine oxydase dont le potentiel était dans l'ordre EGCG>EGC>EC>CA, alors que la CA est dotée d'un mécanisme inhibiteur uncompetitive, par contre il est compétitive chez l'EGCG. Par ailleurs, EGC et EC ont des mécanismes mixtes.

Conclusion

La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux. Notre pays est doté d'une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constitué par des espèces médicinales. Ce document a porté dans un premier temps à l'identification des groupes phytochimiques, qui caractérisent l'extrait de la partie végétale de chaque plante parmi les dix plantes appartenant à des biotopes et familles botaniques différentes. Dans un deuxième temps, la recherche d'activité biologique et les potentialités que peuvent avoir ces extraits *in vitro* à savoir les capacités antifongique, antiaflatoxinogène et antioxydantes.

Sur le plan phytochimique, les résultats montrent une composition riche et variée en métabolites secondaires, où les flavonoïdes, les tannins et les glycosides cardiotoniques ont caractérisé tous les extraits bruts, alors que les alcaloïdes particularisent les espèces de *T. hirsuta*, *H. scoparium*, *M. canescens*, *C. procera* et *A. schmittianum*.

Les résultats de cette présente étude montrent clairement que les substances naturelles sont capables d'inhiber la croissance fongique. Cette inhibition est rangé entre 28.89% et 100%. Les substances bioactives contenues dans l'extrait méthanolique du *D. gnidium* provoquent l'inhibition totale de la souche aflatoxinogène *Aspergillus flavus*. De plus les potentialités des extraits ne se limitent pas à une action antifongique mais vont jusqu'à une action antiaflatoxinogène dont le *D. gnidium* reste le plus puissant. Effectivement la production de l'AFB1 observée dans le milieu SMKY, empoisonné par 10µg/ml de l'extrait méthanolique de cette plante pendant 10 jours d'incubation à aboutie à un maximum de réduction de l'aflatoxine B1 de 93.50%. Les substances naturelles du *D. gnidium* sont susceptibles de réduire significativement la population fongique d'*A. flavus* dans le sol et donc de limiter la contamination des grains, des semences et des cultures et de prévenir la production des aflatoxines et peuvent être aussi le moyen de lutte non seulement dans les champs mais après récolte et au moment de la conservation des produits végétaux. Ces substances peuvent

constituer une alternative aux substances chimiques nocives pour l'environnement et la santé dans le bio-contrôle de la flore fongique et mycotoxique.

Les potentialités antioxydants de différents extraits méthanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle, butanolique et aqueuse sont évaluées par divers mécanismes ; piégeage directe des radicaux libres par la méthode du radical libre DPPH, piégeage du dérivé oxygéné le peroxyde d'hydrogène, le pouvoir réducteur, le pouvoir protecteur du β -carotène contre l'oxydation par les produits de peroxydation lipidique et l'inhibition des systèmes enzymatiques impliquées dans la production des radicaux dont la xanthine oxydase comme enzyme de référence. Les résultats *in vitro* ont révélé des activités antioxydantes par l'ensemble des extraits bruts et fractions et particulièrement les fractions organiques. Un fort pouvoir de piégeage du DPPH similaire à l'acide ascorbique exercé par toutes les fractions d'*A. schmittianum*, les fractions butanoliques d'*H. scoparium* et *M. canescens* et la fraction acétate d'éthyle du *D. gnidium*. La valeur EC50 La plus basse est lue avec *H. scoparium* (8.78 μ g/ml).

Par ailleurs un grand nombre de fractions ont manifesté un pouvoir antioxydant élevé vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène dont la fraction acétate d'éthyle du *T. pauciovulata*, qui est la plus efficace. Cette fraction arrive à neutraliser 50% des molécules H₂O₂ à la dose de 0.20 μ g/ml et elle est statistiquement similaire à l'acide ascorbique. Beaucoup de fractions ont démontré un pouvoir réducteur important, constaté essentiellement avec les fractions organiques des espèces *H. scoparium*, *A. schmittianum*, *M. canescens* et les *Tamarix*. La fraction acétate d'éthyle de *M. canescens* à manifesté un pouvoir réducteur maximale de 96.23% à la dose test de 100 μ g/ml significativement supérieur au Trolox (66. 12%).

Cependant le blanchiment du β -carotène après 140min d'incubation avec l'acide linoléique à été inhibé efficacement par l'ajout de 100 μ g/ml de la fraction acétate d'éthyle du *T. aphylla*. Cette fraction à exercé un rôle protecteur de 96.52%, significativement différent et plus élevé que l'antioxydant de synthèse ; le BHA (71.78%). D'autres fractions ont aussi donné de très bon pouvoir réducteur. Il s'agit des fractions acétate d'éthyle de *M. canescens* et du *T. pauciovulata*. Cette dernière fraction à prouvé des activités inhibitrices très puissante sur l'enzyme la xanthine

oxydase, de l'ordre de 83%. L'effet inhibiteur de la fraction acétate d'éthyle du *T. pauciovulata* est beaucoup plus meilleur que l'allopurinol (65.30%). Les analyses par HPLC-UV ont révélé que les substances bioactives contenues dans les feuilles de cette espèce sont en majorité des composés phénoliques ; de l'acide syringique, des flavonols dont la quercétine et des catéchines.

Les capacités antioxydantes révélées *in vitro* sont en relation directe avec le contenu en métabolites secondaires de chaque extrait et fraction et dépendent de l'ensemble des substances antioxydantes, de leur nature, leur quantité, leur structure et de toutes les interactions moléculaires qui peuvent agir de façon synergique pour faire hausser cette activité. Cette étude suggère que non seulement les composés phénoliques sont les substances antioxydantes par excellence mais d'autres substances non phénoliques pouvant être des antioxydants plus efficaces et plus puissants et que les espèces les plus riches en polyphénols ne sont pas pour autant de bons antioxydants.

En fin, les antioxydants naturelles des espèces végétales locales et particulièrement ceux provenant des *Tamarix*, *H. scoparium*, *A. schmittianum* et *M. canescens* peuvent être très utiles pour renforcer l'organisme dans le cas de situation de stress oxydatif et de prévenir les différentes pathologies survenues suite à une attaque radicalaire. Par ailleurs, Il serait nécessaire : (1) d'isoler et de caractériser la ou les molécules potentiellement antioxydantes des fractions les plus actives et (2) de déterminer la toxicité et de préciser les doses LD50 sur des modèles animaux.

Références Bibliographiques

- Abdelwahab S.I., Mohan S., Elhassan M.M., Al-Mekhlafi N., Mariod A. A., Abdul A. B., Abdulla M. A., Alkharfy K.M. Antiapoptotic and Antioxidant Properties of *Orthosiphon stamineus* Benth (Cat's Whiskers): Intervention in the Bcl-2-Mediated Apoptotic Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011, 11 pages
- Abd Rabou A.F.N, Yassin M.M, Al-Agha M.R, Madi M.I, Al-Wadi M.M., Ali A.K.S., Hamad D.M. Notes on some common flora and its use in Wadi Gaza. *The Islamic University Journal* 2008, **16**, 31-63.
- Adarsh P.V., Geetanjali R., Tarunpreet Singh T., Saroj A. *Bio-protective effects of glucosinolates - A review. Food science and technology* 2009, **42**, 1561-1572.
- Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A.. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme* 2007, **74**, 636–643.
- Ali-Shtayeh M.S., Jamous R.M. Traditional Arabic Palestinian Herbal Medicine. Biodiversity and Environmental Research center (BERC), Palestine, 2008.
- Ali-Shtayeh M.S., Jamous R.M., Al-Shafie J.H., Elgharabah W.A., Kherfan F.A., Qarariah K.H., Khdair I.S., Soos I.M., Musleh A.A., Isa B.A., Herzallah H.M., Khlaif R.B., Aiash S.M., Swaiti G.M., Abuzahra M.A., Haj-Ali M.M., Safi N.A., Azem H.K., Nasrallah H.A. Traditional Knowledge of wild edaible plants used in Palestine (Northern West Bank): A comparative study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2008, **4**, 1-13.
- Al-Turki T.A., Al-Olayan H.A. Contribution to the flora of Saudi Arabia: Hail Region. *Saudi J Biol Sci* 2003, **10**(2), 190-222.
- Al-Yahya M.A., Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of Saudi Arabia. *Fitoterapia* 1986, **57**(3), 179-182.
- Amer W.M. General view about diversity and conservation of flora of Egypt. *Assute Journal for Ecological studies* 2002, **22**, 83-45.
- Antherden L.M. Textbook of Pharmaceutical Chemistry, 8th edn. Oxford University Press, London, 1969.
- Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 2002, **127**, 183-198.

- Arif T., Bhosale J.D., Kumar N., Mandal T.K., Bendre R.S. Natural products--antifungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res* 2009, **11**(7), 621-38.
- Aruoma O.I. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1994, **32**, 671-683.
- Atik Bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab S.A., Boti J.B., Casanova J. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie et Santé* 2007, **7**(1), 6-11.
- Aucamp J., Gaspar A., Hara Y., Apostolides Z. Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (*Camellia sinensis*). *Anticancer Res* 1997, **17**, 4381-4385.
- Auguste P., Drapiez J. *Dictionnaire classique des sciences naturelles*, tome 3, 1838. p. 379
- Baba L., McGrath I.M. Oxygen free radicals: effects in the newborn period. *Adv Neonatal Care* 2008, **8**, 256-264.
- Babior B.M. NADPH oxidase: an update. *Blood* 1999, **93**, 1464-1476.
- Badami S., et al. In vitro activity of various extracts of *Aristolochia bracteolata* leaves. *Oriental Pharmacy and Exp Med* 2005, **5**, 316-321.
- Badami S. In vitro antioxidant activity of *Argyrea cymosa* bark extracts. *Fitoterapia* 2008, **79**(4), 287-289.
- Baeza A., Marano F. Pollution atmosphérique et maladies respiratoires : Un rôle central pour le stress oxydant. *Médecine Sciences* 2007, **23** (5), 497-507
- Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 2005, **120**, 483-95.
- Bartosz G. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* 2003, **9**, 5-21.
- Basdevant A., Laville M., Lerebours E. *Traité de nutrition clinique de l'adulte. Médecine-Sciences*. Flammarion, Paris, 2001.
- Basu A., Sen T., Ray R.N., Chaudhuri A.K.N. Hepatoprotective effects of *Calotropis procera* root extract on experimental liver damage in animals. *Fitoterapia* 1992, **63**, 507-514.
- Beecher G.R., Khachik F. *Qualitative Relationship of Dietary and Plasma Carotenoids in Human Beings. Beyond Deficiency: New Views on the Function and Health Effects of Vitamins*. Academy of Sciences, New York, 1992.

- Béliveau R., Gingras D. Les aliments contre le cancer. Édition du Trécarré, Outremont, 2005.
- Bellakhdar J. La pharmacopée marocaine traditionnelle; Médecine arabe ancienne et savoir populaire. Ibis press, Saint Etienne, 1997
- Benkrief R., Brum-Bousquet M., Tillequin F., Koch M. (1990), Alkaloids and a flavonoid from aerial parts of *Hammada articulata* ssp. *scoparia*. *Ann Pharm* 1994, **48**, 219-224.
- Bennet R.C., Wallsgrove R.M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms, Tansley Review. *New Phytol* 1994, **127**(72), 617–633.
- Bennett J.W., Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003, **16**(3), 497-516.
- Ben Salah H., Jarraya R., Martin M.T., Veitch N.C., Grayer R., Simmonds M.S.J., Damak M.
Flavonol Triglycosides from the Leaves of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin. *Chem. Pharm. Bull* 2002, **50**(9), 1268-1270.
- Benzie Iris F.F. Evolution of dietary antioxidants. Part A. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003, **136**, 113–126.
- Berry C.E., Hare J.M. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J Physiol* 2004, **555**, 589-606.
- Bhat S.V., Nagasampagi B.A., Sivakumar M. Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi, 2005.
- Bibi N., Tanoli S.A.K., Farheen S., Afza N., Siddiqi S., Ying Z., Kazmi S.U., Malik A. In vitro antituberculosis activities of the constituents isolated from *Haloxylon salicornicum*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2010, **20**(14), 4173-4176.
- Bindoli A., Valente M., Cavallini L. Inhibitory action of quercetin on xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity. *Pharmacol Res Commun* 1985, **17**, 831-39.
- Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958, **181**(4617), 1199-1200.
- Blumberg J. Nutritional Needs of Seniors. *Journal of the American College of Nutrition* 1997, **16**(6), 517-523.
- Bonina F., Lanza M., Montenegro L., Puglisi C., Tomaino A., Trombetta D., Castelli F., Saija A. Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *International Journal of Pharmaceutics* 1996, **145**(1-2), 87-94.
- Bossokpi I.P.L. Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes* Lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako (Mali), 2002.

- Bouanani S., Henchiri C., Migianu-Griffoni E., Aouf N., Lecouvey M. Pharmacological and toxicological effects of *Paronychia argentea* in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2010, **129**(1), 38-45.
- Bourogaa E., Mezghani Jarraya R., Nciri R., Damak M., Elfeki A. Protective effects of aqueous extract of *Hammada scoparia* against hepatotoxicity induced by ethanol in the rat. *Toxicol Ind Health* 2012. **32**(9): 739-49.
- Bousliman Y., Eljaoudi R., Ait Elcadi M., Laatiris A., Bouklouze A., Cherrah Y. Toxicologie de la paraphénylène diamine. *Espérance Médicale* 2011, **183**, 632-636.
- Boveris A., Alvarez S., Navarro A. The role of mitochondrial nitric oxide synthase in inflammation and septic shock. *Free Radic Biol Med* 2002, **33**(9), 1186-1193.
- Braca A., Bader A., Siciliano T., De Tommasi N. Secondary metabolites from *Paronychia argentea*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 2008, **46**(1), 88-93.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol* 1995, **28**(1), 25-30.
- Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998, **56**, 317– 33
- Brooker N.L., Y. Kuzimichev J. Laas, Pavlis L. Evaluation of coumarin derivatives as anti-fungal agents soil-borne fungal pathogens. *Commun Agric Applied Biol Sci* 2007, **72**, 785-793.
- Bruneton J. Pharmacognosie: phytochimie et plantes médicinales, 3e édition. Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1999.
- Bruneton J. Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 3e édition. Ed Tec et Doc Lavoisier, Paris, 2005.
- Buchanan R.L., Lewis D.F. Caffeine inhibition of aflatoxin synthesis-probable site of action. *Appl Environ Microbiol* 1984, **47**, 1216-1220.
- Burda S., Oleszek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001, **49**, 2774-2779.
- Butterfield D., Lauderback C. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide associated free radical oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002, **32**, 1050-1060.
- Cabalion P. Les substances naturelles végétales, leur intérêt biologique, leurs perspectives d'application. Bull.Soc.Industr.Mulhouse, Colloque Recherche et Environnement n° 4, 1990, 819 : 65-69

- Cahagnier B., Dragaci S., Frayssinet C., Frémy J.M., Hennebert G.L., Lesage -meessen L., Multon J.L., Richard-Molard D., Roquebert M.F. Moisissures des aliments peu hydratés. Tec & Doc Lavoisier, France, 1998.
- CANM (Communiqué de l'Académie Nationale de Médecine). 6 décembre 2006.
- Carney I.M., Camey A.M. Role of protein oxidation in aging and in age-associated neurodegenerative diseases. *Life Sei* 1994, **55**, 2097-2103.
- Carr A.C., Zhu B.Z., Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res* 2000, **7**(5), 349-354.
- Cavin A. Investigations phytochimiques des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. *Tinospora crisp (Menispermaceae), Merremia emarginata (Convolvulaceae) et Orophea enneandra (Annonaceae)*. Thèse doctorat, Lausanne (Suisse), 1999.
- Chang W.S., Lee Y.J., Lu F.J., Chiang H.C. Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. *Anticancer Res* 1993, **13**, 2165-2170.
- Chaudhri M. *Paronychia chlorothyrsa* Murbeck subsp. *chlorothyrsa* (Caryophyllaceae) in the Iberian Peninsula. *Anales del Jardin Botánico de Madrid* 1988, **45**(1), 361.
- Chebil L. Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle Thèse *Procédés Biotechnologiques et Alimentaires*, Lorraine (France), 2006.
- Chen K., Suh J., Carr A.C., Morrow J.D., Zeind J., Frei B. Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000, **279** (6), 1406-1412.
- Chevion M., Berenshtein E., Stadtman E.R. Human studies related to protein oxidation: prote in carbonyl content as a marker of damage. *Free Radie Res* 2000, **33** (Suppl), S99-108.
- Chu F.S. Mode of action of mycotoxins and related compounds. *Adv Applied Microbiology* 1977, **22**, 83-89.
- Clarkson P.M., Thompson S.H. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000, **72**(2), 637S-646S.
- Cole R.J., Cox R.H. Handbook of Toxic Fungal Metabolites. Academic Press, New York, 1981.
- Cordell G.A. Studies in the Thymelaeaceae. NMR spectral assignments of daphnoretin. *J Nat Prod* 1984, **47**, 84-88

- Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J., Vanden Berghe D. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 1998, **61**, 71-76.
- Cottiglia F., Loy G., Garau D., Floris C., Caus M., Pompei R., Bonsignore L. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine* 2001, **8**, 302-305
- Cowan M. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* 1999, **12**(4), 564-582.
- Creppy E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* 2002, **127**, 19-28.
- Cristani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with modal membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, **55**, 6300-6308.
- Czech M.P, Lawrence J.C.J.R., Lynn W.S. Evidence for the involvement of sulfhydryl oxidation in the regulation of fat cell hexose transport by insulin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974, **71**(10), 4173-4177.
- D'Mello J.P.F., Macdonald A.M.C. Mycotoxins. *Animal Feed ScienceTechnology* 1997, **69**, 155-166.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Colombo R., Giustarini D., Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006, **52**, 601-623.
- Deiana M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F., Bonsignore L., Dessi M.A. Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Daphne gnidium* L. *JAACS* 2003, **80**, 65-70
- Delattre J., Thérond P., Bonnefont-Rousselot D. Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier, 2005: 281-309.
- Denelle N., Puech S. Etude caryosystematique de *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. (Thymelaeaceae) dans deux stations du littoral mediterraneen français (Camargue et Alberes). *Taxon* 1985, **34**(4), 611-616.
- Denning D.W. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998, **26**, 781-805.

- Denning D.W., Follansbee S., Scolaro M., Norris S., Edelstein D., Stevens D.A. Pulmonary aspergillosis in AIDS. *N Engl J Med* 1991, **324**, 654-662.
- Denning D.W., Riniotis K., Dobrashian R., Sambatakou H. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: Case series, proposed nomenclature and review. *Clin Infect Dis* 2003, **37**(Suppl 3), 265-280.
- Descamps E., Gelé P., Bordet R., Vamecq J. Modulation pharmacologique du stress oxydatif. (Pharmacological control of oxidative stress). *La lettre du pharmacologue* 2006, **20**(4), 107-118.
- Dewick P.M. *The Biosynthesis of Shikimate Metabolites. Natural Product Reports* 1995, **12**, 579-607,
- Dewick, P.M. Medicinal natural products. A biosynthetic approach, 2nd Edition. John Wiley and sons, LTD, England, 2001.
- Dhulipala V.C., Maddali K.K., Welshons W.V., Reddy C.S., Secalonic acid D blocks embryonic palatal mesenchymal cell-cycle by altering the activity of CDK2 and the expression of p21 and cyclin E. *Developmental and Reproductive Toxicology* 2005, **74**(3), 233–242.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 1999, **65**(4), 337-53.
- Diener U.L., Davis N.D. Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. In: Goldblatt LA, ed. Aflatoxin. New York and London: Academic Press, 1969: 13-54.
- Dieye A.M., Tidjani M.A., Diouf A., Bassene E., Faye B. Senegalese pharmacopoeia: study of acute toxicity and antitussive activity of *Calotropis procera* (Ait). *Dakar medicine* 1993, **38**(1), 69-72.
- Dipont M. Effects of sparteine on uterus contractility during labor. *Ginekol Pol* 1971, **42**(5), 657-663.
- Dixon R.A., Paiva N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 1995, **7**, 1085-1097.
- Dobashi K., Ghosh B, Orak J.K, Singh I., Singh A.K. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000, **205**(1-2), 1-11.
- Eaton D.L., Gallagher E.P. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1994, **34**, 135-172.
- Eaton D.L., Groopman J.D. The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary and Agricultural Significance. Academic Press, New York, 1994.

- Edris A.E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother Res* 2007, **21**, 308-323.
- Ekoumou C. Etudes phytochimiques et pharmacologiques de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse pharmacie, Bamako (Mali), 2003.
- El-Amrani F., Rhallab A., Alaoui T., El Badaoui K., Chakir S. Hypoglycaemi effect of *T. hirsute* in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *J Med Plants Res* 2009, **3**(9), 625-629.
- El Ansari M.D.A., Nawwar M.A.M., El Sherbeiny A.A., El Stssr H. A sulphated kaempferol 7,4'-dimethyl ether and a quercetin isoferulylglucuronide from the flowers of *Tamarix aphylla*. *Phytochemistry* 1976, **5**, 231-232.
- El Kalamouni C. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Doctorat Sciences des Agroressources, Toulouse (France), 2010.
- Elkhair E.A., Fadda H., Abu Mohsen U. Antibacterial Activity and Phytochemical Annalysis of Some Medicinal Plants from Gaza Strip- Palestine. *Journal of Al Azhar University-Gaza* 2010, **12**, 45-54.
- Eldesouky M.Z., Awaad A.S., Al-Outhman R.M. El-Meligy R.M. Antimicrobial activities of Saudi Arabian desert plants. *Phytopharmacology* 2012, **2**(1), 106-113
- El-Shazli A.M., Dora G., Wink M. Alkaloids of *Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss. (Chenopodiaceae). *Pharmazie* 2005, **60**(12), 949-52.
- Epand R., Savage P.B., Epand R.M. Bacterial lipid composition and antimicrobial efficacy of cationic steroid coppounds (Ceragenins). *Biochim et Biophys Acta* 2007, **1768**(10), 2500-2509.
- ESCODD (European Standards Committee on Oxidative DNA Damage). Comparison of different methods of measuring 8- oxoguanine as a marker of oxidative damage. *Free Radical Res* 2000, **32**(4), 333-341.
- Esterbauer H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1992, **2**, 55-57.
- Farnsworth R.N. Review on Biological and phytochemical screening of plants. *J. pharm Sci* 1966, **55**(3), 225-276.

- Favier A. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 2003, N°269-270, 108-115.
- Fenton H.J.H. The oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J Chem Soc Proc* 1894, **10**, 157-158.
- Ferheen S., Ahmed E., Afza N., Malik A., Shah M. R., Nawaz S.A., Iqbal C.M.. Haloxylines A and B, antifungal and cholinesterase inhibiting piperidine alkaloids from *Haloxylon salicornicum*. *Chemical pharmaceutical bulletin* 2005, **53**(5), 570-572.
- Frankel E.N. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric* 1991, **54**, 495-511.
- Freeman B.A., Crapo J.D. Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. *J Biol Chem* 1981, **256**, 10986-10992.
- Freeman B.A., Young S.L., Crapo J.D. Liposome-mediated augmentation of superoxide dismutase in endothelial cells prevents oxygen injury. *J Biol Chem* 1983, **258**, 12534-12542.
- García-Granados A., Sáenz de Buruaga J M. The ¹³C NMR spectrum of 5- O-β-D-primeverosyl genkwanine. *Organic Magnetic Resonance* 1980, **13**(6), 462–463.
- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *l'actualité chimique* 2003, **269-270**, 91-96
- Gardner P. Superoxide-driven a conitase FE-S center cycling. *Bioscience Rep* 1997, **17**, 33-42.
- Garg, K.W., Sharma, S., Bala S. Experimental studies of sparteine sulphate on strips of human uterus. *Jpn J Pharmacol*, 1973, 23(2), 195-200.
- Gaziano J.M., Hennekens C.H. Antioxydant vitamins in the prevention of coronary artery disease. *Cont Int Med* 1995, **7**, 9-14.
- Goldblatt L.A. Aflatoxin-Scientific Background, Control and Implications, Academic Press, New York, 1969.
- Gonçalves E., Felicio J.D., Pinto M.M. Biflavonoids inhibit the production of aflatoxin by *Aspergillus flavus*. *Braz J Med Biol Res* 2001, **34**, 1453-1456.
- Gordon M.H. The mechanism of the antioxidant action in vitro: Food Antioxidants. B.J.F. Hudson Elsevier, London, 1990.

- Greene-McDowelle D.M., Ingber B., Wright M.S., Zeringue H.J., Bhatnagar D., Cleveland T. E. The effects of selected cotton-leaf volatiles on growth, development and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Toxicon* 1999, **37**, 883-893.
- GRIPT (Groupe de recherche et d'information sur la pharmacopée et l'environnement Tropical). Association Loi 1901. Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines, Volume 15. 2001.
- Guignard J.L. Biochimie végétale. 2e édition. Ed Dunod, Paris, 2000.
- Gunasekera R.S., Sewgobind K., Desai S., Dunn L., Homer S.B., Mckeehan W.L., Patil B. Lycopene and Lutein Inhibit Proliferation in Rat Prostate Carcinoma Cells. *Nutr Cancer* 2007, **58**(2), 171-177.
- Gupta N., Agarwal M., Bhatia V., Jha S.K., Dinesh J. In vitro antioxidant activity of crude extracts of the plant *Glycosmis pentaphylla Correa*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 2011, **6**(2), 159-162.
- Gutteridge J.M., Halliwell B. Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine. *Free Radic Biol Med* 1992, **12**, 93-95.
- Haddock E.A., Gupta R.K, Al-Shafi S.M.K., Layden K., Haslam E., Magnolato D. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants: biogenetic and molecular taxonomic considerations. *Phytochem* 1982, **21**, 1049-1062.
- Hahlbrock K., Sheel D. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1989, **40**, 347-369.
- Halliwell B. Antioxydant characterisation. *Methodology and mechanism* 1995, **49**, 1341-1348.
- Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993, **23**(Suppl 1), 118-126.
- Han X., Shen T., Lou H. Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci* 2007, **8**(9), 950-988
- Harborne J.B. Phytochemical method. Chapman and Hall, Ltd, London, 1973
- Harborne J.B. The flavonoids: recent advances. In: Goodwin TW, ed. Plant Pigments. London: Academic Press, 1988: 299-343.
- Hasan H.A.H., Abdel Mallek A.Y. Inhibitory effects of aqueous leaf extract(s) of some plant on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Dirasat (Series B), Pure and Applied Sciences* 1994, **21**(3): 215-219.

- Heffetz D., Rutter W.J., Zick Y. The insulinomimetic agents H₂O₂ and vanadate stimulate tyrosine phosphorylation of potential target proteins for the insulin receptor kinase in intact cells. *Biochem J* 1992, **288** (pt 2), 631-635.
- Heinrich G., Schultze W., Pfab I., Boettger M. The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*. *Physiologie Vegetale* 1983, **21**, 257-268.
- Helmersson J., Vessby B., Larsson A., Basu S. Association of type 2 diabetes with cyclooxygenase-mediated inflammation and oxidative stress in an elderly population. *Circulation* 2004, **109**(14), 1729-1734.
- Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 2004, **1**, 3-6.
- Herrera E., Barbas C. Vitamin E: action , metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 2001, **57**, 43-56.
- Herrmann K., Flavonols and flavones in food plants: a review. *J Food Technol* 1976, **11**, 433-448.
- Hesse, M. Alkaloids – Nature’s Curse or Blessing ?, VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland and WILEY-VCH, Weinheim, Germany, 2002.
- Hollman P.C.H., Katan M.B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol* 1999, **37**, 937–942.
- Holmes R.A., Boston R.S., Gary A. Diverse inhibitors of aflatoxin biosynthesis. *Payneppl Microbiol Biotechnol* 2008, **78**, 559-572.
- Holzenberger M., Dupont J., Ducos B., Leneuve P., Geloën A., Even P.C., Cervera P., Le Bouc Y. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 2003, **421**(6919), 182-187.
- Huang D., Ou B., Prior R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, **53**, 1841-1856.
- Huang D., Ou B., Prior R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, **53**, 1841-1856.
- Hussein H.I., Kamal A., Abou Zeid M., El Sebae A.K.H., Saleh M.A. Usharin the most potent molluscicidal compound tested against land Snail. *Journal of Chemical Ecology* 1994, **20**(1), 135-140.
- IARC. Overall evaluations of carcinogenicity to humans. IARC monographs 1999, 1-36.

- Jacob S., Cheila M.K. A note on the protection of stored rice from the lesser grain borer *Rizopertha dominica* Fabr. by indigenous plant products. *Indian journal of entomology* 1993, **55**(3), 337-339.
- Jain S.C., Sharma R., Jain R., Sharma R.A. Antimicrobial activity of *Calotropis procera*. *Fitoterapia* 1996, **67**(3): 275-277.
- Jarvis B.B., Miller J.D. Mycotoxins as harmful indoor air contaminants. *Appl Microbiol Biotechnol* 2005, **66**(4), 367-372.
- Jayaprakasha G.K., Singh R.P. Sakariah K.K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chem* 2001, **73**, 285-290.
- Julve P. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version 23, 2004.
- Kamata H., Hirata H. Redox regulation of cellular signalling. *Cell Signal* 1999, **11**, 1-14.
- Kawano M., Matsuyama K., Miyamae Y., Shinmoto Y., Kchouk M.E., Morio T., Shigemori H., Isoda H. Antimelanogenesis effect of Tunisian herb *Thymelaea hirsuta* extract on B16 murine melanoma cells. *Exp Dermatol* 2007, **16**(12), 977-84.
- Kerharo J., Adam J.G. la Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle : plantes médicinales et toxiques. Edition Vigot Frères, Paris, 1974.
- Khalil A. Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin E against atherosclerosis. *Can J Physiol Pharmacol*, 2002, **80**(7), 662-669.
- Kim J.H., Campbell B.C., Mahoney N., Chan K.L., Molyneux R.J. Chemosensitization of aflatoxigenic fungi to antimycin A and strobilurin using salicylaldehyde, a volatile natural compound targeting cellular antioxidant system. *Mycopathologia* 2010, **171**(4):291-298.
- Kirkwood T.B. Understanding the odd science of aging. *Cell* 2005, **120**, 437-47.
- Kitagawa S., Fujisawa H., Sakurai H. Scavenging effect of dihydric and polyhydric phenols on superoxide anion radicals, studied by electron spin resonance spectrometry. *Chem Pharm Bull* 1992, **40**(2), 304-307.
- Koechlin-Ramonatxo C. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme* 2006, **20**, 165-177.
- Koike S., Subbarao K.V. Broccoli residues can control *Verticillium* wilt of cauliflower. *California Agriculture* 2000, **54**(3), 30-33.

- Kong L.D., Yang C., Ge F., Wang H.D, Guo Y.S. A Chinese herbal medicine Ermiao wan reduces serum uric acid level and inhibits liver xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase in mice. *J Ethnopharmacol* 2004, **93**, 325-330.
- Kopidlowasa E., Dobrzynska K., Parys E., Zobel A.M. Effect of coumarin and xanthotoxin on mitochondrial structure, oxygen uptake and succinate dehydrogenase activity in onion root cells. *J Chem Ecol* 1994, **20**, 2471-2480.
- Krause K.H. Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. *Jpn J Infect Dis* 2004, **57**, 28-29.
- Kuhnau S. The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 1976, **24**, 117–191.
- Kupeli, E. ; Kosar, M. ; Yesilada, E. ; Husnu, K. ; Baser, C. A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of isoquinoline alkaloids from the roots of *Turkish berberis* species. *Life Sci* 2002, **72**, 645-657.
- Kwada A. D., Tella I.O. Determination of infochemicals and the phytochemical screening of the foliage and stem-bark of *Senna siamea* (lam.) in Yola, Adamawa State. *Journal of Medicinal Plants Research* 2009, **3**(9), 630-634.
- Lamaison J.L.C., Carnet A. Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et *Crataegus laevigata* (Poiret D.C) en fonction de la végétation. *Pharm Acta Helv* 1990, **65**, 315-320.
- Landrum J.T, Bone R.A., Joa H., Kilbum M.D., Moore L.L., Sprague K.E. A One Year Study of the Macular Pigment: The Effect of 140 Days of a Lutein Supplement. *Exp Eye Res* 1997, **65**, 57-62.
- Lane N. Oxygen, the molecule that made the world. Oxford University Press, New York, 2003.
- Larhsini M., Bousaid M., Lazrk H.B., Jana M., Amarouch H. 1997. Evaluation of anti-fungal and molluscicidal properties of extracts of *Calotropis procera*. *Fitoterapia* **68**(4), 371-373.
- Lawrence J.C. , J.R.,Larner J. Activation of glycogen synthase in rat adipocytes by insulin and glucose involves increased glucose transport and phosphorylation. *J Biol Chem.* 1978. **253**, 2104-13.
- Lecerf JM. Nutrition, anti-oxydants et athérosclérose. *Rev Franç Endocrinol Clin* 1997, **38**(2), 119-141.

- Lefer A.M., Lefer D.J. Nitric oxide. II. Nitric oxide protects in intestinal inflammation. *Am J Physiol* 1999, **276**, 572-575.
- Leonarduzzi G., Vizio B., Sottero B., Verde V., Gamba P., Mascia C., Chiarotto E., Poli G., Biasi F. Early involvement of ROS overproduction in apoptosis induced by 7-ketocholesterol. *Antioxid Redox Signal* 2006, **8**(3-4), 375-380.
- Li Y., Plitzko I., Zaugg J., Hering S., Hamburger M. HPLC-based activity profiling for GABA(A) receptor modulators: a new dihydroisocoumarin from *Haloxylon scoparium*. *J Nat Prod* 2010, **73**(4), 768-70.
- Lio M, Moriyama A., Matsumoto Y., Takaki N., Fukumoto M. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids by folate compounds and amethopterin. *J Biol Chem* 1985, **259**, 12-15.
- Loft S., Moller P., Cooke M.S., Rozalski R., Olinski R. Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker?. *Eur J Nutr* 2008, **47**(Suppl 2), 19-28.
- Maas J.L., Galletta G.J., Wang S.Y. Ellagic acid enhancement in strawberries. In: Bills DD, Kung SD, eds. *Biotechnology and Nutrition*. Storeham. USA: Butterworth-Heinemann, 1992: 345–362.
- Madhuri S., Pandey G. Some anticancer medicinal plants of foreign origin. *Current Sci* 2009, **96**(6), 779-783.
- Maire R. Flore de l’Afrique du nord, Vol. 11. Le Chevalier, Paris, 1964.
- Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Remesy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans: I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005, **81**(Suppl), 230S-42S.
- Mangiapane H., Thomson J., Salter A., Brown S., Bell D., White D.A. The inhibition of the oxidation of low density lipoprotein by (+) catechin, a naturally occurring flavonoid. *Biochem Pharmacol* 1992, **43**, 445-450.
- Mann A., Abalaka M.E., Garba S.A. The anti-microbial activity of the leaf extracts of *Calotropis procera*. *Biomedical Letters* 1997, **55**, 205-210.
- Manson M. Cancer prevention — the potential for diet to modulate molecular signaling. *Trends Mol Med* 2003, **9**, 11-8.
- Marc Fr., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C, Baccaunaud M., Fritsch P. Méthodes d’évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecine sciences* 2004, **20**(4), 458-463.

- Marjorie C. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol Rev* 1996, **12**, 564-582.
- Maruyama N., Sekimoto N., Ishibashi H. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *J inflamm* 2005, **2**, 1-11.
- Mascolo N., Sharma R., Jain SC., Cappasso F. ethnopharmacology of *Calotropis procera* flowers. *Journal of ethnopharmacology* 1988, **22**(2), 211-221.
- Matès J.M., Sanchez-Jimenez F.M. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2000, **32**, 157-170.
- Mau J.L., Huang P.N., Huang S.J, Chen C.C. Antioxydant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorata* mycelia. *Food Chemistry* 2004, **86**, 25-31.
- May J.M., De Haen C. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein) *J Biol Chem* 1979, **254**, 9017-9021.
- McAnlis, G.T., McEneny J., Pearce J., Young I.S. The effect of various dietary flavonoids on the susceptibility of low density lipoproteins to oxidation in vitro using both metallic and non-metallic oxidizing agents. *Biochem Soc Trans* 1997, **25**(1), 142S.
- McKelvey T.G., Hollwarth M.E., Granger D.N., Engerson T.D., Landler U., Jones H.P. Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney. *Am J Physiol* 1988, **254**, 753-760.
- Mclean M., Dutton M.F. Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmac Ther* 1995, **65**, 163-192.
- Mharzi I., Zaid A. Contribution à l'étude pharmacologique de *Haloxylon scoparium* Pomel (Chenopodiaceae). *Revue de Médecines et de Pharmacopées Africaines* 1995, **9**(2), 159-172
- Mills J.T., Abramson D. Production of sterigmatocystin by isolates of *Aspergillus versicolor* from western Canadian stored barley and rapeseed/canola. *Canadian Journal of Plant Pathology* 1986, **8**(2), 151-153.
- Miura S., Watanabe J., Tomita T., Sano M., Tomita I. Inhibitory effects of tea polyphenols (flavan-3-ol derivatives) on Cu²⁺-mediated oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biol Pharm Bull* 1994, **17**, 1567-1572.
- Mobley J.A., Brueggemeier R.W. Estrogen receptor mediated regulation of oxidative stress and DNA damage in breast cancer. *Carcinogenesis* 2004, **25**, 3-9.

- Mohammed A., Akhlaq M. New phenolic acids from the galls of *Tamarix aphylla* (L.) Karst. *IRJP* 2011, **2**(4), 222-225.
- Molitoris B.A., Marrs J. The role of cell adhesion molecules in ischemic acute renal failure. *Am J Med* 1999, **106**(5), 583-592.
- Moller P., Wallin H., Knudsen L.E. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem Biol Interact* 1996, **102**, 17-36.
- Moncada S., Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993, **329**(27), 2002-2012.
- Monod D.J., Gamisans J. Flora Corsica, Edisud, Aix-en-Provence 2007.
- Montagnier L., Olivier R., Pasquier C. Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Marcel Dekker, New York, 1998.
- Morel Y., Mermoud N., Barouki R. An autoregulatory loop controlling CYP1A1 gene expression: role of H₂O₂ and NFI. *Mol Cell Biol* 1999, **19**, 6825-6832.
- Mueller L., Boehm V. Antioxidant Activity of β -Carotene Compounds in Different in Vitro Assays. *Molecules* 2011, **16**, 1055-1069.
- Mughal T. A. Ethnomedicinal studies of flora of Southern punjab and isolation of Biologically active principles. These Philosophy in chemistry, Lahore (Pakistan), 2008.
- Murota K., Terao J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. *Arch Biochem Biophys* 2003, **417**, 12-17.
- Murray R.K., Gran D.K., Mayer P.A., Rodwel V.W. Biokimia Harper, 24th edition. Translated by Hartono A, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 1996.
- Nathan C., Xie Q.W. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994, **269**(19), 13725-13728.
- Nawwar M.A.M., Hussein S.A.M., Buddrus J., Linscheid M. Tamarix ellagic acid and Ellagitannin from the galls of *Tamarix aphylla*. *Phytochemistry* 1994, **35**(5), 1349-1354.
- Nene Y.L., Thapliyal P.N. Fungicides in plant disease control. Oxford et IHB publ. Co., New Delhi, 1979.
- Newberne P.M, Butler, W.H. Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals. A review. *Cancer Research* 1969, **236**, 29-33.
- Nijveldt R.J., Nood E.V., Hoorn D.E.V., Boelens P.G., Norren K.V., Van Leeuwen P.A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001. **74** (4), 418-25.

- Nobori T., Miurak K., Wu D.J., Takabayashik L.A, Carson D.A. Deletion of cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature* 1994, **46**, 753-756.
- Noroozi M., Angerson W.J., Lean M.E., Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am J Clin Nutr* 1998, **67**(6), 1210-1218.
- Norton R.A. Inhibition of aflatoxin B1 biosynthesis in *Aspergillus flavus* by anthocyanidins and related flavonoids. *J Agric Food Chem* 1999, **47**, 1230-1235.
- Nyarko A.A., Addy M.E. Effects of aqueous extract of *Adenia cissampeloides* on blood pressure and serum analyte of hypertensive patients. *Phytotherapy Res* 1990, **4**(1), 25-28.
- Okwu D.E, Okwu M.E. Chemical composition of *Spondias mombin* Linn. Plant Parts. *J Sustain Agric Environ* 2004, **6**(2), 140-147.
- Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z., Nalhdebadi H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control* 2007, **18**, 1518-1523.
- Owen P.L., Johns T. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *J Ethnopharmacol* 1999, **64**, 149-60.
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* 1986, **44**, 307-315.
- Oyedeji O., M. Oziegbe, Taiwo F.O. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011, **5**(7), 1192-1199.
- Pak A., Gonçalez E., D'arc Felicio J., Pinto M.M., Rossi M.H., Simoni I.C., Lopes M N. Inhibitory activity of compounds isolated from *polymnia sonchifolia* on Aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Brazilian Journal of Microbiology* 2006, **37**, 199-203.
- Parks D.A., Williams T.K., Beckman J.S. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* 1988, **254**, 768-774.
- Paster N., Juven B.J., Harshemesh H. Antimicrobial activity and inhibition of aflatoxin B1 formation by olive plant tissue constituents. *J Appl Bacteriol* 1988, **64**, 293-297.
- Pfohl-Leszkowicz A., Castegnaro M. L'Ochratoxine A. In: *Mycotoxines: Evaluation et gestion du risqué*, chapitre 9. Paris: Tec et Doc Lavoisier, 1999: 249-278.
- Pier A.C., Richard J.L., Cysewski S.J. The implications of mycotoxins in animal disease. *J Am Vet Med Assoc* 1980, **176**, 719-725.

- Pier A.C., Varman M.J., Dahlgren R.R., Belden E.L., Maki L.R. Aflatoxic suppression of cell-mediated immune response and interactions with T-2 toxin. In : Steyn, PS., Vleggar R, eds. *Mycotoxins and Phycotoxins*. Amsterdam: Elsevier, 1986: 423-427.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme* 2002, **16**, 233–239.
- Pincemail J., Defraigne J.O., Meurisse M., Limet R. Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires. 2^{ème} partie : la vitamine E. *Medi-Sphere* 1998,**73**, 29-33.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœurs, Poumons* 1999, **4**(5), 7pages.
- Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J., Vanden Berghe D. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 1998, **61**, 71-76.
- Potapovich A.I., Kostyuk V.A. Comparative study of antioxidant properties and cytoprotective activity of flavonoids. *Biochemistry* 2003, **68**, 514-519.
- Pratt D.E. Natural antioxidants of soybean and other oil-seeds. In: Simic MG, Karel M, eds. *Autoxidation in food and biological systems*. New York: Plenum Press, 1980: 283-292.
- Pryor W.A. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radical Biol Med* 2000, **28**, 141–164.
- Puisieux A., Lim S., Groopman J., Ozturk M. Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. *Cancer Research* 1991, **51**, 6185-6189.
- Quezel P., Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Editions du centre national de la recherche scientifique, Paris, 1963.
- Rabbani, G.H. ; Butler, T. ; Knight, J.J., Sanyal S.C., Alam K. Randomized controlled trial of berberine sulfate therapy for diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholera*. *Infectious Diseases* 1987, **155** (5): 979–984.
- Ragot J., Turbery P., Carreras-Jansou M., Lattes A. Isolement de la 5-primeverosyl genkwanine des recines de *Daphne gnidium*. *Fitoterapia* 1988. **59**, 336-337.
- Rahman A.U *Studies in Natural Product Chemistry*, Vol. 24. Elsevier, Amesterdam, 2000.
- Raj, H. ; Bakshi, G.S. ; Tiwari, R.R. ; Anand, A. ; Paintal, A.S. How does lobeline injected intravenously produce a cough? *Respir Physiol Neurobiol* 2005, **145**, 79-90,

- Ramos S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2007, **18**, 427-442.
- Rao M.S., Prvatha-Reddy P., DAS S.I.M. Effect of integration of *Calotropis procera* and *Glomus fasciculatum* on the management of *Meloidogyne incognita* infesting tomato. *Nematologia Mediterranea* 1996, **24**(1), 59-61.
- Razavi S.M., Imanzadeh G.H., Davari M. Coumarins from *Zosima absinthifolia* seeds, with allelopathic effects. *Eur Asia J Biosci* 2010, **4**, 17-22.
- Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M., Rezaee M.B., Jaimand K., Alinezhad S., Saberi R., Yoshinari T. Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control* 2008, **20**, 1018-1024.
- Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M., Chang P.K. Aflatoxins: mechanisms of inhibition by antagonistic plants and microorganisms. In: Guevara-Gonzalez RG., ed. *Aflatoxins: Biochemistry and Molecular Biology*. China and Croatia: INTECH Open Access Publisher; 2011: 285-304
- Rice-Evans C. Flavonoid antioxidants. *Curr Med Chem* 2001, **8**, 797-807.
- Rice-Evans C.A, Miller N.J. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans* 1996, **24**, 790-795.
- Rice-Evans C.A, Sampson J., Bramley P.M., Holloway D.E. Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? *Free Radical Research* 1997, **26**, 381-398.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research* 1995, **22**, 375-383.
- Rietzschel E.R., Langlois M., De Buyzere M.L., Segers P., De Bacquer D., Bekaert S., Cooman L., Van Oostveldt P., Verdonck P., De Backer G.G, Gillebert T.C. Oxidized low-density lipoprotein cholesterol is associated with decreases in cardiac function independent of vascular alterations. *Hypertension* 2008, **52**, 535-541.
- Rizk A.M., Constituents of plants growing in Qatar: A chemical survey of sixty plants. *Fitoterapia* 1982, **52**(2), 35-44.
- Roeder, E. Analysis of pyrrolizidine alkaloids. *Current Organic Chemistry* 1999, **3**(6), 557-576.

- Russo A., Acquaviva R., Campisi A., Sorrenti V., Di Giacomo C., Virgata G., Barcellona M.L., Vanella A. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biol Toxicol* 2000, **16**(2), 91-8.
- Sadik C.D., Sies H., Schewe T., Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: Structure - activity relations and mode of action. *Biochemical Pharmacology* 2003, **65**(5), 773-781.
- Sahki A., Sahki R. Le Hoggar promenade botanique. Ed. Atelier Escope, 2004. 312 pages.
- Sahnoun Z., Jamoussi K., Zeghal K.M. Radicaux libres et antioxydants : physiologie, pathologie humaine et aspects thérapeutiques (Ile partie). *Thérapie* 1998, **53**: 315-339.
- Said O., Khalil K., Fulder S., Azaizeh H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel. The Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology* 2002, **83**, 251-265.
- Salunkhe D.K. Dietary tannins: consequences and remedies. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, 1990.
- Sanchez-Moreno C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International* 2002, **8**(3), 121-137.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A ., Saura-Calixto F. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1998, **76**(2), 270-276.
- Sathiyamoorthy P., Lugasi-Evgi H., Schlesinger P., Kedar I., Gopas J., Pollack Y., Golan-Goldhirsh A. Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Pharm. Biol* 1999, **37**(3), 188-195.
- Sathiyamoorthy P., Lugasi-Evgi H., Van Damme P., Abu-Rabia A., Gopas J., Golan-Goldhirsh A. Larvicidal activity in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Int. J. Pharmacognosy* 1997, **35**(4), 265-273.
- Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 1991, **30**, 3875-3883.
- Scalbert A., Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000, **130**, 2073S-2085S.
- Schmidt J., Stavisky N. Uses of *Thymelaea hirsuta* (Mitnan) with emphasis on hand papermaking. *Economic Botany* 1983, **37**(3), 310-321.
- Scholz E., Rimpler H. Proanthocyanidins from *Krameria triandra* root. *Planta Medica* 1989, **55**(4), 379-384.

- Schuster E., Dunn-Coleman N., Frisvad J.C., Van Dijck P.W. On the safety of *Aspergillus niger* – a review. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2002, **59**, 426-435.
- Senhaji O., Faid M., Elyachioui M., Dehhaoui M. Antifungal activity of different cinnamon extracts. *Journal de Mycologie Médicale* 2005, **15**, 220-229.
- Sessa W.C. The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res* 1994, **31**(3), 131-143.
- Shahidi F., Wanasundara P.K. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992, **32**, 67-103.
- Sharif Ali S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahuand A., Bora U. Indian medicinal herbs as source of antioxidants. *Food Res Int* 2008, **41**, 1-15.
- Shimada K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric Food Chem* 1992, **40**, 945-948.
- Shoskes, D.A., Halloran P.F. Delayed graft function in renal transplantation: etiology, management and long-term significance. *J Urol* 1996, **155**(6), 1831-1840.
- Shukla R.A., Kumar C., Shekhar Prasad B., Srivastava, Dubey N.K.. Antimycotic and antiaflatoxicogenic potency of *Adenocalymma alliaceum* Miers. on fungi causing biodeterioration of food commodities and raw herbal drugs. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2008, **62**, 348-351.
- Sies H. Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin Wochenschr* 1991, **69**, 965-968.
- Silva L.G., Lee I.S., Kinghorn D.A. Special Problems with the extraction of Plants. In: Cannell JPR,ed. *Methods in Biotechnology*. New Jersey: Humana press Inc, 1993: 329-363.
- Singh R., Singh S.K., Arora S. Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. *Fod Chem. Toxicol* 2007, **45**, 1216-1223.
- Smith H.F., Woerdenbag H.J., Sing R.H., Meulenbeld G.J., Labadie R.P., Zwavin J.H. Ayurvedic herbaldrugs with possible cytostatic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 1995, **47**(2), 75-84.
- Sofowra A. *Medicinal Plants And traditional Medicine In Africa*. 2e Edition. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria, 1993.
- Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med*, 2002, **33**(5), 575-586.

- Sorg O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *C. R. Biologies* 2004, **327**, 649-662.
- Soro S., Ouattara D., Zirihi G.N., Kanko C., N'guessan E.K., Kone D., Kouadio J.Y., Ake S. Effet Inhibiteur in Vitro et in Vivo de l'extrait de Poudre et de l'huile Essentielle de *Xylopiya Aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) sur *Fusarium oxysporum* f. sp Radicis-lycopersici (Forl), Champignon Parasite des Cultures de Tomate. *European Journal of Scientific Research* 2010, **39**(2), 279-288.
- Spitteller G. The important role of lipid peroxidation processes in aging and age dependent diseases. *Mol Biotechno* 2007, **137**, 5-12.
- Squire R.A. Ranking animal carcinogens: a proposed regulatory approach. *Science* 1989, **214**, 887-891.
- Štefek M., Kyseľová Z., Račková L., Křižanová L. Oxidative modification of rat lens proteins by peroxy radicals in vitro: Protection by the chain-breaking antioxidants Stobadine and Trolox. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease* 2005, **1741**(1-2), 183-190.
- Stentz K.B., Umpierrez G.E., Cuervo R., Kitabchi A.E. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes* 2004, **53**(8), 279-286.
- Steyn P.S. The biosynthesis of mycotoxins. Academic Press, New York and London, 1980.
- Strack D. Phenolic metabolism. In: Dey PM, Harborne JB, eds. *Plant Biochemistry*. London: Academic Press, 1997, 387-416.
- Stray, F. *The Natural Guide to Medicinal herbs And Plants*. Tiger Books International, London, 1998.
- Suzuki K., Ito Y., Ochiai J., Kusuhara Y., Hashimoto S., Tokudome S., Kojima M., Wakai K., Toyoshima H., Tamakoshi K., Watanabe Y., Hayakawa N., Maruta M., Watanabe M., Kato K., Ohta Y., Tamakoshi A. Relationship between obesity and serum markers of oxidative stress and inflammation in Japanese. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2003, **4**(3), 259-266.
- Sweeny A.P., Wyllie S.G., Shalliker R.A., Markham J.L. Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *J Ethnopharmacol* 2001, **75**, 273-277.
- Szwajgier D., Pielecki J., Targonski Z. Antioxidant activities of cinnamic and benzoic acid derivatives. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2005, **4**(2), 129-142.

- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A., Sokmen A. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem* 2006, **95**, 200-204.
- Terao K., Ueno Y. Morphological and functional damage to cells and tissues. In : Uruguchi K, Yamazaki M, eds. Toxicology: Biochemistry and Pathology of mycotoxins. New York: John Wiley & Sons, 1978: 189-197.
- Thanaboripat D., Naranong N., Peerapakorn N. Effect of some herbs on growth of aflatoxin producing fungi. *Srinamarinwirot J Sci* 1989, **5**, 33-39.
- Thannickal V.J., Fanburg B.L. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000, **279**, 1005-1028.
- Timbo B. Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl (*Meliaceae*). Thèse de pharmacie, Bamako (Mali). 2003.
- Tintu I., Dileep K., Augustine Anu, Sadasivan C. An Isoquinoline Alkaloid, Berberine, Can Inhibit Fungal Alpha Amylase: Enzyme Kinetic and Molecular Modeling Studies. *Chem Biol Drug Des* 2012, **80**(4), 554-560.
- Turner N.W., Subrahmanyam S., Piletsky S.A.. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta* 2009,**632**, 168-180.
- Turner W.B. Fungal metabolites. Academic Press, New York and London, 1971.
- Turner W.B., Albridge D.C. Fungal metabolites. Academic Press Inc, London, 1983.
- Turrens J.F., Freeman B.A. Crapo J.D. Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1982, **217**, 411-421.
- Uchida S., Edamatsu R., Hiramatsu M., Mori A., Nonaka G., Nishioka I., Niwa M., Ozaki M. Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. *Med Sci Res* 1987, **15**, 831-832.
- Ulubelen A., Terem B., Tuzlaci E. Coumarins and flavonoids from *Daphne gnidioides*. *J Nat Prod* 1986, **49**, 692-694
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and humandisease. Review. *The International journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007, **37**, 44-84.
- Valko M., Rhodes C.I., Moncol I., Izakovic M., Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006, **160**, 1-40.
- Vansant G. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Ed Institut Danone, 2004.

- Velioğlu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D., Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, **46**(10), 4113–4117.
- Villa-Colinayo V., Shi W., Araujo I, Lusic A.I. Genetics of atherosclerosis: the search for genes acting at the level of the vessel wall. *Curr Atheroscler Rep* 2000, **2**, 380-389.
- Vinson J., Anamandla S. Comparative Topical Absorption and Antioxidant Effectiveness of Two Forms of Coenzyme Q10 after a Single Dose and after Long-Term Supplementation in the Skin and Middle-Aged Subjects. *IFSCC* 2005, **8**(4), 1-6.
- Vinson J.A., Dabbagh Y.A., Serry M.M., Jang J. Plant flavonoids, especially tea flavonoids are powerful antioxidants using an *in vitro* model for heart disease. *J Agric Food Chem* 1995, **43**, 2800-2802.
- Vollhardt K.P.C., Schore N.E. ; *Traité de chimie organique*, 4^e Edition. De Boeck, Bruxelles et Paris, 2004.
- Wagner H., Chari V.M., Sonnenbichler J. ¹³C-NMR-Spektren natürlich vorkommender Flavonoide. *Tetrahedron Lett* 1976, **17**, 1799–1802
- Wang S.F., Ridsdill-Smith T.J., Ghisalberti E.L. Bioactive isoflavonols and other components from *Trifolium subterraneum*. *J Nat Prod* 1998, **61**, 508-510
- Weidenborner M., Hindorf H., Jha H. C., Tsonosonos P., Egge H. Antifungal activity of isoflavonoids against storage fungi of the genus *Aspergillus*. *Phytochemistry* 1989, **28**, 3317-3319.
- Willcox I.K., Ash S.L., Catignani G.L. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Cru Rev Food Sei Nutr* 2004, **44**, 275-295.
- Wilson C.L., Wisniewski M.E. Further alternatives to synthetic fungicides for control of postharvest diseases, In *Biological Control of Plant Diseases*. E.T. Tjamos: Plenum Press, New York, 1992.
- Winkelhausen E., Pospishech R., Laufenberg G. Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. *Bulletin of the chemists and Technologists of Macedonia* 2005, **24**(1), 41-46.
- Wu W.N., Beal J.L., Clark G.W., Mitscher L.A. Antimicrobial agents from higher plants. Additional alkaloids and antimicrobial agents from *Thalictrum rugosum*. *Lloydia* 1976, **39**(1), 65-75.

- Yadav R.D, Jain S.K., Alok S., Mahor A., Bharti J.P., Jaiswal M. Herbal plants used in the treatment of urolithiasis: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2011, **2**(6), 1412-1420.
- Yamaguchi R., Tatsumi Y., Asano M., Kato K., Ueno Y. Effect of metal salts and fructose on the autoxidation of methyl linoleate in emulsions. *Agric Biol Chem* 1988, **52**, 849-850.
- Yamato M., Shiba T., Yoshida M., Ide T., Seri N., Kudou W., Kinugawa S., Tsutsui H.. Fatty acids increase the circulating levels of oxidase stress factors in mice with diet-induced obesity via redox changes of albumin. *Febs J* 2007. **274**, 3855-3863.
- Yiannikouris A., Jouany J.P. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim Res* 2002, **51**, 81-99.
- Yoshikawa H., Taniguchi E., Maekawa K. Synthesis and biological activities of isocoumarins. *J Pest Sci* 1979, **4**, 457-462.
- Younos C., Soulimani R., Seddiqi N., Baburi O., Dicko A. Étude ethnobotanique et historique des tamaris (*Tamarix* sp.,*tamaricaceae*) et leurs usages actuels en Afghanistan. *Phytothérapie* 2005, **6**, 248-251
- Yu J. Genetics and Biochemistry of Mycotoxin Synthesis. In: Arora DK, ed. Fungal Biotechnology in Agricultural, Food and Environmental Applications. New York: Marcel Dekker, 2004: 343-361.
- Yu J., Bhatnagar D., Cleveland T.E. Completed sequence of aflatoxin pathway gene cluster in *Aspergillus parasiticus*. *FEBS Letters* 2004, **564**, 126-130.
- Yu J., Cary J.W., Bhatnagar D., Cleveland T.E., Keller N.P., Chu F.S. Cloning and characterization of a cDNA from *Aspergillus parasiticus* encoding an O-methyltransferase involved in aflatoxin biosynthesis. *Appl Environ Microbiol* 1993, **59**, 3564-3571.
- Ziyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., Benjelloun W. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *J Ethnopharmacol* 1997, **58**, 45-54.
- Zou Y., Qian Z.l, Li Y., Kim M.M, Lee S.H, Kim S.K. Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishige okamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. *J Agric Food Chem* 2008, **56**(16), 7001-7009.

Les Annexes

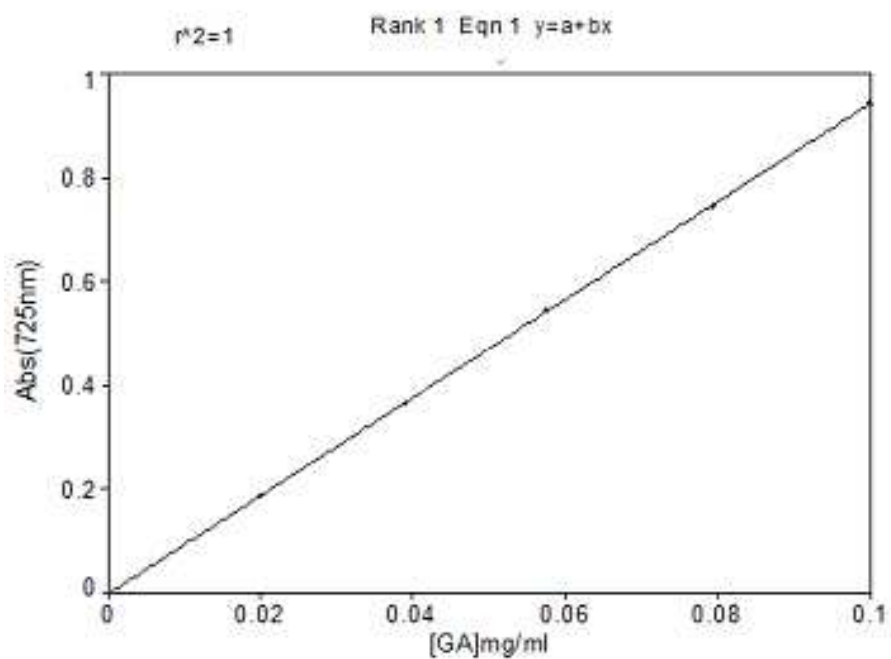


Figure 34: Courbe d'étalonnage des polyphénols

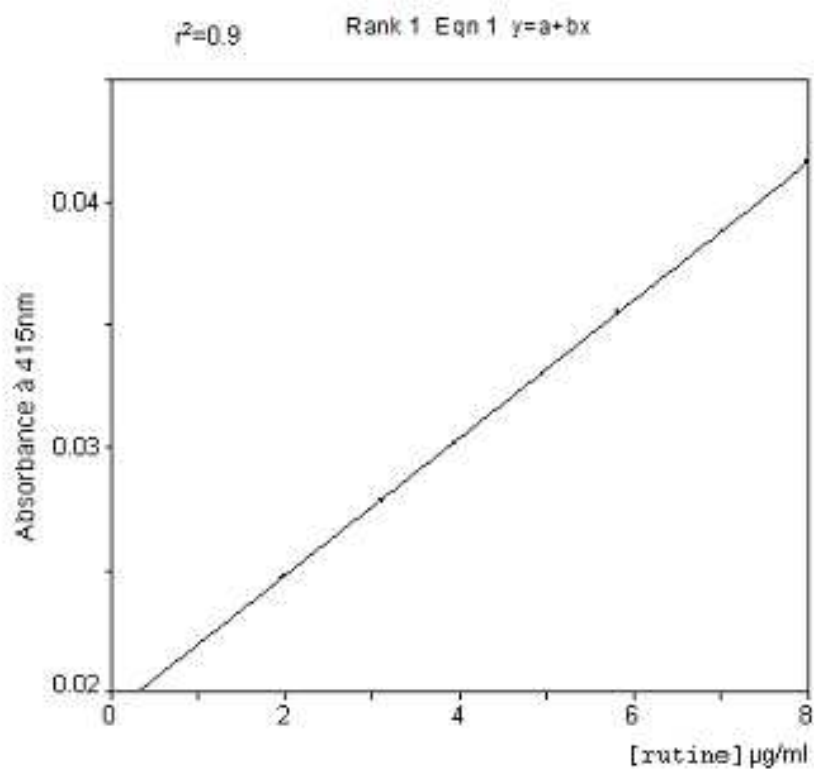
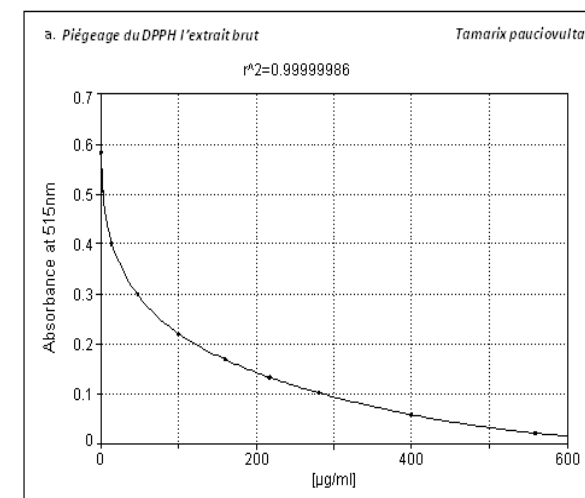
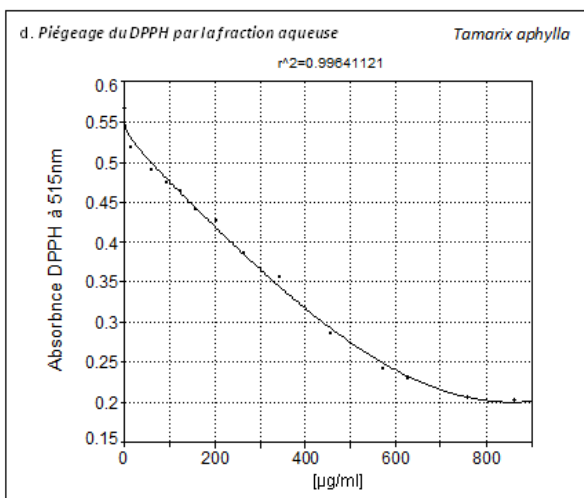
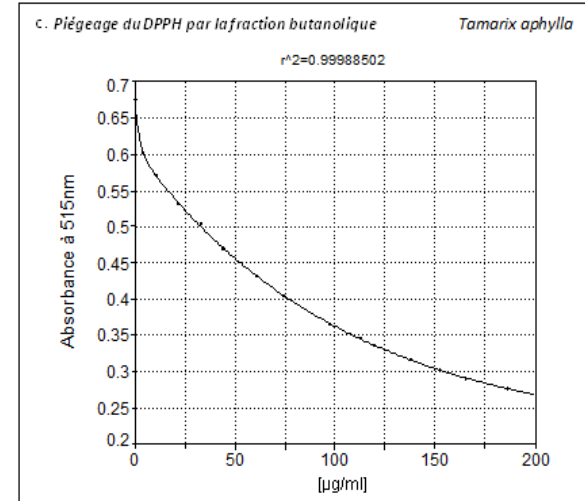
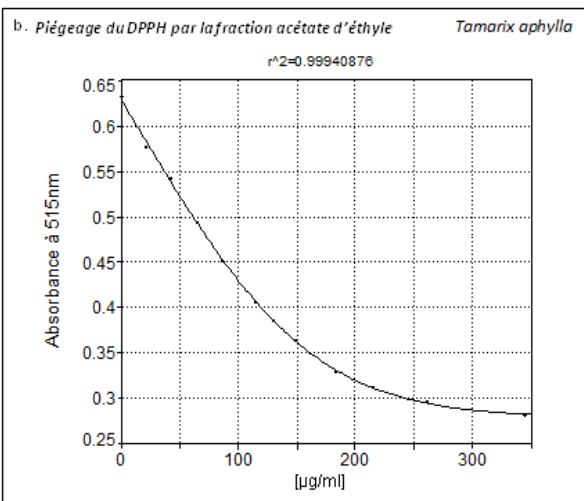
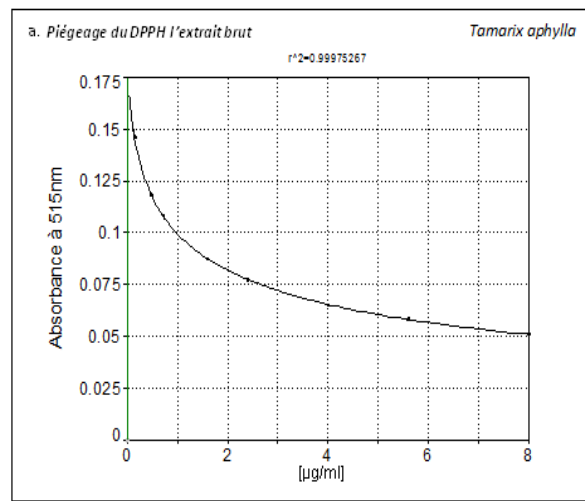
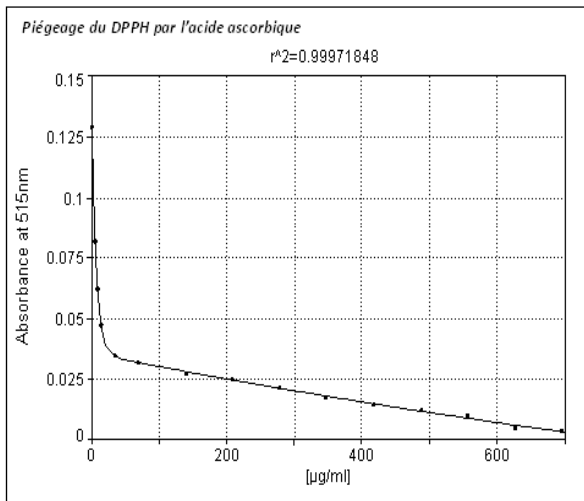
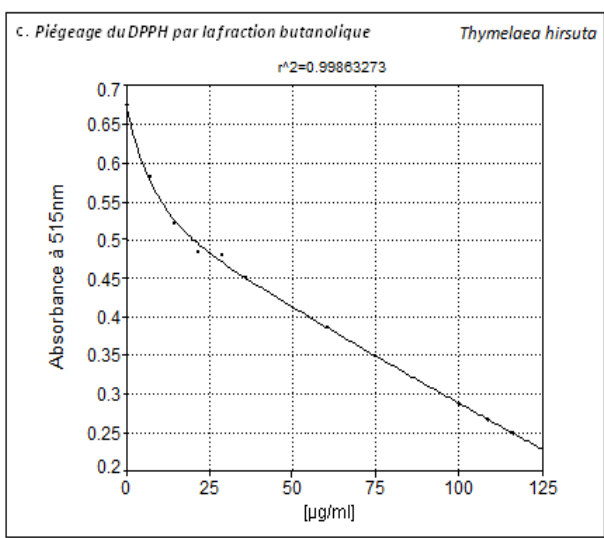
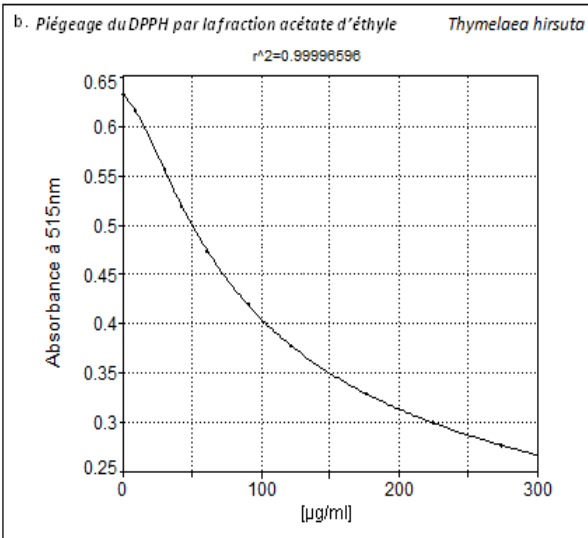
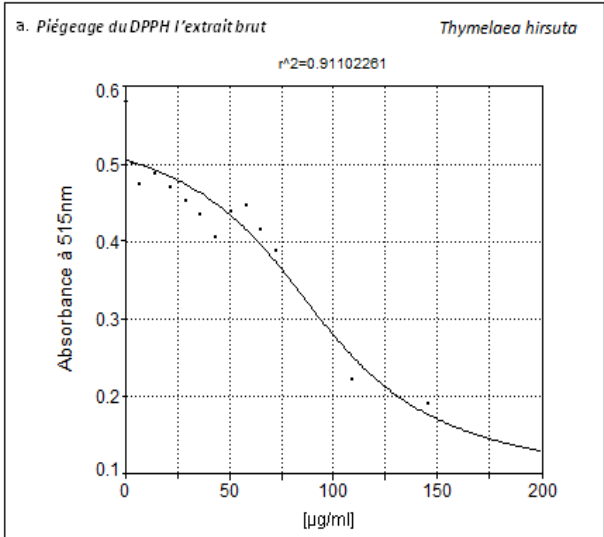
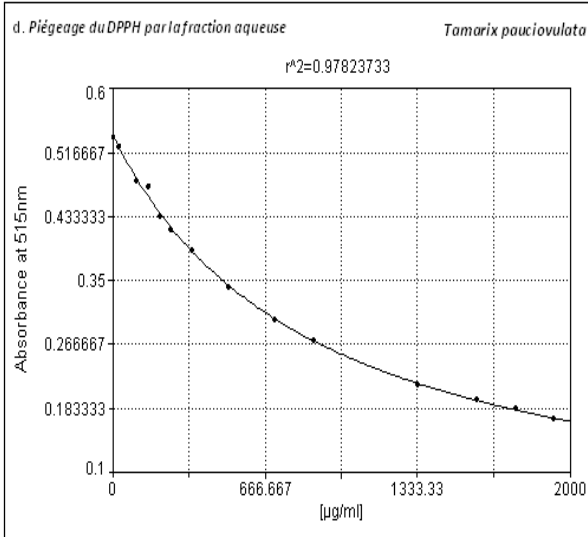
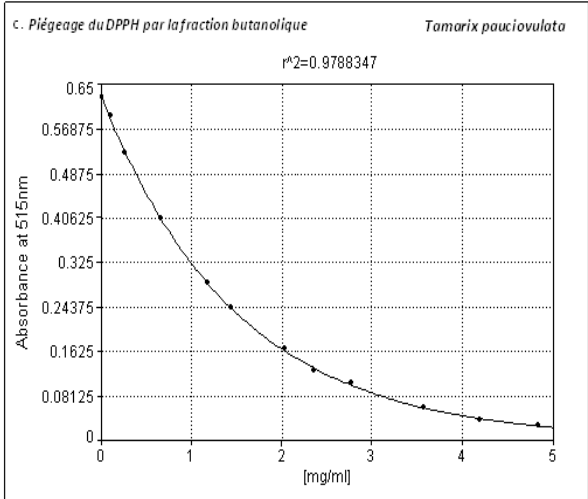
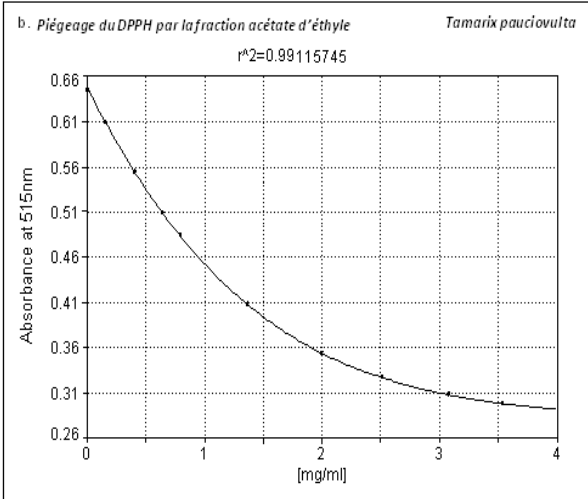
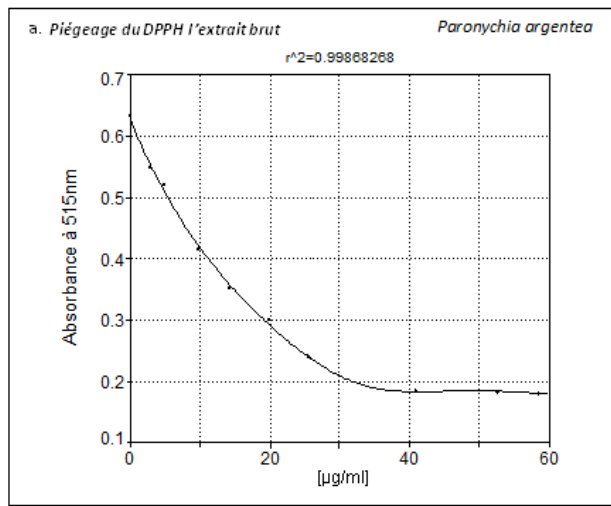
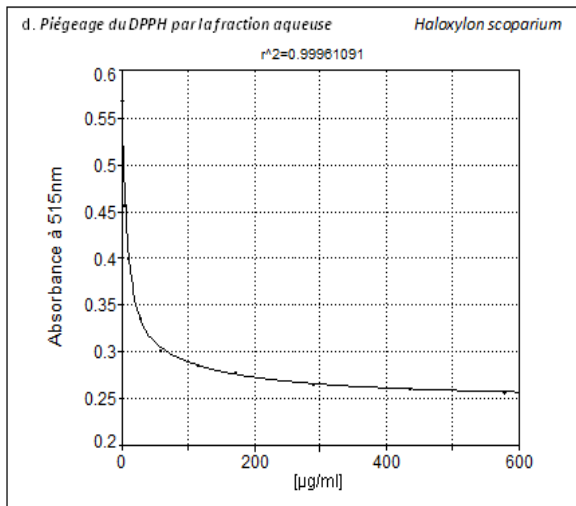
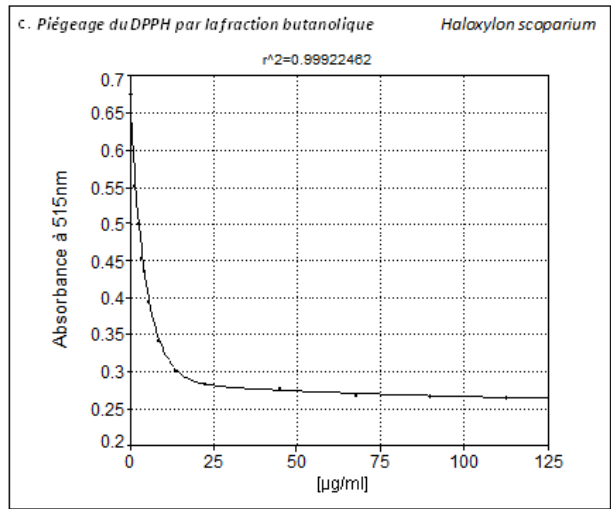
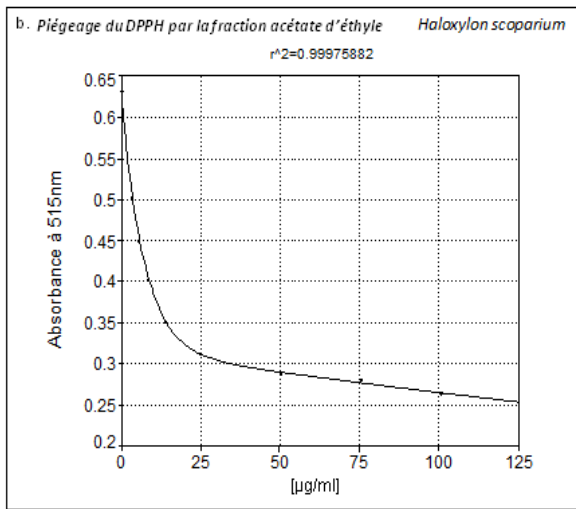
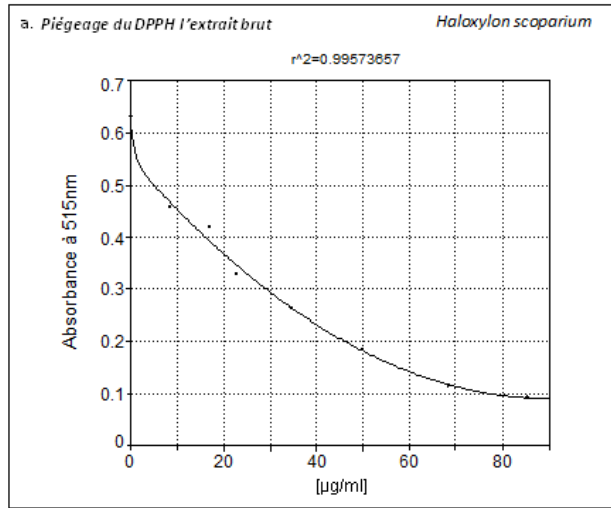
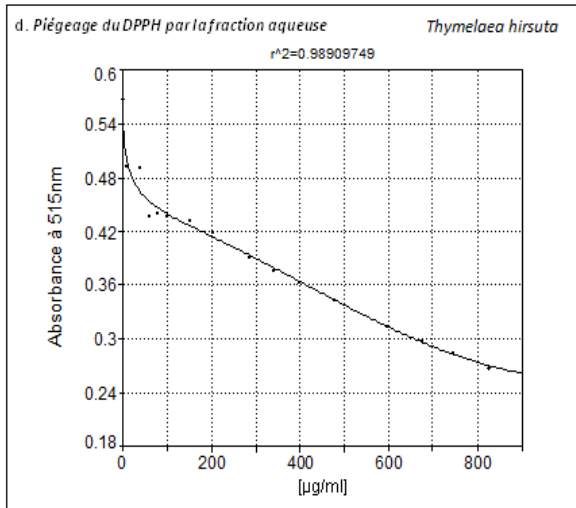


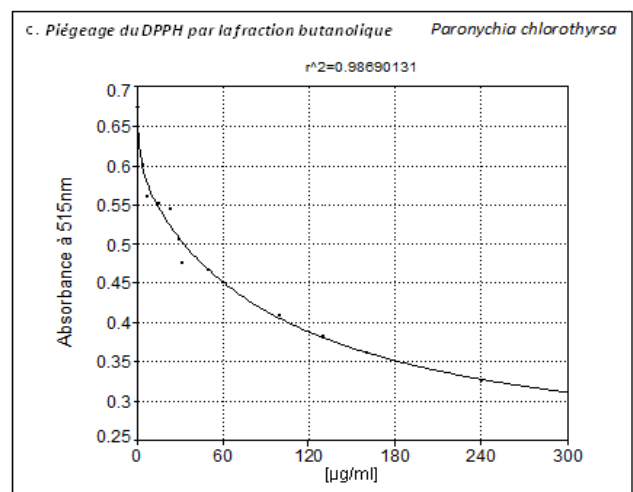
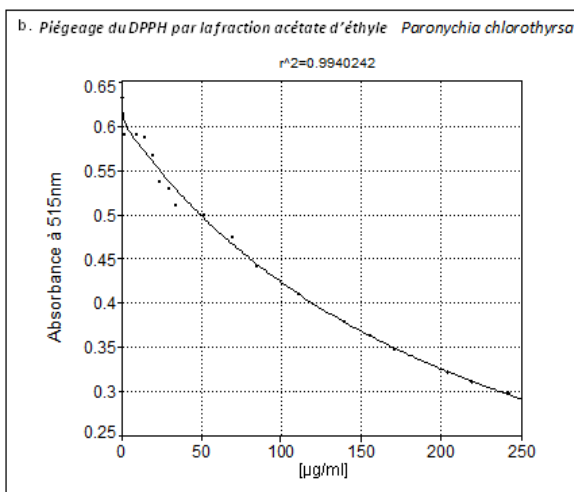
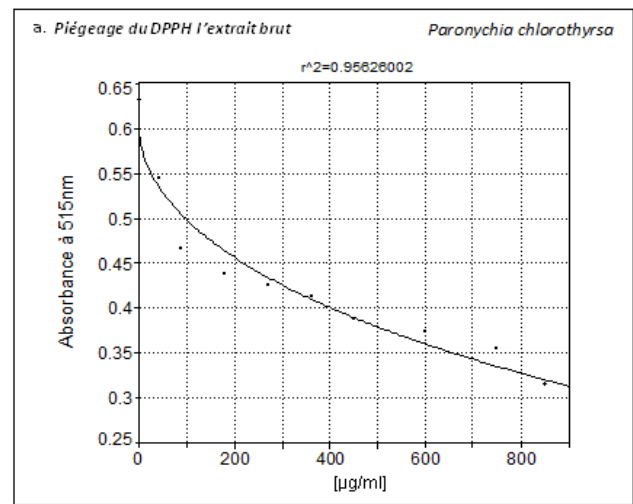
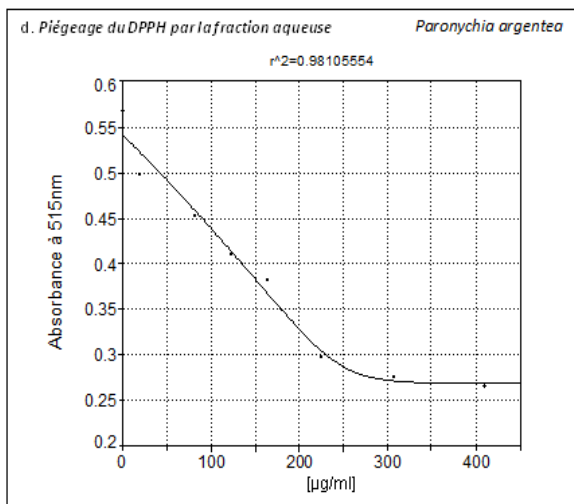
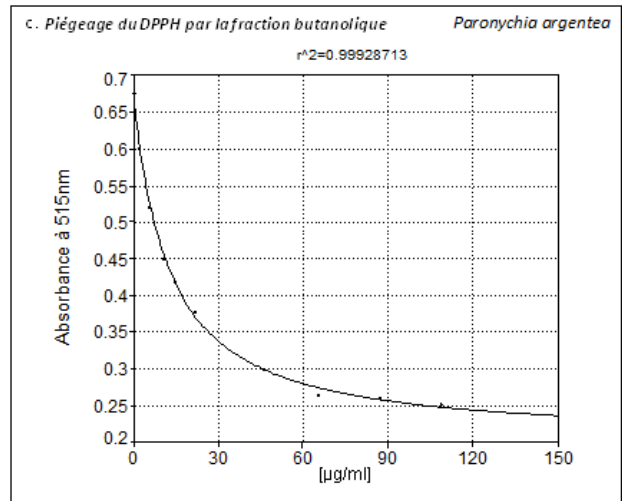
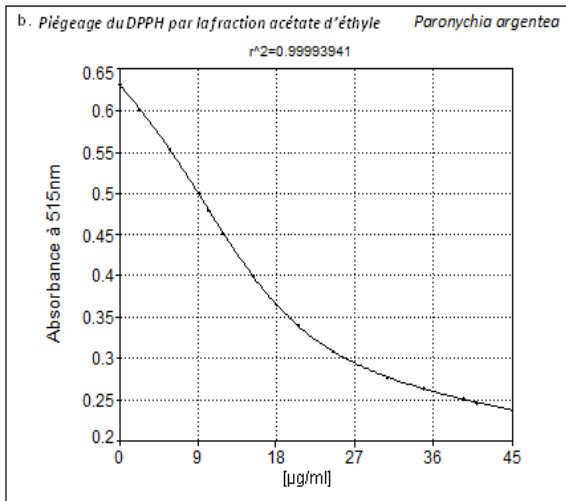
Figure 35: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

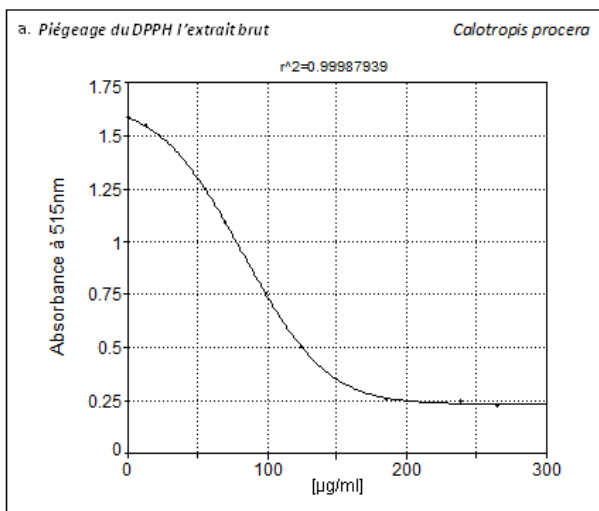
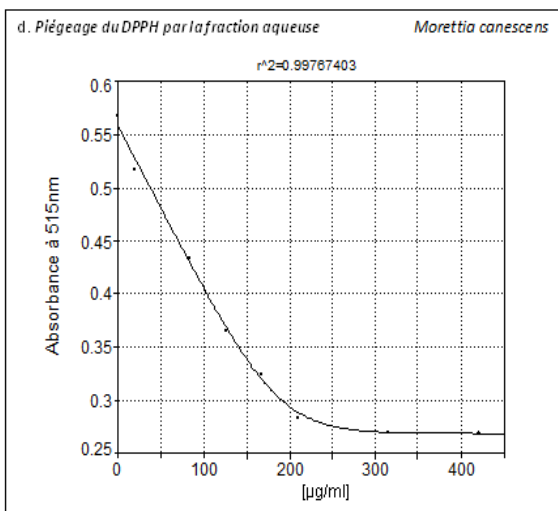
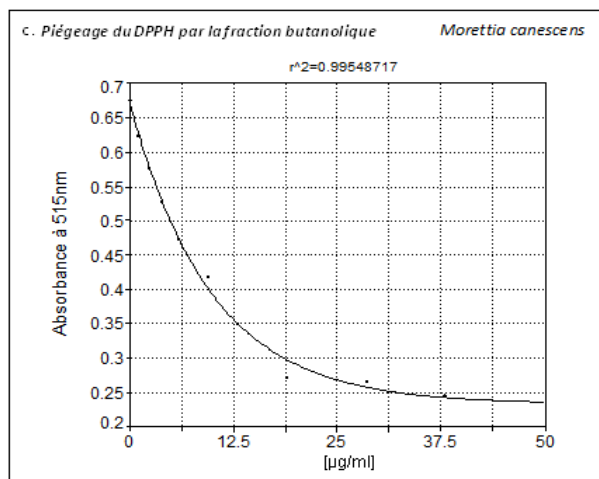
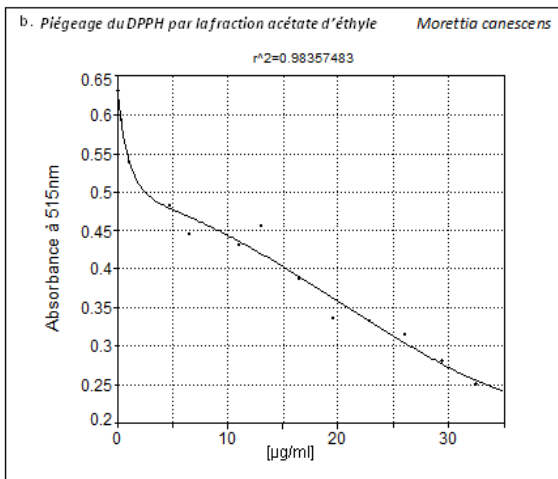
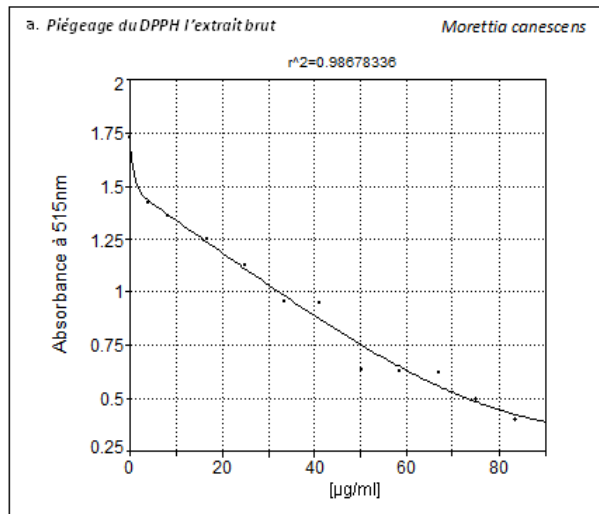
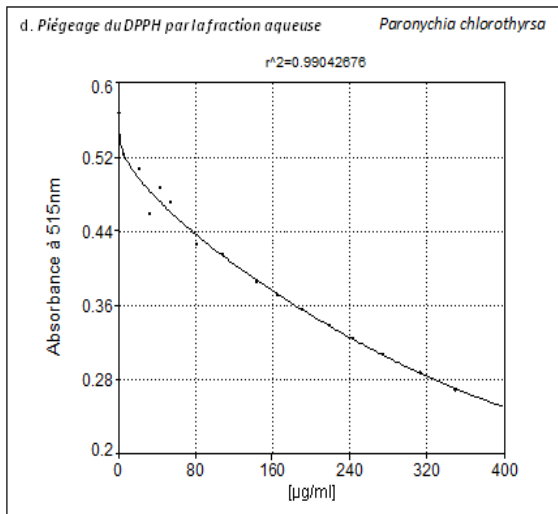
1. Méthode au DPPH

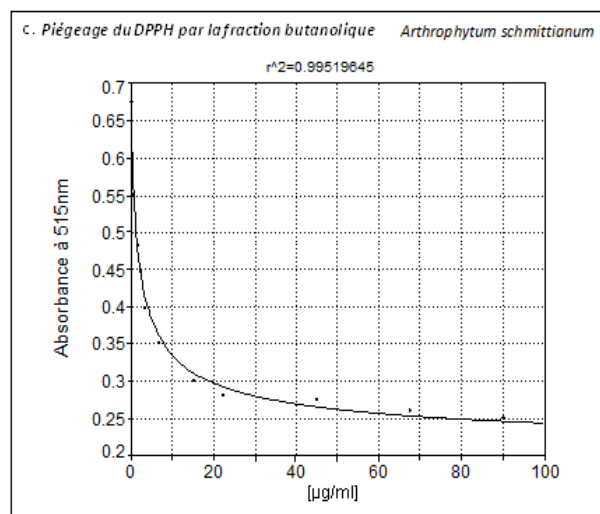
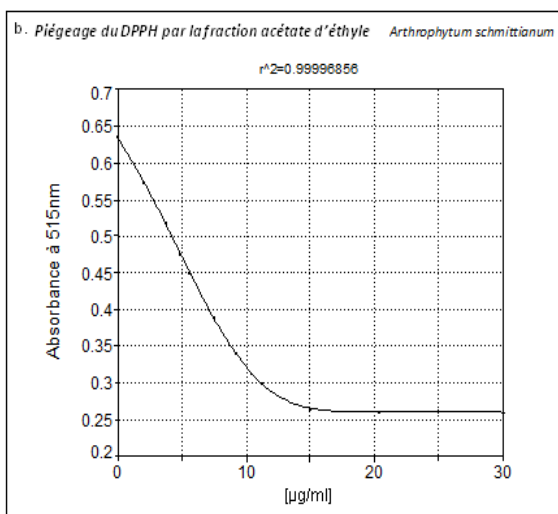
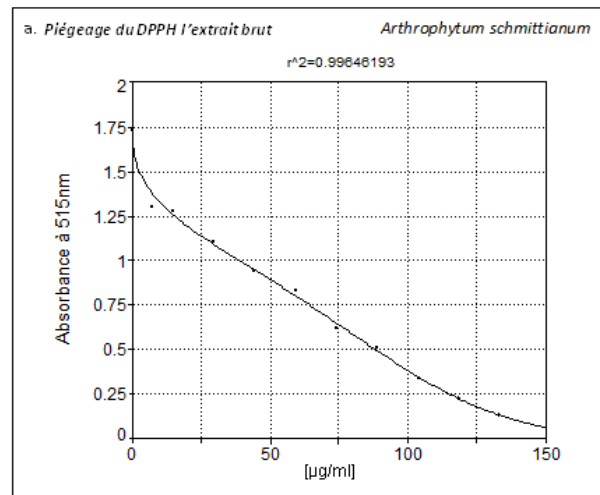
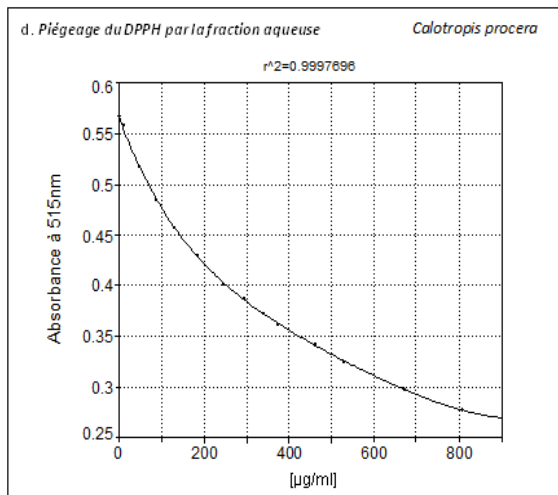
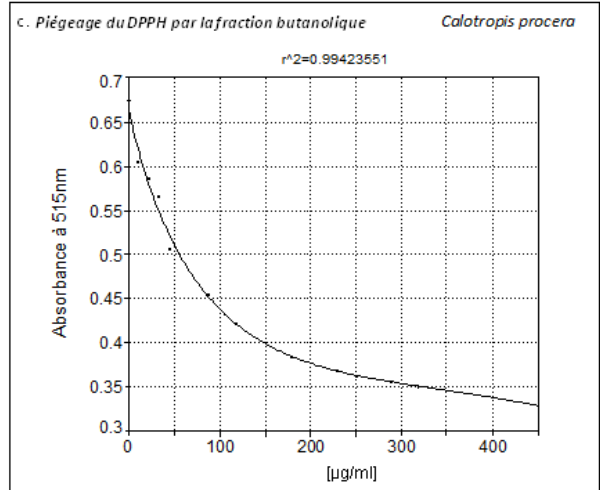
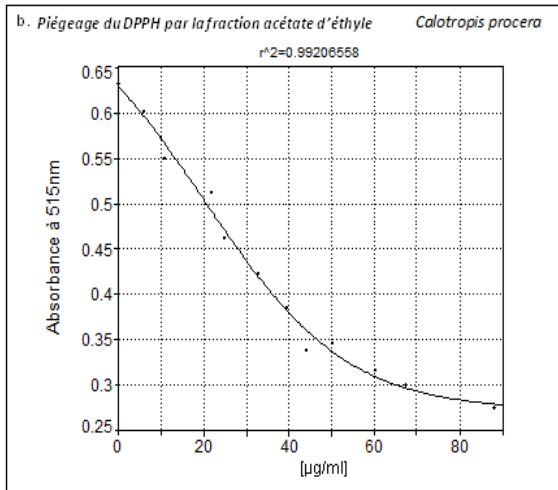












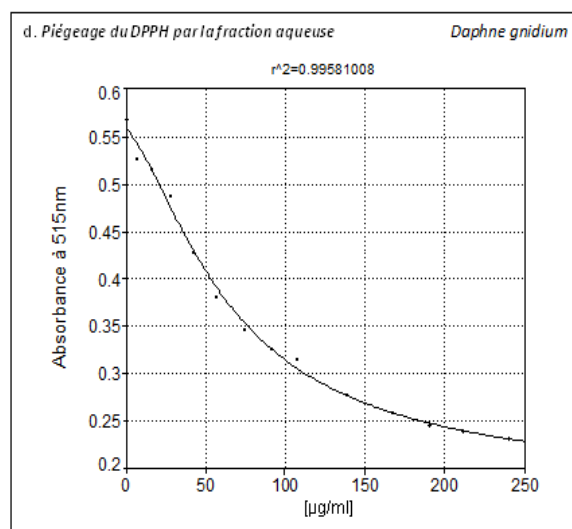
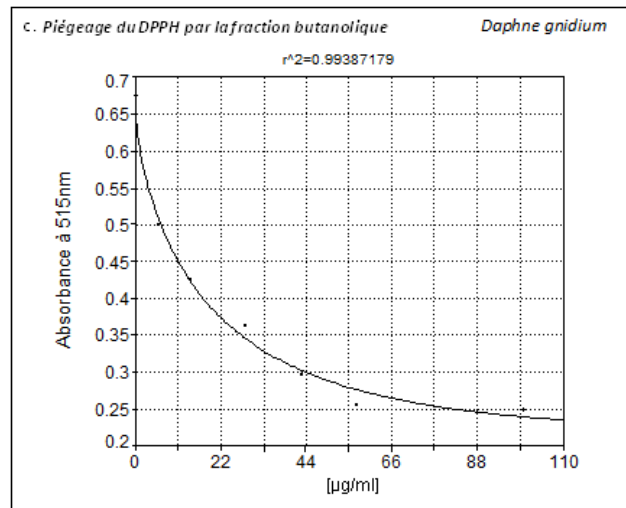
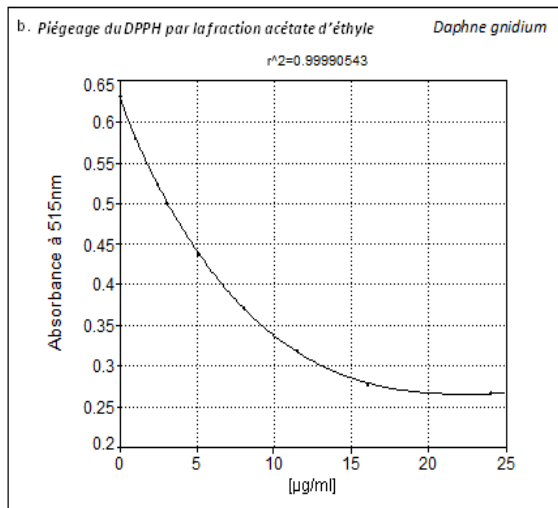
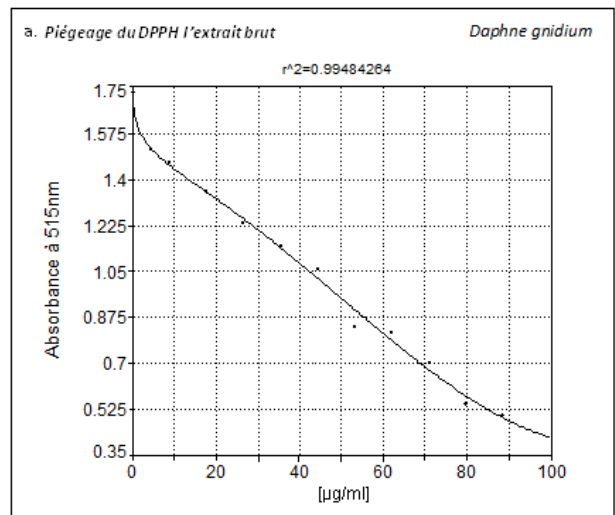
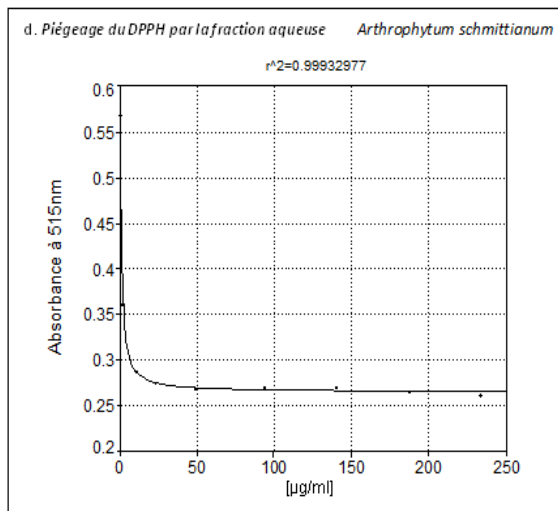
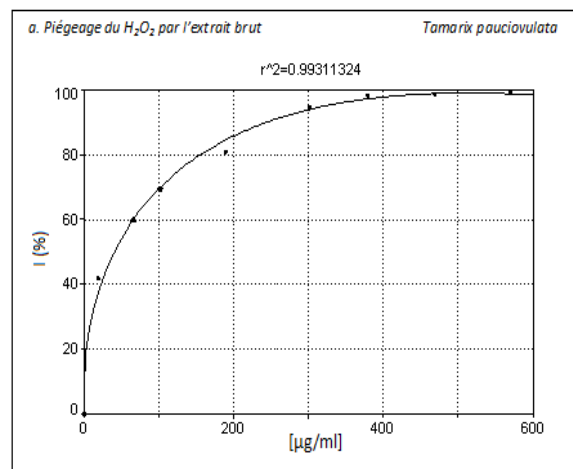
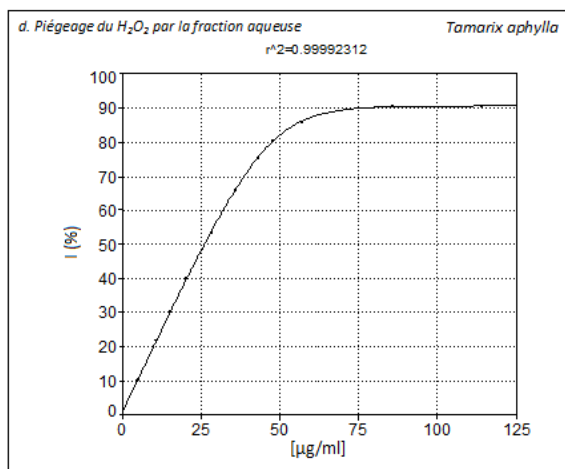
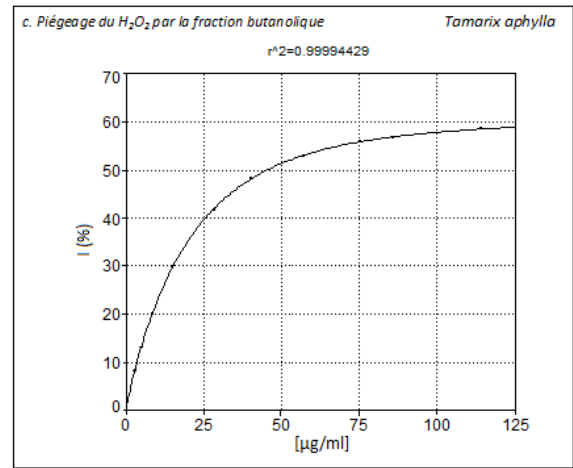
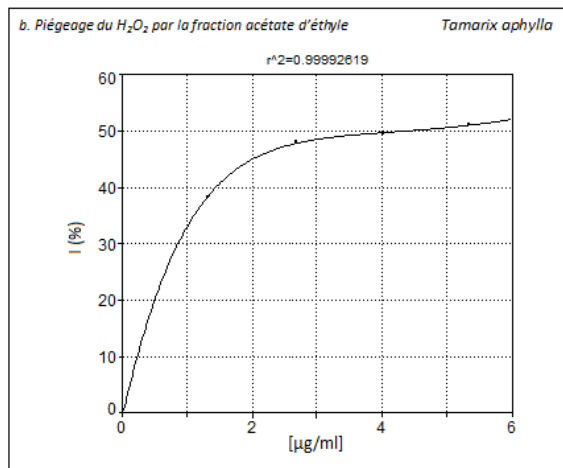
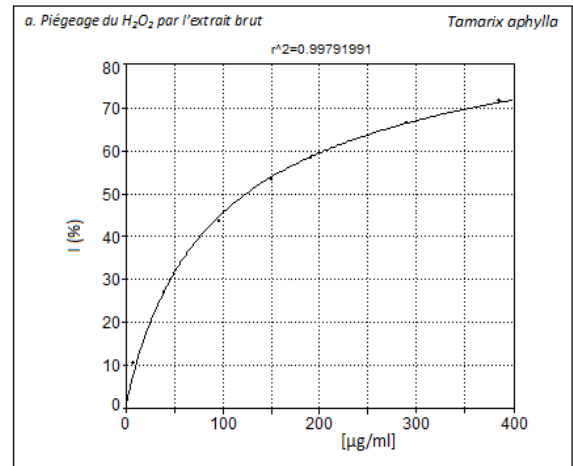
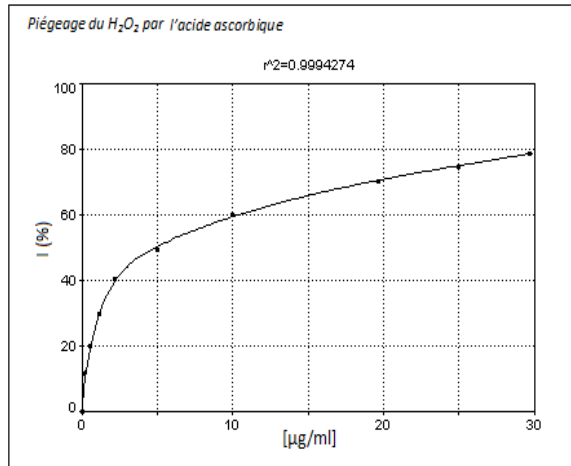
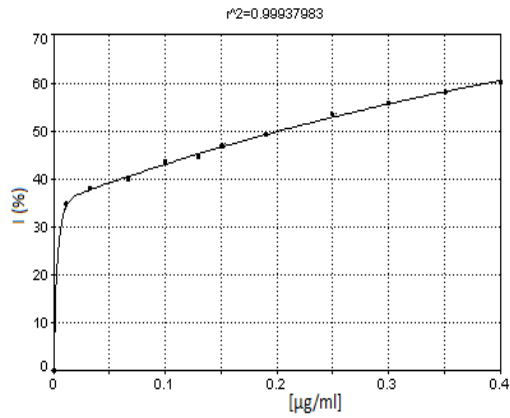


Figure 36 : Réduction de l'absorbance du DPPH en fonction de la dose des extraits/fractions

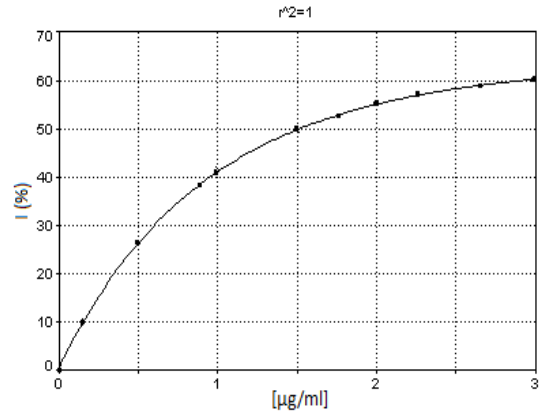
2. Piégeage du peroxyde d'hydrogène



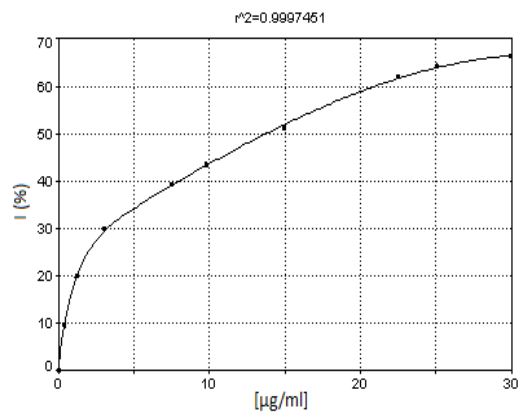
b. Piégeage du H₂O₂ par la fraction acétate d'éthyle *Tamarix pauciovulata*



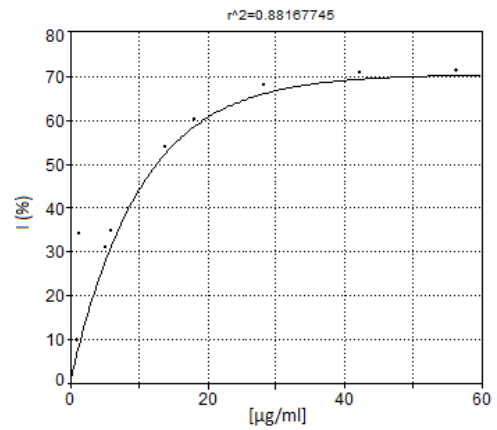
c. Piégeage du H₂O₂ par la fraction butanolique



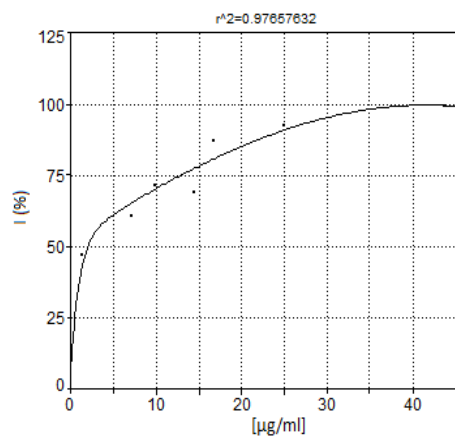
d. Piégeage du H₂O₂ par la fraction aqueuse *Tamarix pauciovulata*



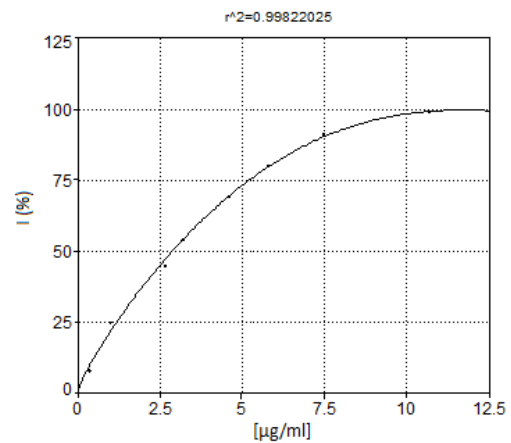
a. Piégeage du H₂O₂ par l'extrait brut *Thymelaea hirsuta*

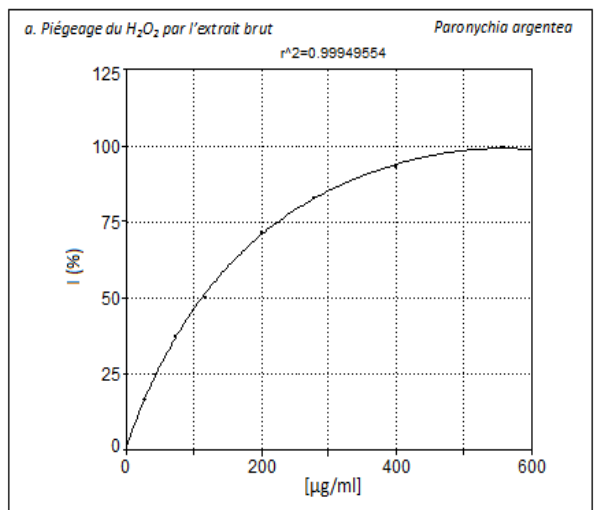
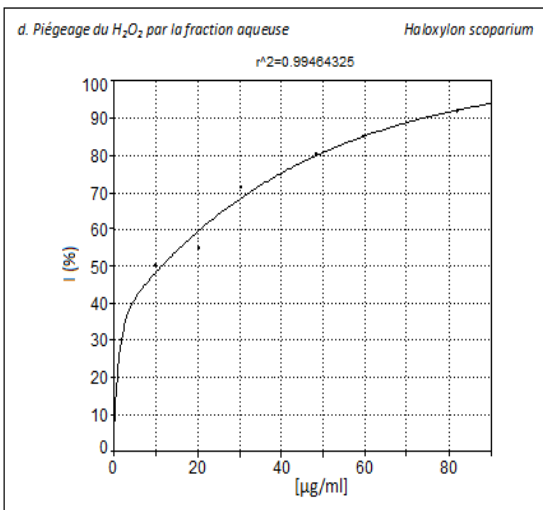
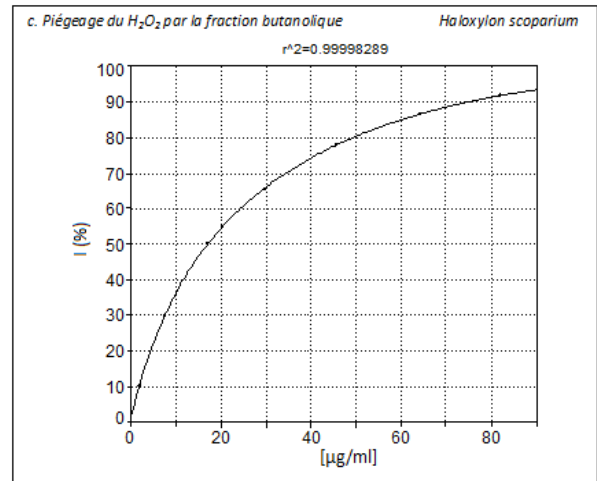
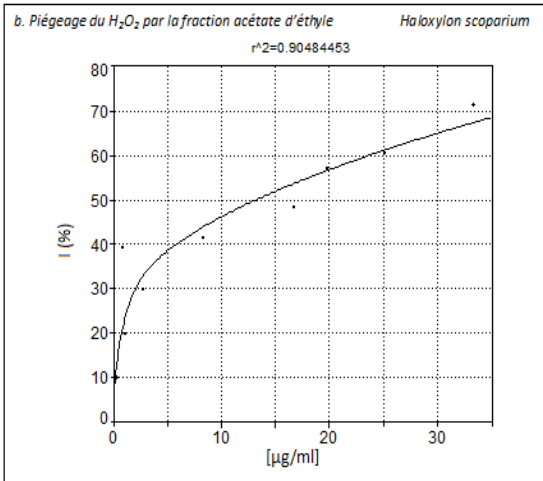
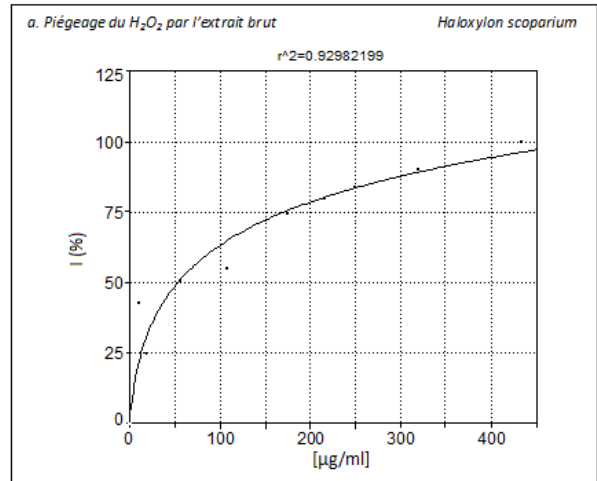
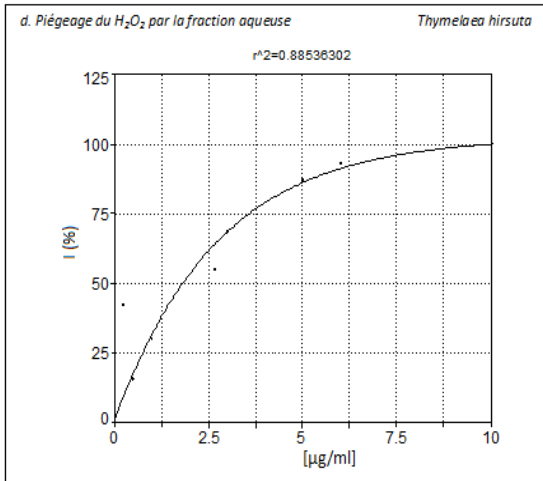


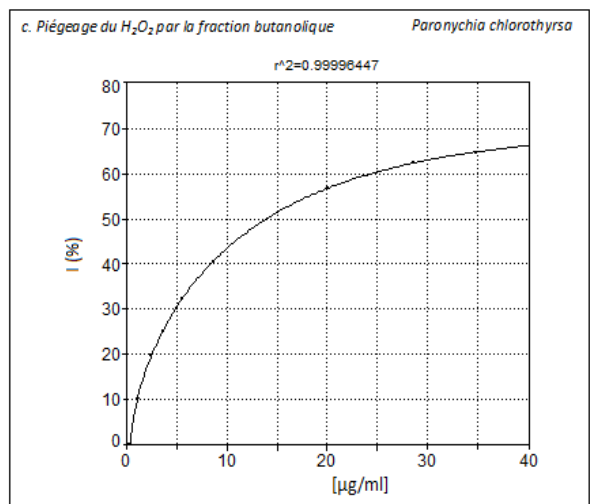
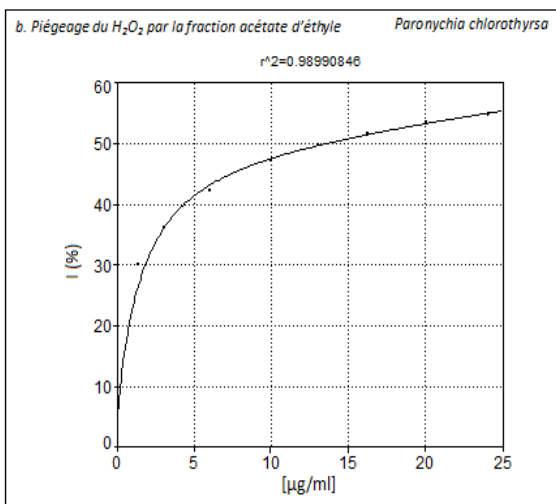
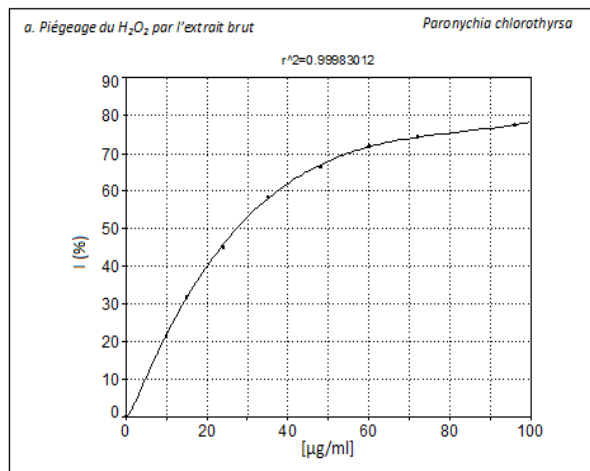
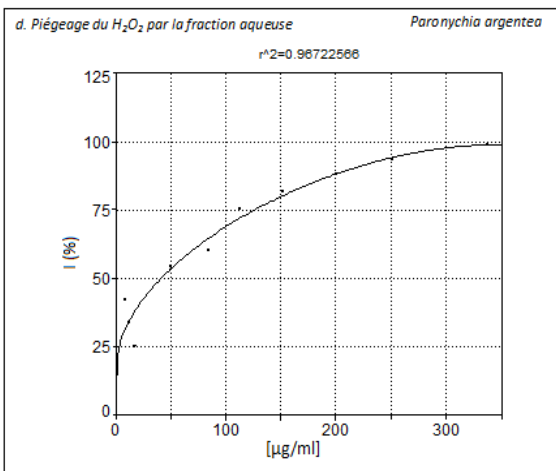
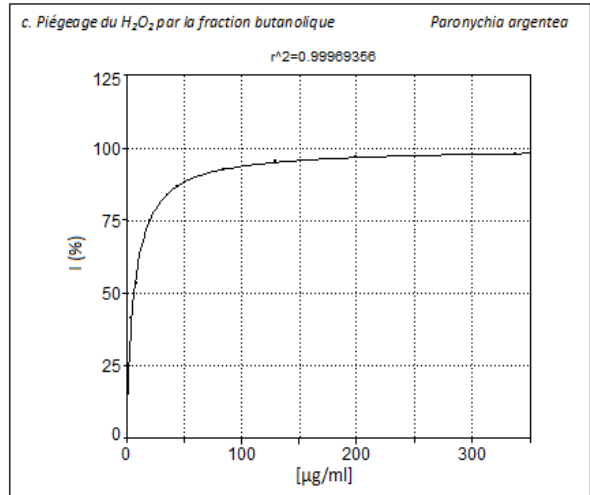
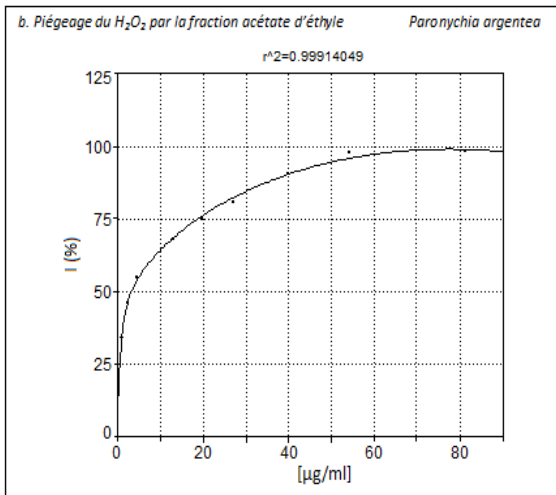
b. Piégeage du H₂O₂ par la fraction acétate d'éthyle *Thymelaea hirsuta*

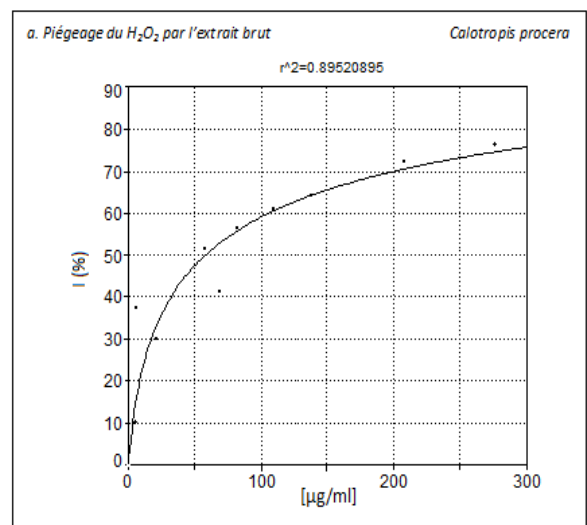
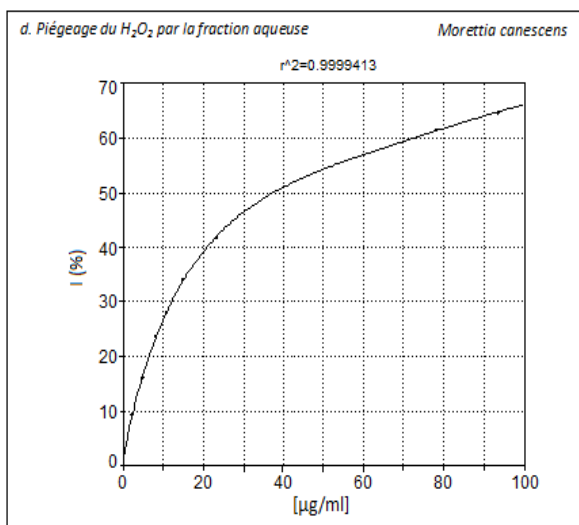
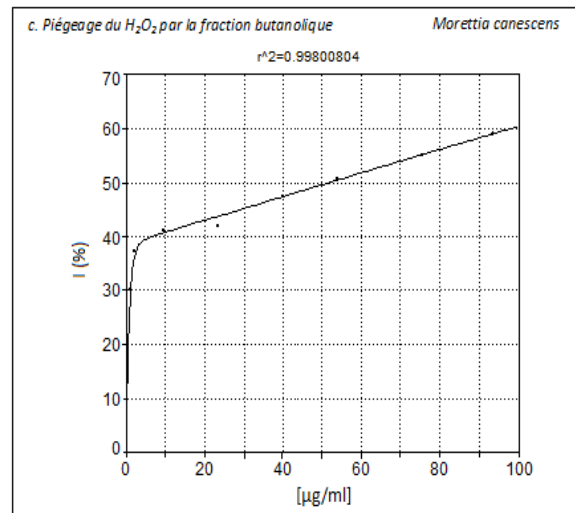
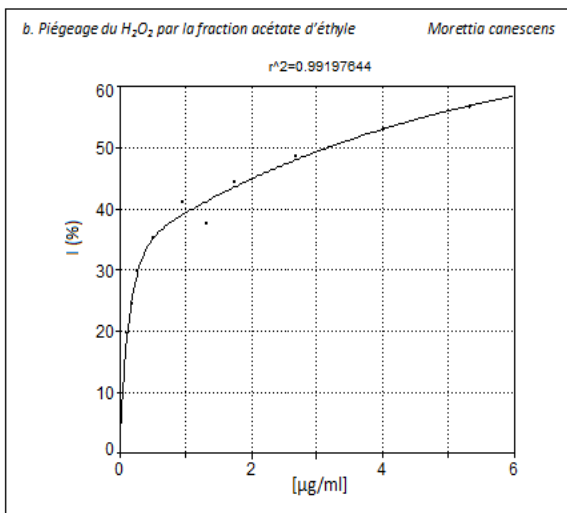
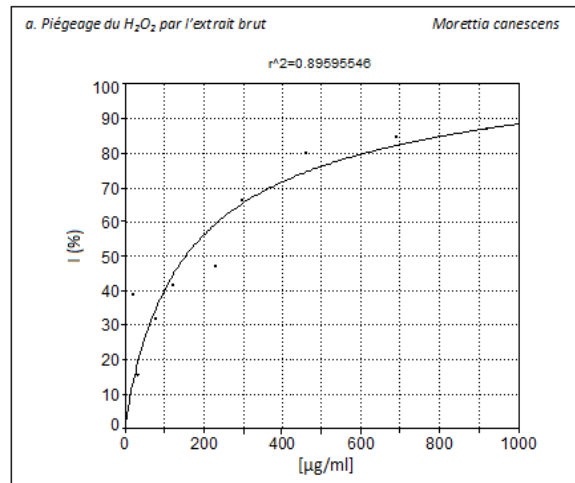
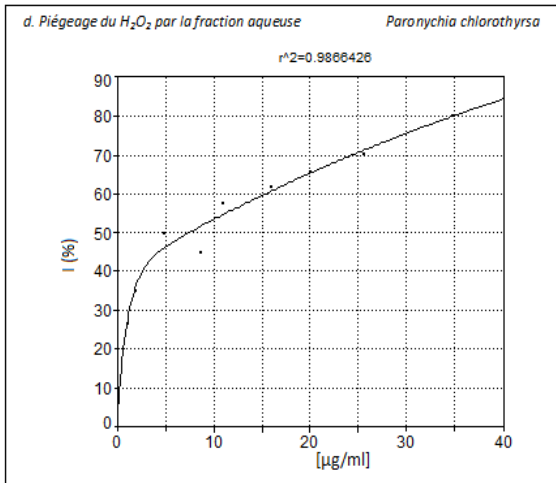


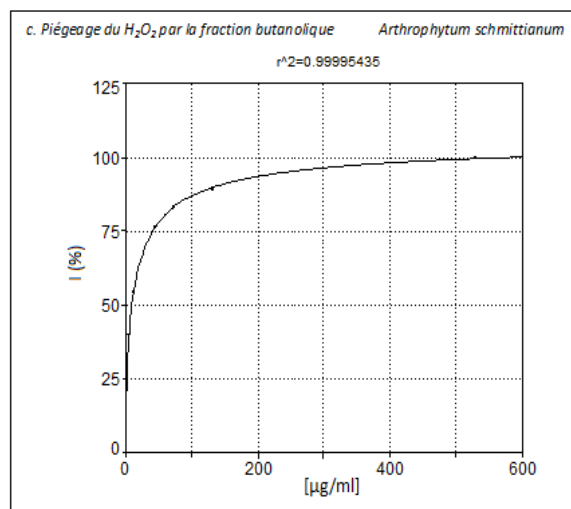
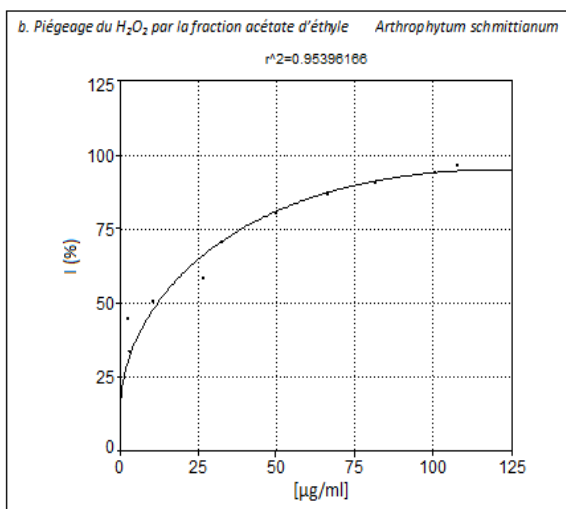
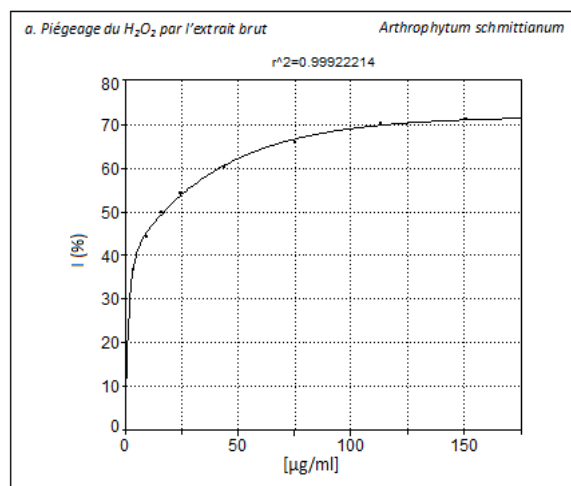
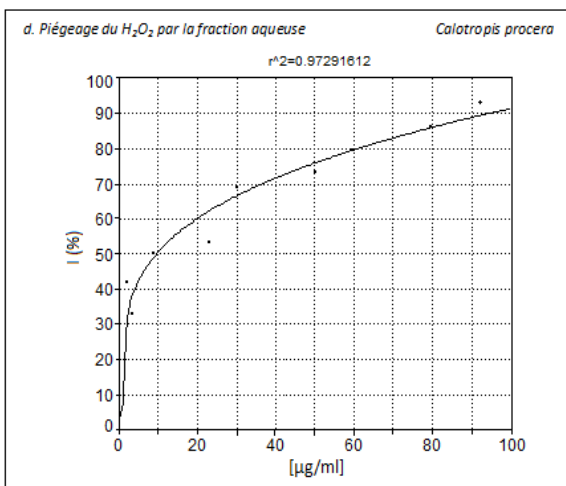
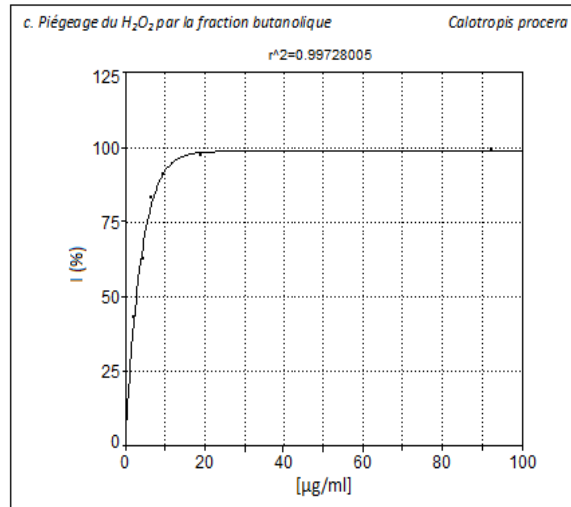
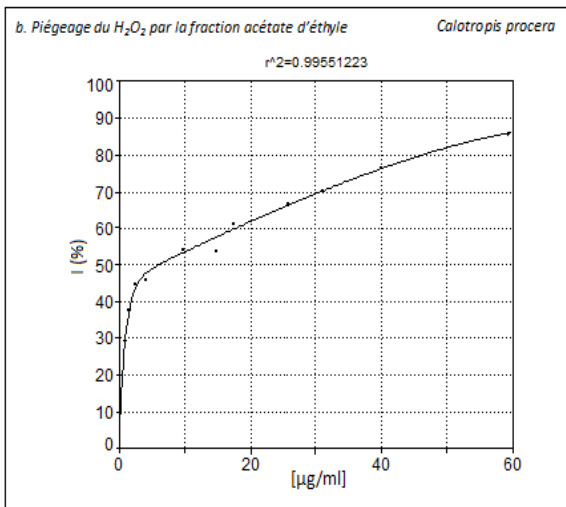
c. Piégeage du H₂O₂ par la fraction butanolique *Thymelaea hirsuta*











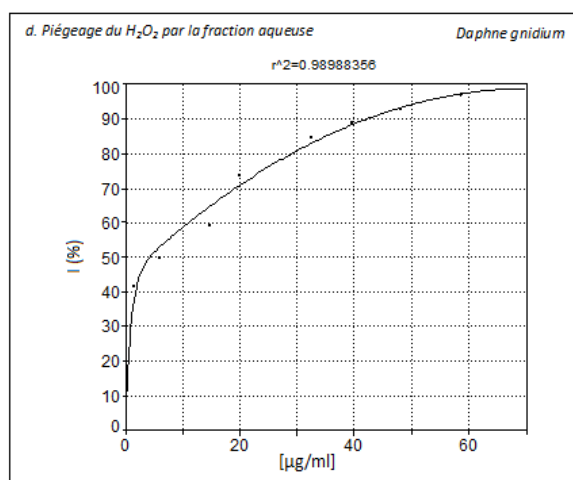
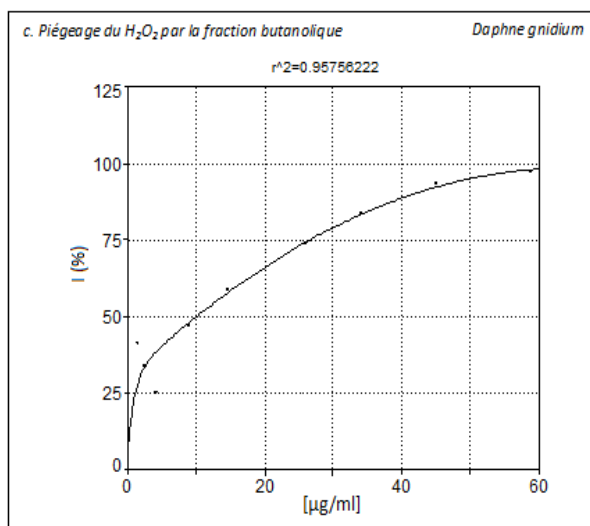
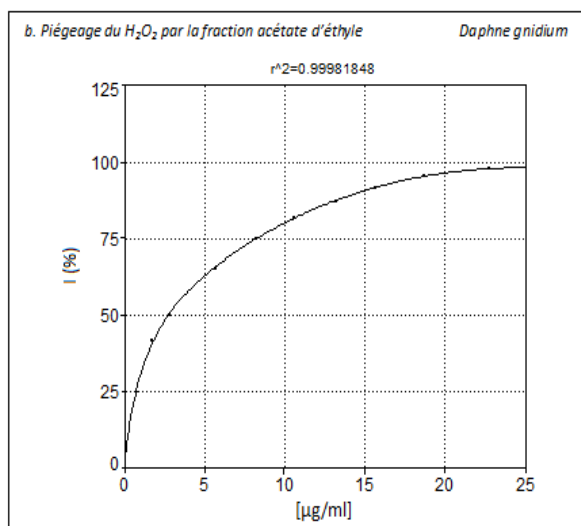
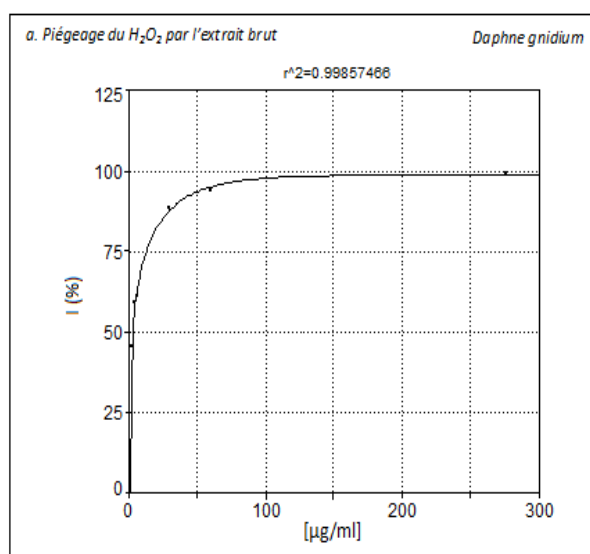
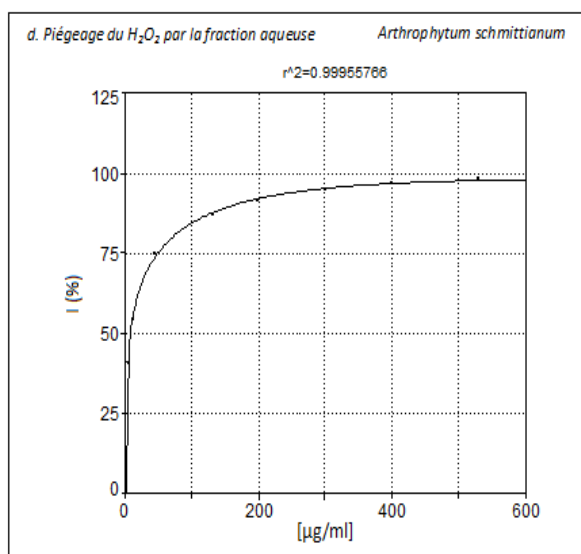


Figure 37 : Effets de la dose des extraits/fraction sur le taux de piégeage du H₂O₂

3. Pouvoir réducteur

Tableau 18 : Pouvoir réducteur des extraits, fractions et standard exprimée en % (dose test: 100µg/ml)

	EMB	FAE	FB	FQ
<i>T. aphylla</i>	3,93 ± 0,74	28,59 ± 0,65	72,77 ± 1,27	15,69 ± 1,70
<i>T.pauciovulata</i>	2,56 ± 0,72	50,64 ± 1,97	79,2 ± 2,02	12,55 ± 1,04
<i>T. hirsuta</i>	4,9 ± 0,29	65,33 ± 3,53	67,30 ± 2,17	5,64 ± 1,41
<i>H.scoparium</i>	6,27 ± 1,08	90,47 ± 5,04	90,89 ± 3,74	45,66 ± 4,07
<i>P. argentea</i>	9,26 ± 1,07	77,39 ± 2,12	60,82 ± 3,18	9,36 ± 2,13
<i>P. chlorothyrsa</i>	2,85 ± 0,58	59,51 ± 1,16	66,29 ± 3,01	3,49 ± 1,10
<i>M. canescens</i>	7,40 ± 0,98	96,23 ± 3,09	92,29 ± 2,75	9,16 ± 1,91
<i>C. procera</i>	3,03 ± 0,49	60,71 ± 1,93	45,72 ± 2,08	5,94 ± 1,08
<i>A. schmittianum</i>	6,05 ± 1,02	88,21 ± 4,01	81,99 ± 2,56	75,63 ± 3,07
<i>D. gnidium</i>	5,21 ± 0,45	46,38 ± 4,53	66,34 ± 3,04	6,55 ± 2,53
Standard: Trolox	66,12 ± 2,07			

4. Test de blanchiment du β-carotène

Tableau 19 : Activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition du blanchissement du β-carotène à la dose de 100µg/ml

	EMB	FAE	FB	FQ
<i>T. aphylla</i>	21,60 ± 5,02	96,52 ± 7,32	31,36 ± 3,19	38,33 ± 3,02
<i>T.pauciovulata</i>	28,92 ± 3,67	78,75 ± 6,9	21,25 ± 0,68	41,81 ± 3,8
<i>T. hirsuta</i>	29,97 ± 3,78	38,68 ± 3,4	10,10 ± 0,98	41,11 ± 5,02
<i>H.scoparium</i>	23,69 ± 4,55	34,49 ± 2,53	30,31 ± 3,05	39,02 ± 2,96
<i>P. argentea</i>	23,34 ± 2,98	36,24 ± 1,78	42,16 ± 5,01	45,99 ± 4,45
<i>P. chlorothyrsa</i>	30,66 ± 2,69	40,07 ± 4,09	44,25 ± 3,76	48,08 ± 4,62
<i>M. canescens</i>	31,01 ± 4,03	67,60 ± 7,09	41,11 ± 4,06	44,95 ± 3,5
<i>C. procera</i>	27,18 ± 3,1	35,19 ± 2,98	38,33 ± 3,07	46,34 ± 3,14
<i>A. schmittianum</i>	29,97 ± 1,16	44,25 ± 4,15	45,99 ± 5,13	60,28 ± 4,9
<i>D. gnidium</i>	23,34 ± 1,37	32,06 ± 2,89	37,98 ± 2,01	50,52 ± 3,45
Standard: BHA	71,78 ± 6,99			

5. Test d'inhibition de la Xanthine oxydase

Tableau 20: Effet inhibiteur des extraits, fractions et standard à la dose de 100µg/ml

	EMB	FAE	FB	FQ
<i>T. aphylla</i>	13,30 ± 2,03	66,25 ± 5,03	31,61 ± 4,78	24,96 ± 0,89
<i>T. pauciovulata</i>	2,42 ± 0,86	83,00 ± 4,12	37,30 ± 3,14	25,18 ± 1,09
<i>T. hirsuta</i>	15,12 ± 1,79	4,29 ± 1,01	38,89 ± 4,01	41,80 ± 3,06
<i>H. scoparium</i>	1,85 ± 0,67	26,11 ± 2,46	24,78 ± 2,12	25,99 ± 2,78
<i>P. argentea</i>	1,49 ± 0,56	0,75 ± 0,23	17,17 ± 1,19	17,35 ± 1,64
<i>P. chlorothyrsa</i>	5,66 ± 0,45	32,01 ± 4,54	35,67 ± 0,9	30,3 ± 3,02
<i>M. canescens</i>	1,48 ± 0,76	68,74 ± 5,59	26,54 ± 2,01	31,57 ± 3,34
<i>C. procera</i>	13,06 ± 2,09	12,18 ± 2,18	19,95 ± 0,57	22,38 ± 4,01
<i>A. schmittianum</i>	20,51 ± 3,12	8,66 ± 1,88	12,71 ± 0,34	18,01 ± 0,67
<i>D. gnidium</i>	8,40 ± 1,91	12,58 ± 1,59	20,29 ± 1,05	24,60 ± 2,22
Standard: Allopurinol	65,39 ± 1,37			

Tests d'identification des métabolites

1. Test des flavonoïdes

A 5 ml filtrat extrait hydroalcoolique solubilisé dans l'eau distillée, on ajoute 1 ml HCl concentré, puis on ajoute quelques tournures de magnésium. La coloration rouge ou orange indique la présence des flavonoïdes.

2. Test de tannins

L'ajout de 1ml de FeCl₃ 1% à 5ml extrait hydroalcoolique solubilisé dans l'eau distillée permet de détecter la présence ou non des tanins. Le virage vers la couleur bleue noirâtre indique la présence des tanins galliques, et la couleur brune verdâtre indique la présence des tanins catéchiques.

3. Test des alcaloïdes

On ajoute à 5ml solution extrait quelques gouttes de réactif de Dragendorff. Le précipité orange ou jaune orange indique la présence des alcaloïdes.

4. Test des hétérosides cardiotoniques

On prend 5ml de l'extrait, on ajoute 2ml acide acétique glacial additionné d'une goutte de solution de chlorure de fer 5%, puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'un anneau brun à l'interface indique la présence des hétérosides.

5. Test des stéroïdes et triterpènes

On ajoute à l'extrait méthanolique sec 1ml anhydride acétique, on ajoute 1ml chloroforme, puis on ajoute 1ml de H₂SO₄ concentré. L'apparition d'un anneau brun et une coloration violette de la couche surnageante signifie la présence des stéroïdes et triterpènes.

6. Test des composés cyanogènes

Dans un tube à essai, on met 5ml extrait méthanolique récupéré par l'eau distillée, on ajoute quelques gouttes de chloroforme. Le tube est recouvert par un bouchon portant une bandelette de papier filtre imprégnée de picrate de sodium, puis on place le tube à l'ébullition pendant 3 heures. Le virage de la couleur de la bandelette de jaune vers le rouge indique la présence des composés cyanogènes.

Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, des extraits méthanoliques de 10 plantes (*Tamarix aphylla* (L.) Karst., *Tamarix pauciovulata* J. Gay, *Paronychia argentea* (Lam.), *Paronychia chlorothyrsa* (Murb.) *Morettia canescens* (Boiss.), *Haloxylon scoparium* (Pomel), *Arthrophytum schmittianum* (Pomel) M. et W., *Thymelaea hirsuta* (Endl.), *Daphne gnidium* (L.) et *Calotropis procera* (Ait.)) ont été testés pour leurs activités antioxydantes, antifongique et antiaflatoxinogène. L'évaluation du pouvoir antioxydants par cinq méthodes a révélé *in vitro* des capacités antioxydantes chez tous les extraits et fractions et que les fractions de type acétate d'éthyle et butanolique sont les plus antioxydantes. Les activités les plus potentielles par le mécanisme de piégeage direct des radicaux libres par la méthode de DPPH sont prouvées par la fraction acétate d'éthyle d'*Haloxylon scoparium* Pomel (EC50 = 8.78 ± 0.8362 µg/ml). Sur le peroxyde d'hydrogène, la fraction acétate d'éthyle du *Tamarix pauciovulata* J. Gay était la plus active (EC50 = 0.20 ± 0.002 µg/ml), alors que le puissant pouvoir réducteur est observé avec *Morettia canescens* Boiss.; de l'ordre de 96.23% à la dose de 100µg/ml. A cette même dose l'activité antioxydante par la méthode du blanchiment du β-carotène et l'inhibition de l'activité enzymatique de la xanthine oxydase sont potentiellement exercées par les fractions acétate d'éthyle du *Tamarix aphylla* (L.) Karst (96.52%) et *T. pauciovulata* J. Gay (83%) respectivement. Les analyses par HPLC-UV nous ont permis d'identifier de l'acide syringique, des flavonols comme la quercétine et des catéchines dans les feuilles de l'espèce endémique *T. pauciovulata* J. Gay. Les résultats des tests antifongiques contre la moisissure potentiellement toxigène *Aspergillus flavus* ont montré que le *Daphne gnidium* est capable de prévenir la contamination fongique et la production des aflatoxines. Cet extrait inhibe à 100% la croissance mycélienne et réduit à 95.50% la production de la toxine AFB1.

Mots-Clés : plantes médicinales, extraits végétaux, activité antioxydante, activité antifongique, AFB1

Abstract

Methanolic extracts of 10 plants (*Tamarix aphylla* (L.) Karst., *Tamarix pauciovulata* J. Gay, *Paronychia argentea* (Lam.), *Paronychia chlorothyrsa* (Murb.) *Morettia canescens* (Boiss.), *Haloxylon scoparium* (Pomel), *Arthrophytum schmittianum* (Pomel) M. et W., *Thymelaea hirsuta* (Endl.), *Daphne gnidium* (L.) and *Calotropis procera* (Ait.)) have been tested for their antioxidant, antifungal and antiaflatoxic activities. Evaluation of antioxidant power by five methods showed *in vitro* antioxidant capacity in all extracts and fractions, but ethyl acetate and Butanolic fractions were the good antioxidants. The more potential activities measured by DPPH free radical scavenging method were showed by ethyl acetate fraction of *Haloxylon Scoparium* (EC50 = 8.78 ± 0.8362 µg/ml). On hydrogen peroxide, ethyl acetate fraction from *Tamarix pauciovulata* was the most active (EC50 = 0.20 ± 0.002 µg/ml), While the powerful reducing power was exhibited by ethyl acetate fraction from *Morettia canescens*, 96.23% at the concentration of 100µg/ml. At the same concentration, Inhibition of β-carotene bleaching and xanthine oxidase activity are potentially performed by ethyl acetate fractions of *Tamarix aphylla* (96.52%) and *Tamarix pauciovulata* (83%) respectively. Analysis by HPLC-UV has allowed identifying syringic acid, flavonols like quercetin and catechins in the leaves of the endemic species *Tamarix pauciovulata*. Results of antifungal tests against the toxigenic strain *Aspergillus flavus* showed that *Daphne gnidium* can prevent fungal contamination and production of aflatoxin. This extract exhibited 100% mycelial growth inhibition and 95.50% reduction of AFB1 toxin production.

Key-words: medicinal plants, plant extracts, antioxidant activity, antifungal activity, AFB1

المخلص

المستخلصات الميتانولية لعشر (10) نباتات طبية قد تم اختبارها لمعرفة قدراتها المضادة للأكسدة و لنمو الأعفان و لإنتاج السموم، للكشف عن القدرة المضادة للأكسدة تم إجراء التجارب بواسطة خمس طرق مختلفة، تبين من خلالها أن جميع المستخلصات و الأجزاء تمتلك القدرة المضادة للأكسدة و أن الأجزاء العضوية (البيوتانول و خلات الإيثيل) هي الأكثر فعالية، فالمستخلصات الأنشط بطريقة الجذور الحرة DPPH هي خلات الإيثيل ل *Haloxylon scoparium* (EC50=8.78±0.8362µg/ml). في ما يخص اقتناص بيروكسيد الهيدروجين، فإن خلات الإيثيل ل *Tamarix pauciovulata* هي الأكثر نشاطا (EC50=0.20±0.002µg/ml)، في حين القوة الاختزالية القسوى لوحظت عند خلات الإيثيل ل *Morettia canescens*، حيث سجلنا نسبة 96.23% عند الجرعة 100مكروغرام/مل. عند نفس التركيز بطريقة تثبيط تبيض الكاروتين (β-carotène) و نشاط إنزيم الزانثين أوكسيداز (xanthine oxydase)، فإن القدرة المضادة للأكسدة لمستخلصات خلات الإيثيل لنبات *Tamarix aphylla* (96.52%) و نبات *T. pauciovulata* (83%) على التوالي هي الأكثر فعالية. التحاليل المخبرية بواسطة الكروماتوغرافية عالية الأداء مع كاشف الأشعة ما فوق البنفسجية HPLC-UV قد سمحت لنا بالتعرف على المكونات الفينولية الفعالة في مستخلص أوراق *Tamarix pauciovulata* و هي حمض سيرينجيك و flavonols مثل كرسيتين quercétine و الكاتشين catéchines. النتائج المحصل عليها مخبريا ضد العفن *Aspergillus flavus* أظهرت أن مستخلص *Daphne gnidium* قادر على منع التلوث بالفطريات و إنتاج الأفلاتوكسين، حيث أن هذا المستخلص قام بتثبيط كلي لنمو الفطر و خفض إنتاج السم AFB1 إلى 95.50%.

الكلمات الرئيسية: النباتات الطبية، المستخلصات النباتية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للفطريات، AFB1