

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université AbouBekr Belkaïd-Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoires de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie,

Option « Biochimie appliquée »

Thème

**Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante
d'extraits de *Pituranthos scoparius* (Guezzah) par la méthode de
réduction du fer : FRAP**

Présenté par :

M^{elle} TAHRAOUI Fatima Zohra

Membre de jury :

M^{elle} BENARIBA N.	Maitre de conférences	Présidente	Université de Tlemcen
M^r AZZI R.	Maitre de conférences	Examineur	Université de Tlemcen
M^r DJAZIRI R.	Professeur	Promoteur	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2013/2014

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.

J'adresse mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Et c'est avec une immense reconnaissance que j'adresse mes vifs remerciements à mon promoteur Monsieur DJAZIRI Rabah Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la terre et de l'Univers, université Aboubekr Belkaid Tlemcen, pour m'avoir permis d'effectuer ma thèse sous sa direction et m'a offert la possibilité de travailler sur un sujet passionnant, ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de diriger cette thèse pour ses connaissances scientifiques.

Ce travail a été effectué dans le laboratoire Antibiotiques, Antifongiques ;physico-chimie, Synthèse et Activité biologique à Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen .

Je tiens tout particulièrement à remercier la directrice de laboratoire Madame BOUCHERIT .Z, Professeure à l'Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen de m'avoir accueilli et mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier aussi mademoiselle BENARIBA Nabila, Maitre de conférences à la faculté des Sciences de la nature et de la vie, Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université Aboubekr Belkaid-Tlemcen, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider ce jury, qu'elle trouve ici mes hommages les plus respectueux.

Je suis très honorée que Monsieur AZZI.R Maître de conférences à la faculté des Sciences de la nature et de la vie, Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université Aboubekr Belkaid-Tlemcen, ait accepté d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements vont également à Mlle ADIDA Houria , doctorante au département de Biologie , faculté des Sciences de la nature et de la vie, Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université Aboubekr Belkaid-Tlemcen ; qui a fait preuve d'une grande disponibilité et de sa gentillesse à mon égard , et surtout de son aide et ses conseils sans faille.

Enfin, je tiens également à remercier toute les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

C'est avec mon énorme plaisir, un cœur ouvert et une joie immense, que je dédie ce modeste travail tout d'abord à mes parents pour leurs amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Ici ma sincère reconnaissance et mon amour

A ma sœur Hayet qui n'a jamais cessé de m'encourager pour qui je souhaite que du bonheur et la réussite pour ses études.

A mes très chers frères Sofiane, Salim, et Djawed merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A tous mes collègues de la promotion avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années.

A toute personne qui me connaisse et me considère comme une amie.

Aux personnes qui m'ont encouragé et motivé, qui n'ont cessé d'œuvré pour ma réussite et pour mon bonheur

Liste des abréviations

Ac asc :	Acide Ascorbique
Ac :	Acétone
ATCC :	Américan Type Culture Collection
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
DO :	Densité optique
EQC :	Equivalent catéchine
FeCl₃ :	Chlorure de fer
GAE :	Acide gallique
H₂SO₄ :	Acide sulfurique
HCl :	Acide Chlorhydrique
Hgcl₂ :	Chlorure de mercure II
I₂ :	Diode
ISBN :	International Standard Book Number
KI :	Iodure de potassium
MeOH :	Méthanol
Mg :	Magnésium
Na₂HPO₄ :	Sodium de phosphate dibasique
NaH₂PO₄ :	Phosphate monosodique
NH₄OH :	Ammoniaque
Ps(A) :	Partie aérienne
Ps(R) :	Partie racine
Rdmt :	Rendement

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principales espèces oxygénées réactives	4
Tableau 2 : Quelques classes des flavonoïdes	9
Tableau3 : Rendement (%) des extraits obtenus par extraction sous reflux des deux parties de la plante <i>Pituranthos scoparius</i>	30
Tableau4 : Rendement (%) des extraits obtenus par macération des deux parties de plante <i>Pituranthos scoparius</i>	31
Tableau5 : Rendement (%) des extraits des flavonoïdes par macération E/MeOH 72h des deux parties de la plante <i>Pituranthos scoparius</i>	31
Tableau6 : Résultats des tests phytochimiques d'extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> obtenus par macération.....	32
Tableau7 : résultats des tests phytochimiques d'extraits de <i>Pituranthos scoparius</i> obtenus par l'extraction Sous reflux.....	34
Tableau8 : résultats des tests phytochimiques de différentes fractions de <i>Pituranthos scoparius</i>	35
Tableau 9 : Résultats du dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits obtenus par macération	37
Tableau 10 : résultats du dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits obtenus par reflux.....	38
Tableau 11 : résultats du dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux de différentes fractions de <i>Pituranthos scoparius</i>	38

Liste des figures

Figure 1 : Structure de base des flavonoïdes	08
Figure 2 : Exemple d'un tanin hydrolysable (pentagalloylglucose)	10
Figure 3 : Exemple d'un tanin condensé (polymère de procyanidine)	11
Figure 4 : structure de base de coumarine	11
Figure 5 : structure de base des quinones	12
Figure 6 : structure de base la molécule isoprène	13
Figure 7 : <i>Pituranthos scoparius</i>	17
Figure 8 : Protocole d'extraction des flavonoïdes	22
Figure 9 : Courbe étalon de l'acide gallique	36
Figure 10 : courbe étalon de la catéchine	36
Figure 11 : Pouvoir réducteur des extraits de la partie racine de <i>Pituranthos scoparius</i> obtenus par macération.....	40
Figure 12 : Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de <i>Pituranthos scoparius</i> par macération	40
Figure 13 : Pouvoir réducteur des extraits de la partie racine de <i>Pituranthos scoparius</i> obtenus par reflux	41
Figure 14 : Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de <i>Pituranthos scoparius</i> obtenus par reflux.....	42
Figure 15 : Pouvoir réducteur des fractions de la partie aérienne de <i>Pituranthos scoparius</i>	43
Figure 16 : Pouvoir réducteur des fractions de la partie racine de <i>Pituranthos scoparius</i>	43

Table des matières

Première partie : Synthèse bibliographique

Introduction générale	02
1. Les espèces oxygénées réactives	04
2. Stress oxydant et pathologie	05
3. Les antioxydants synthétiques et leurs effets secondaires	05
4. La phytothérapie	06
5. Les métabolites secondaires	07
5.1. Les composés phénoliques	07
5.1.1. Les Flavonoïdes	08
5.1.2. Les tannins	10
5.1.3. Les coumarines	11
5.1.4. Les quinones	11
5.2. Les alcaloïdes	12
5.3. Les Terpénoïdes	12
6. Les antioxydants naturels	13
6.1- Système endogènes	13
6.1.1. Système enzymatique	13
a. Le superoxyde dismutase (SOD)	13
b. La catalase (CAT).....	13
c. La glutathion peroxydase (GPx)	14
6.1.2. Système non enzymatique	14
a. Le Coenzyme Q10	15
6.2. Système exogènes	15
a. Les oligo-éléments	15
b. les vitamines	15
1-La vitamine E	15
2-La vitamine C	15
c. Les caroténoïdes	15
6.2.1. Les composés phénoliques.....	15
7. Plantes à activité antioxydantes	16
8. Classification botanique	17

9. Origine et répartition géographique	17
10. Description botanique du Gezzah	17
11. Récolte	18
12. Propriétés thérapeutiques et emplois.....	18

Deuxième partie : Matériel et Méthodes

1. Etude phytochimique	20
1.1. Préparation des extraits bruts	20
1.2. Préparation des extraits des polyphénols.....	20
1.3. Calcul du rendement	23
1.4. Tests phytochimiques	23
1.5. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux	25
2. Etude de l'activité antioxydante	27

Troisième partie : Résultats et Discussion

1. Rendement des extraits	30
2. Les tests phytochimiques	32
3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux	36
4. L'étude de l'activité antioxydante	39
- Conclusion générale	45
- Références bibliographiques	47
- Annexes	60

Synthèse bibliographique

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a toujours utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, elles constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques. Ainsi, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Jaccot et Campillo., 2003**).

Depuis l'avènement de la chimie analytique au **XVIII^{ème}** siècle, il devenait possible d'isoler des principes actifs à partir de plante, en améliorant la connaissance de leur structure, a fait progressivement se séparer et parfois s'opposer à la phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et drogues dont la pharmacologie était mieux connue à l'exemple de l'aspirine, la quinine etc. (**Bahorun., 1997**).

Les maladies non transmissibles sont actuellement la principale cause de décès dans le monde. Sur les 57 millions de décès survenus dans le monde en 2008, 36 millions étaient dus aux maladies métaboliques tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neuro-dégénératives ainsi que le diabète (**Alwan et coll., 2010**). L'origine de la plupart de ces pathologies est multifactorielle, mais se caractérise tous au cours de leur apparition et leur développement par un déséquilibre de la balance pro-oxydant / antioxydant aboutissant à un stress oxydatif nuisibles aux cellules de l'organisme dû à une production excessive de radicaux libres (**Wada et Ou., 2002**).

Actuellement, un grand intérêt est accordé aux composés naturels issus de plantes et possédants des propriétés antioxydantes et qui sont intensivement étudiés, ils intéressent aussi bien les scientifiques que les industriels des domaines de l'agro-alimentaire, cosmétiques, pharmaceutiques etc. Le nombre d'articles publiés, les concernant, en témoigne, en effet 6000 articles et 20 livres ont été publiés les premiers mois de l'année 2012 seulement. (**Stefano et coll., 2012**).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe, la hamada et les oasis sahariennes. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents

Synthèse bibliographique

domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique et phytothérapie (**Duraffourd et coll., 1997**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante d'extraits d'une plante endémique saharienne, *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook vis-à-vis le nom de « Guezzah » obtenus avec différentes méthodes d'extraction et organes de plante.

1. Les espèces oxygénées réactives :

Les espèces oxygénées réactives (EOR), font partie des radicaux libres, sont dotées de propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques (lipides, protéines, ADN, glucose, ...).

Ils sont considérés comme des agents toxiques responsables de dysfonctions et de mort cellulaires, il est actuellement admis que les EOR sont de véritables messagers secondaires impliqués dans l'expression et la régulation des fonctions de prolifération et de mort cellulaire. De plus, ils sont des médiateurs inflammatoires impliqués dans diverses pathologies neurodégénératives ou vasculaires telles que l'athérosclérose ou l'hypertension (**Dhalla et coll., 2000**). Les cellules génèrent divers types d'EOR dans les systèmes biologiques.

Tableau 1 : Les principales espèces oxygénées réactives (**Bartosz., 2003**).

Radical	Formule
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Anion superoxydes	O ₂ ^{•-}
Hydroxyle	OH•
Peroxyle	ROO•
Hydroperoxydes	ROOH
Alcoxyles	RO•
Oxygène singulet	¹ O ₂
Oxyde nitrique	NO•

En effet, la pollution (oxydes d'azote...), l'absorption d'alcool ou de certains médicaments, l'exposition prolongée au soleil et le tabagisme, sont également des facteurs qui génèrent l'apparition des EOR (**Patel et coll., 2000 ; Griendling et coll., 2000**).

In vivo les EOR sont principalement produits par des sources endogènes, telles que les chaînes de transport des électrons d'origine mitochondriale (le métabolisme mitochondrial par réduction de l'oxygène). (**Bouayed., 2007**), les peroxysomes et le système de cytochrome P-450 (**Kohen et Nyska., 2002**).

Par ailleurs, L'inflammation est une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées. Ainsi, certaines réactions enzymatiques telles que la NADPH oxydase, la lipoxygénase et la xanthine oxydase sont susceptibles de surpasser

nos défenses antioxydantes naturelles (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase et autres enzymes antioxydantes), provoquant ainsi des dégâts cellulaires. Ce déséquilibre nous mènent au stress oxydatif (**Yung-Zhong et coll., 2002 ; Servais., 2002 ; Favier., 2003 ; Boutabet., 2007**).

2. Stress oxydant et pathologie :

De manière générale, le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la balance des pro-oxydants et les systèmes de défenses (antioxydants), Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants, ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma et rayons ultraviolets, ozone...) (**Pincemail et coll., 2002 ; Sorg., 2004 ; Koehilin ., 2006**). Avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (**Halliwell et Whiteman., 2004; Valko et coll., 2006**) allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète.

Le rôle du stress oxydant à été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (**Lehucher et coll., 2001 ; Sorg., 2004 ; Valko et coll., 2007**).

3. Les antioxydants de synthèse et leurs effets secondaires :

Les antioxydants de synthèses sont introduits dans toutes les formulations contenant des corps gras insaturés et parfois aussi dans des phases aqueuses ou se trouvent des extraits végétaux riches en oxydases (**Perrin., 1992**).

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA) (E320), butylhydroxytoluène (BHT) (E321) et des esters de l'acide gallique tel que gallate propylée (PG) (E310), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (**Lisu et coll., 2003**). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (**Yu et coll., 2000**). En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques (**Barlow., 1990**). Ainsi Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat (**Ito et coll., 1985**).

Par conséquent, et vue le désir des consommateurs de retourner à l'utilisation des produits naturels, la recherche des sources naturelles d'antioxydants à provoquer l'intérêt des grands laboratoires spécialisés (**Frankel., 1993**).

4. La phytothérapie :

L'histoire de la phytothérapie est liée à celle de l'humanité, car dans toutes les cultures il faut toujours compté sur les valeurs thérapeutiques des plantes pour se soigner (**Clément., 2005**). En effet sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (**Millogo et coll., 2005**).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis **XVIII^{ème}** siècle, avec l'avènement de la chimie analytique, il est devenu possible d'extraire et d'isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre les maladies paludisme (**Iserin et coll., 2001**). Au début de **XXI^o ème** siècle. L'évolution des connaissances scientifiques, médicales et pharmacologiques conduit sur un chemin fort éloigné de ces remèdes. Les progrès de la chimie et de la pharmacologie permis d'avoir des produits de plus en plus puissants, de plus en plus ciblés, mais avec leurs effets secondaires possibles(**Christian et coll., 2002**).

La phytothérapie fait partie de la médecine traditionnelle appelée aussi médecine alternative ou parallèle. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques (**Iserin et coll., 2001**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et coll., 2007**).

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser parfois la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (**Iserin et coll., 2001**). Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans., 2007**). Selon OMS (Organisation Mondiale de la Santé) plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours au traitement traditionnel pour faire face aux problèmes de la santé et de soins primaires (**Farnsworth., 1994**).

5. Les métabolites secondaires :

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (Ferrari J., 2002). 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**. Ils constituent un groupe de produits naturels qui sont exploré pour des propriétés très diverses : antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses etc... (Epifano *et coll.*, 2007).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (Hartmann., 2007). Ils sont classés en plusieurs composants chimiques dont les plus répandus sont : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes (Cuendet., 1999 ; Vermerris., 2006).

5. 1. Les composés phénoliques:

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate (Hennebelle., 2006).

Plusieurs milliers ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles, auxquelles est directement lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton.,1999 ; Macheix *et coll.*, 2005).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) à des proportions variables. Les plus représentés sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tanins (Lugasi *et coll.*, 2003).

Les composés phénoliques font l'objet de nombreuses recherches en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussés en raison de leurs diverses propriétés et rôles biologiques :

- **Chez les végétaux :** Les composés phénoliques participent à deux principaux processus de l'activité des plantes : la photosynthèse et la respiration. De plus, ils interviennent dans d'autres processus tels que : la croissance, la germination, la morphogénèse des tiges et dans le processus de lignification (Merghem., 2009). Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en

particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes, lutte contre les prédateurs... (Moheb *et coll.*, 2011).

➤ Chez l'homme

Les polyphénols présents dans les aliments consommés sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines de faible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire et de stabiliser les cellules immunitaires (Martin et Andrantsitohaina., 2002). Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, des anti- agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des antitumoraux (Hanhineva., 2010).

5.1.1. Les Flavonoïdes :

Ce sont des métabolites secondaires ubiquitaires des plantes. Plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été identifiés à ce jour. Ce sont des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Milane., 2004 ; Lhuilier., 2007). Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, aurones, flavonols), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets.

On distingue 5 groupes majeurs de flavonoïdes chez les plantes (Larkins et Wynn., 2004) :

- les flavones
- les flavonols (réputés les plus antioxydants) et les procyanidines
- les anthocyanines
- les hydroxycinnamates (abondants dans les fruits)
- les flavanones.

Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (Yao *et coll.*, 2004).

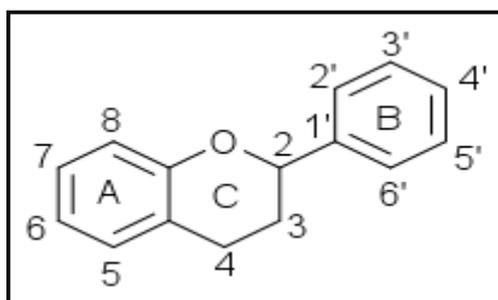
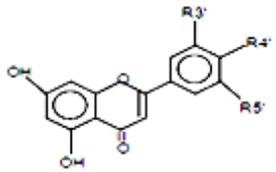
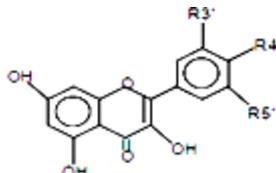
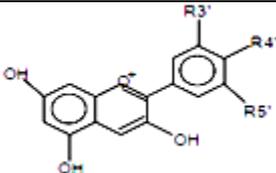
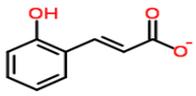
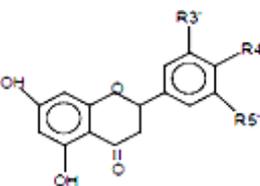


Figure 1 : Structure de base des flavonoïdes (Lhuilier., 2007).

Synthèse bibliographique

Tableau 2 : Quelques classes des flavonoïdes (Narayana *et coll.*, 2001 ; W- Erdman *et coll.*, 2007).

Groupe de flavonoïde	Structure	Caractéristique
les flavones		Le groupe le plus abondant des composés phénoliques. Ils se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3. Ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration.
les flavonols		Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
les anthocyan- -ines		Représentent le groupe le plus important des substances colorées. Ces pigments hydrolysables contribuent à la coloration des angiospermes.
Les hydroxy- -cinnamates		Sont de puissants antioxydants, mais n'ont pas d'impact sensoriel sauf lorsque oxydés, ils peuvent former des pigments bruns qui ont finalement précipité.
Les flavanones.		Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3. Le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.

Ces composés sont connus pour être de puissants antioxydants, leurs mécanismes d'action peut être directe ou indirecte : piégeant les radicaux libres réactifs et les chélateurs d'ions métalliques, sont les effets directs les plus importants, réduction de la production de radicaux libres par inhibition d'enzymes et la régénération d'antioxydants liés à la membrane tels que l' α tocophérol sont des exemples de mécanismes indirects (Rita et Farit., 2009).

Synthèse bibliographique

Ils ont un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la phospholipase etc...), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (Anderson *et coll.*, 1996 ; Cowan., 1999 ; Yao *et coll.*, 2004).

5.1.2. Les tannins :

Ils sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau. Ils présentent les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et les autres protéines (Stevanovic., 2005 ; Merghem., 2009).

D'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tannins sont distingués: les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

- **Les tanins hydrolysables** : sont des dérivés de l'acide gallique ; ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (Figure 2). Le sucre est généralement le D-glucose, l'acide phénol et soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton., 1993 ; Cowan., 1999).

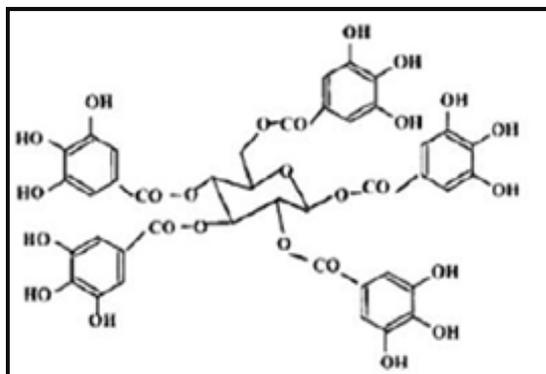


Figure 2 : Exemple d'un tanin hydrolysable (pentagalloylglucose) (Ignat *et coll.*, 2011).

- **Les tanins condensés** : sont distingués en procyanidine (dérivé de catéchine, épicatechine et leurs esters galliques) et en prodelphinidines (dérivés de gallocatéchine, épigallocatéchine et leurs esters galliques) (valls *et coll.*, 2009 ; Ignat *et coll.*, 2011).

Les tanins sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (Kansole., 2009).

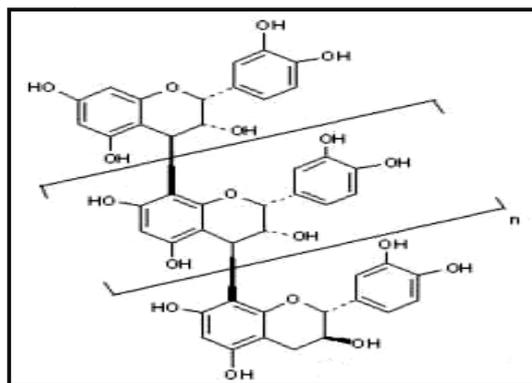


Figure 3 : Exemple d'un tanin condensé (polymère de procyanidine) (Ignat *et coll.*, 2011).

5.1.3. Les coumarines :

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranone-2 (**Figure 4**). Certaines familles d'Angiospermes élaborent des structures très variées : Fabaceae, Asteraceae et surtout Apiaceae et Rutaceae chez lesquelles sont rencontrées les plus complexes (Brenrton., 1993).

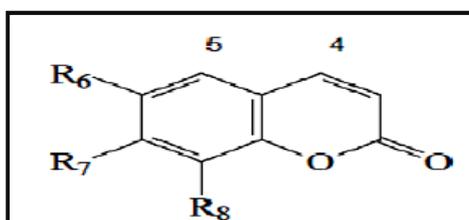
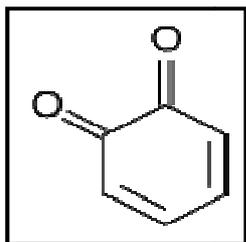


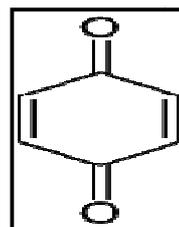
Figure 4 : structure de base de coumarine (Igor., 2002).

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus ; se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Igor., 2002). Ils sont connus par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives ; ils sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Gonzalez et Estevez., 1997), se sont des toniques veineux aux propriétés anticoagulantes (au niveau du cœur) (Lucienne., 2010).

5.1.4. Les quinones : ou la benzoquinone ($C_6H_4O_2$), C'est l'un des deux isomères de la cyclohexadienedione. L'ortho-benzoquinone est la 1,2-dione, alors que la parabenzoquinone, est la 1,4-dione.



1,2-Benzoquinone



1,4-Benzoquinone

Figure 5 : structure de base des quinones (**Peter et coll., 2003**).

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole., 2009**). Elles assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les être vivants, en particulier le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes (**Macheix et coll., 2005**).

5.2. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de plusieurs Réactifs (**Kansole., 2009**).

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme déprimeurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine etc...). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne) (**Kansole., 2009**).

5.3. Les Terpénoïdes :

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (**Figure 6**) (**Bruneton., 1999 ; Harbone., 1998**).

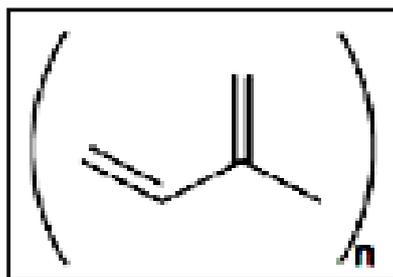


Figure 6 : structure de base la molécule isoprène (**Malecky., 2006**).

Ils existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits. Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène (C₅H₈). ils sont classés en fonction de leurs unités isoprène (**Peter et coll., 2003**). On dénombre aujourd'hui 600 classes utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et cosmétique (**Lucienne., 2010**).

6. Les antioxydants naturels :

6.1-Système endogènes :

6.1.1. Système enzymatique :

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika et coll., 2004**).

- **Le superoxyde dismutase (SOD)** : Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en oxygène.



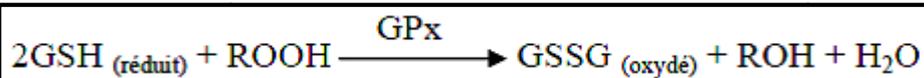
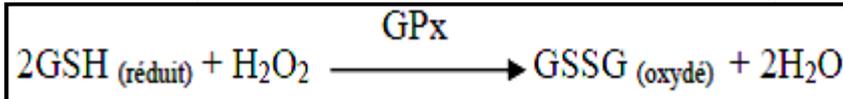
Chez l'être humain, il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (**Landis et Tower, 2005**).

- **La catalase (CAT)** : Cette enzyme est localisée essentiellement dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Sorg., 2004**).

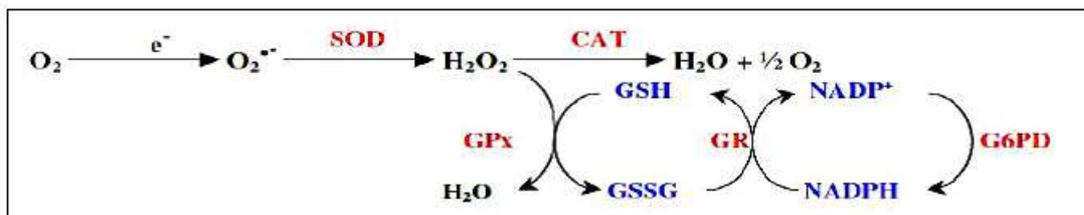
Synthèse bibliographique



- **La glutathion peroxydase (GPx)** : Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en glutathion-disulfure (GSSG) (Valko *et coll.*, 2006).



La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur. Cette réaction produit du NADP⁺ qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase) :



Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du O₂^{•-} et du H₂O₂, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et coll.*, 2001).

6.1.2. Système non enzymatique :

Ils sont capables de désactiver les formes réactives de l'oxygène. Elles agissent avec : **la glutathion** (Glu-Cys-Gly), l'Acide urique (produit d'oxydation des purines), protéines (ex : transferrin lie les ions métalliques), et la bilirubine (Favier., 2003).

Le Coenzyme Q10 : est présent dans toutes les membranes, en particulier à la face interne et dans les mitochondries. Il protège les membranes de l'oxydation et aide à recycler la vitamine E (Sole., 2002).

6.2. Système exogènes :

Ils sont apportés par l'alimentation où se trouvent les oligo-éléments et les vitamines :

a. Les oligo-éléments:

Sont une classe de nutriments et éléments minéraux exemples le Sélénium, zinc, silicium...etc.

b. Les vitamines :

➤ La vitamine E (l'alpha tocophérol) :

Elle est présente dans tous les organes, à l'exception du cerveau. Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles. Elle corrige également les conséquences d'un déficit en sélénium, et prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose. (Maydani., 2000).

➤ La vitamine C (l'acide ascorbique) :

Est l'antioxydant hydrosoluble majeur, réagit rapidement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, ou encore avec le peroxyde d'hydrogène. Elle est indispensable par sa capacité à réduire d'autres antioxydants oxydés comme la vitamine E ou les caroténoïdes (Pourrut., 2008). La vitamine C est abondante dans les agrumes, les fruits rouges, les pommes (Benbrook., 2005).

c. Les caroténoïdes :

Sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules notamment le lycopène et le B-carotène, précurseurs de la vitamine A, ayant un effet antioxydant. Ils sont présents dans les carottes, les fruits rouge et jaunes, les légumes verts et les tomates (Marc et coll., 2004).

6.2.1. Les composés phénoliques :

Le recours aux plantes médicinales aux propriétés antioxydantes constitue un des plus intéressants axes de recherche à explorer. De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment ces substances :

Les flavonoïdes peuvent réduire les radicaux libres très oxydés comme les superoxydes et les peroxydes ou les radicaux hydroxyles par transfert d'hydrogène.

Les tanins sont doués d'un pouvoir antioxydant. Ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipides produits au cours de la peroxydation (Pietta., 2002).

7. Plantes à activité antioxydantes :

Récemment, l'attention s'est portée sur les plantes condimentaires et les épices qui ont une capacité antioxydante non négligeable, parfois même plus élevée que celle de certains fruits et légumes et qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (**Mata et coll., 2007**). A titre d'exemple le cumin *Cuminum cyminum* est une plante herbacée de la famille des Apiaceae utilisée comme condiment alimentaires et qui possède une variété de propriétés médicinales (**Bézanger et coll., 1986 ; Saiedirad et coll., 2008**). Il est réputé comme antioxydant, diurétique, astringent et hypoglycémiant (**Dhandapani et coll., 2002**).

De plus, Le persil *Petroselinum crispum* est une espèce du genre *Petroselinum*. C'est une plante herbacée de la famille des Apiacées couramment utilisée en cuisine pour ses feuilles, et c'est également une plante médicinale. Il exerce une activité d'éboueur des radicaux hydroxyles (**Cazzola et coll., 2011**). Il est modérément antiradicalaire. L'extrait éthanolique de persil semble exercer une activité antiradicalaire protectrice au niveau des mitochondries cérébrales de la souris (**Vora et coll., 2009**). Il semble que la prise quotidienne de 2g/kg de persil exerce une activité hépato-protectrice contre les effets du diabète chez le rat (**Ozsoy-Sacan et coll., 2006**). In vitro il exerce une forte activité contre l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP (**Chaves et coll., 2011**).

Dés l'intérêt croissant à l'activité antioxydante, plusieurs méthodes de mesure ont été utilisées pour l'évaluer tel que : FRAP, DPPH, ORAC etc, Ces tests consistent à évaluer la capacité que possèdent les plantes à inhiber la production d'EOG générées par un système in vitro. Il s'agit donc d'une méthode de screening qui est la sommation des activités individuelles de chaque antioxydant présent dans ces espèces végétales (**Ghiselli et coll., 2000**).

Dans ce contexte de recherche, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante des extraits de *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook ou « Guezzah ».

Cette espèce végétale appartient à la famille des Apiaceae qui sont des plantes vivaces poussant en touffes importantes avec de nombreuses tiges droites donnant à la plante une allure jonciforme. Les feuilles ne sont présentes qu'à la base de la plante avec des tiges florales à ombelles latérales composées de fleurs blanches à pédoncule souvent court, à une odeur de fenouil très agréable (**Quzel et Santa., 1963**).

8. Classification botanique :

D'après, Quzel P .et Santa S., 1963, *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook est classé comme suit :

Règne : Plantae (végétal)

Embranchement : Spermaphytes

S/embranchement : Angiosperme

Classe : Magnoliopsida (**Eudicote**)

Ordre : Apiales

Famille : Apiacées

Genre : *Pituranthos*

Espèce : *scoparius*

Nom binomiale : *Pituranthos scoparius*

9. Description botanique du Gezzah :

Le nom scientifique du « Gezzah » est *Pituranthos scoparius*. C'est une plante herbacée, aphyllé, à tiges souvent très ramifiées. Ombelle à involucre, ovoïde à 6 bandelettes.

C'est une plante herbacée, formant des touffes : tiges florifères érigées bien plus longues, à ombelles latérales, à pédoncule court (1 - 3 cm). Les fleurs est de couleurs blanches (**Quzel et Santa., 1963**).



Figure 7 : *Pituranthos scoparius*.

10. Récolte :

La plante qui a fait l'objet de ce travail, a été récoltée dans la région de Béchar durant le mois de mars, la plante entière a été séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière.

11. Origine et répartition géographique :

Pituranthos scoparius est une espèce endémique qui se trouve dans le nord d'Afrique, donnée pour rare au Sahara Central, elle est fréquente sur le plateau du Tassili des Ajjers et dans le Hoggar (**Ozanda., 1991**).

12. Propriétés thérapeutiques et emplois :

Le décocté des feuilles est efficace dans le traitement de l'asthme, alors que le macérât aqueux des feuilles est préconisé en cas d'ictère. Contre les morsures des vipères et les piqures des scorpions, certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles ; cette dernière en cataplasme soulagerait également les douleurs rhumatismales (**Boukef (a), 1986**).

Notre travail se subdivise en deux principales parties :

- L'étude phytochimique de différents extraits de *Pituranthos scoparius*
- L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de cette plante par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) ; cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique(LAPSAB) s'est déroulé en deux parties :

- La première partie c'est l'étude phytochimique : en commençant par la préparation de différents extraits bruts et spécifiques, suivi par des tests phytochimiques, en fin la quantification des teneurs de polyphénols totaux et flavonoïdes en utilisant le Folin-Ciocalteu et le trichlorure d'alumine respectivement.
- La deuxième partie c'est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits par la méthode de réduction de fer (FRAP).

1. Etude phytochimique

1.1. Préparation des extraits bruts :

Le matériel végétal partie aérienne (tiges, fleurs) et partie racine séchées, est d'abord broyé à l'aide d'un mortier traditionnel pour obtenir une poudre grossière, puis réduite en poudre fine à l'aide d'un moulin (Moulinex).

Pendant l'étape d'extraction, certaines précautions ont été prises afin de protéger les constituants de la matière végétale particulièrement sensibles à toute dégradation éventuelle, en les protégeant de la lumière et en les conservant à basse température avant chaque analyse. De ce fait, chaque ballon d'extraction a été entièrement recouvert d'une feuille d'aluminium.

-Dans 10g du matériel végétal (partie aérienne/ racine):

-Sous reflux 3h à chaud (70°C) :

- ✓ Eau 100 ml
- ✓ Eau/Méthanol 30/70 ml
- ✓ Eau/Acétone 30/70ml

-Par macération 24h à froid:

- ✓ Eau 100 ml
- ✓ Eau/ Méthanol 30/70 ml
- ✓ Eau/Acétone 30/70 ml

A la fin de l'opération d'extraction, l'ensemble est filtré (papier filtre). Le filtrat récupéré est concentré dans un rotavapor, à une température de 40-60°C selon le solvant utilisé.

1.2. Préparation des extraits des polyphénols:

A partir de l'extrait eau/méthanol (20/80 ; v/v) obtenu par macération 72 heures, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des

solvants à polarité croissante en commençant par l'hexane pour dégraisser, puis l'acétate d'éthyle (faiblement polaire), puis le n- butanol (moyennement polaire), comme il est indiqué dans la **figure 8**

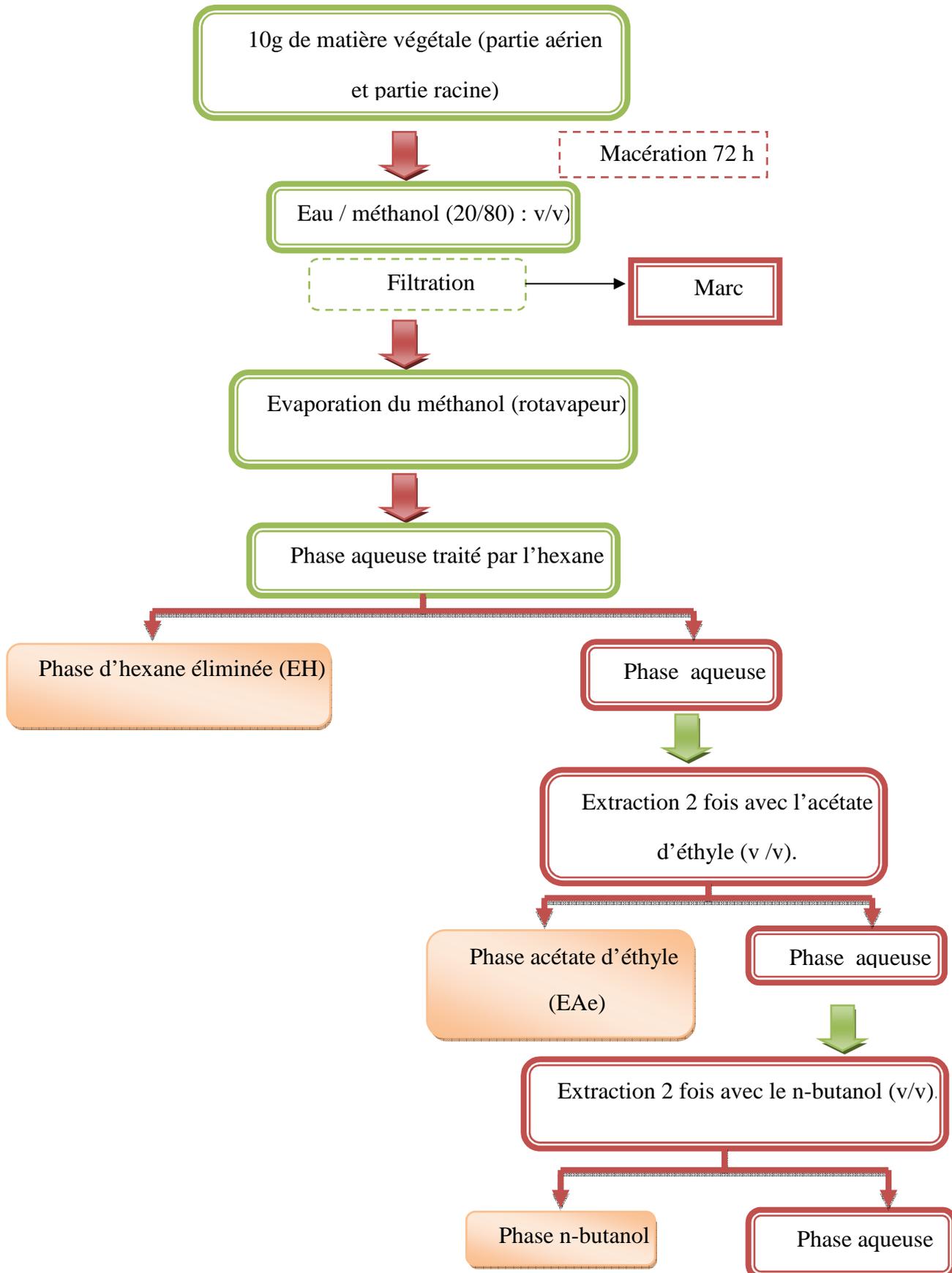


Figure 8 : Protocole d'extraction des polyphénols (Tereschuk. *et coll.*, 2004).

1.3. Calcul du rendement :

Nous pouvons déterminer le rendement en extrait sec par le rapport entre le poids de l'extrait sec, avec le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_0}{M_1} \times 100$$

M_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

M_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

1.4. Tests phytochimiques :

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des familles chimiques essentiellement tel que les composés phénoliques, les hétérosides notamment les saponosides, les composés azotés en particulier les alcaloïdes, les isoprènoïdes qui renferment les stéroïdes, et les composés réducteurs.

Ils sont basés sur :

- ❖ Les essais de solubilité, des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente : l'eau, méthanol et l'acétone.
- ❖ Réaction de coloration et de précipitation ;
- ❖ Examen sous la lumière ultraviolette.

a. Alcaloïdes :

5ml d'HCL 1% mélangé avec 1 ml de chaque extrait, ensuite chauffage au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (Majob., 2003).

b. Sucres réducteurs :

On ajoute 5 ml de l'extrait à 1 ml de liqueur Fehling, puis chauffer les tubes au bain marie à 40°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique.

c. Flavonoïdes :

Ajouté quelques gouttes d'HCL concentré à 5 ml d'extrait plus 3 copeaux de Magnésium. La présence de flavonoïdes due par l'apparition de coloration : rouge, orange ou rose (**Karumi et coll., 2004**).

d. Quinones libres :

5 ml d'extrait plus quelques gouttes de soude (NaOH 1%). La coloration vire au jaune, rouge ou violet indique la présence de quinones libres (**Oloyede., 2005**).

e. Saponosides :

Ajouté 10 ml d'eau distillée à 5 ml d'extrait et agiter pendant deux minutes. La présence des saponosides est confirmée par l'apparition d'une mousse persistante plus que 5min, si la hauteur de la mousse est >1 cm le résultat est positif (**Karumi et coll., 2004**).

f. Terénoïdes :

À 5 ml d'extrait, ajouter 2 ml Chloroforme et 3 ml de H₂SO₄. Le test positif est indiqué par l'apparition de 2 phases et une couleur marron à l'interphase (**Kablan et coll., 2008**).

g. Coumarines :

Une quantité de quelque milligramme de chaque extrait est solubilisée dans 2 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont :

- la première représente un témoin ;
- la deuxième est traitée avec 0,5 ml de NH₄OH à 10%.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines (**Benmehdi., 2000**).

h. Anthraquinones :

À 10ml d'extrait, ajouter 5 ml de NH₄OH à 10% avec l'agitation. La coloration est violette indique la présence des anthraquinones (**Oloyede., 2005**).

i. Tanins :

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 à 1%. L'apparition d'une coloration verte indique la présence des tanins catéchiques, et l'apparition de la couleur bleu noirâtre indique la présence des tanins galliques (**Karumi et coll., 2004**).

j. stérols et terpènes :

5ml d'extrait, 2 gouttes Anhydre Acétique ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$) et 1 goutte d'Acide Sulfurique (H_2SO_4). La couleur est mauve ou violette (**Kablan et coll., 2008**).

1.5. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux :

- **Dosage des polyphénols totaux :**
- ✓ **Principe**

La méthode est celle utilisant le réactif de FolinCiocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux, dont l'absorption maximum est comprise entre 700 et 760 nm (**Boizot et Charpentier., 2006**).

- ✓ **Mode opératoire :**

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermeris et Nicholson (2006)** :

- ▶ 0,1 ml de l'échantillon est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2%.
- ▶ Agiter au vortex.
- ▶ Incuber pendant 5 minutes à température ambiante.
- ▶ Ajouter 100 μl de réactif de FolinCiocalteu à 0.2N.
- ▶ 2^{ème} incubation pendant 30 minutes à la température ambiante.
- ▶ La lecture est faite à 700 nm contre un blanc.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 grammes de matière végétale sèche. Une courbe étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires

en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,7 ; 0,8 ; 0,9 ; 1 mg/ml).

Calculé selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de polyphénols} = a. f / b$$

a : Concentration en polyphénols en mg/ml déterminée à partir de la courbe d'étalon

f : Facteur de dilution ($\times 22$).

b : Concentration initial de l'extrait (1 mg/ml).

- **Dosage des flavonoïdes totaux**
- ✓ **Principe**

Les flavonoïdes sont dosés par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

- ✓ **Mode opératoire :**
 - ▶ 500 μl de l'échantillon sont mélangés avec 2 ml d'eau distillée.
 - ▶ Ajouter 150 μl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15 %.
 - ▶ Incuber pendant 6 minutes à température ambiante.
 - ▶ Ajouter 150 μl de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3, 6 \text{H}_2\text{O}$) à 10%.
 - ▶ Incuber pendant 6 minutes à température ambiante.
 - ▶ Additionner de 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4 %.
 - ▶ Le volume total est complété à 5 ml d'eau distillée.
 - ▶ Agiter et incuber pendant 15 minutes.

La lecture est faite à 510 nm contre un blanc. Une courbe étalon est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme standard à différentes concentrations (0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,7 ; 0,8 ; 0,9 ; 1 mg/ml).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par 100 gramme de matière végétale sèche.

Selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de flavonoïdes} = a. f / b$$

a : Concentration des flavonoïdes en mg/ml déterminée à partir de la courbe étalon

f : facteur de dilution ($\times 10$)

b : Concentration initiale de l'extrait (1mg/ml).

2. Etude de l'activité antioxydante :

L'évaluation du pouvoir antioxydant est réalisée par la méthode de **réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)**

✓ Principe :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminé à 700 nm (**karagozler et coll., 2008**). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert., 2006**).

✓ Mode opératoire :

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **karagozler et coll., (2008)**.

- ▶ 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait.
- ▶ Ajouter 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M à pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1 %.
- ▶ Incuber à 50°C pendant 20 minutes.
- ▶ Laisser refroidis à température ambiante.
- ▶ Ajouter 2,5 ml de l'acide trichloracétique à 10 %.
- ▶ Centrifuger à 3000 tours pendant 10 minutes.
- ▶ 2,5ml du surnageant de chaque concentration sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml FeCl_3 (Chlorure de fer) à 0,1%.

- ▶ La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- ▶ Tous les tests sont répétés trois fois.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales.

Les résultats obtenus ont permettant de tracer des courbes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits des deux parties de la plante étudiée. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

Résultats et discussion

La plante a été identifiée par **Ozenda** parmi des espèces sauvages indigènes de la pharmacopée de Tassili et N'Ajjer, c'est une plante endémique du Sahara central (**Ozenda., 2004**).

Les échantillons de référence ont été enregistrés dans laboratoire, et classés dans un tableau, avec leurs noms scientifiques, et par un ordre alphabétique, permis ces espèces végétales : *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook « Guezzah » (**Quezel et Santa., 1963**).

C'est une espèce saharienne utilisés dans la médecine traditionnelle pour le traitement de l'asthme et les habitants touaregs utiliser également dans les aliments comme arôme pour le repas et le pain (**Boukef(b), 1986 ; Benchelah et coll., 2000**).

L'analyse des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* par CPG / SM des tiges et des graines, recueillies de Ghardaïa au printemps, a permis d'identifier les composantes respectives avec des pourcentages relatifs qui semblaient être différente à titre d'exemple : le α -pinène, β -pinène, α phellandrène, p-cymène et limonène (**Verite et coll., 2004**).

Il été monté aussi que cette plante à une activité antibactériennes des huiles essentielles des tiges et des graines, prouvé par l'utilisation de méthode de diffusion sur disques (**Boutaghane et coll., 2004**).

Dans ce cadre des études portant sur la recherche sur cette plante, la présente étude a été effectuée sur l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits.

1. Le rendement des extraits

Après avoir effectué la préparation des extraits, on les récupère et on calcule le rendement, les **tableaux 3, 4 et 5** résume les différents résultats.

Tableau3 : Rendement (g/100g de matière végétal) des extraits obtenus par extraction **sous reflux** des deux parties de la plante *Pituranthos scoparius*.

Les extraits	Rendement (%)	
	Parties aériennes	Parties racines
Extrait aqueux	8	3
Extrait eau/méthanol	7	4
Extrait eau/acétone	2	2

Tableau 4: Rendement (%) des extraits obtenus par **macération** des deux parties de la plante *Pituranthos scoparius*.

Les extraits	Rendement (%)	
	Parties aériennes	Parties racines
Extrait aqueux	14	10
Extrait eau/méthanol	3,5	4,5
Extrait eau/acétone	8	7,5

Tableau5 : Rendement (%) des extraits des flavonoïdes par **macération** E/MeOH 72h des deux parties de la plante *Pituranthos scoparius*.

Les extraits	Rendement (%)	
	Parties aériennes	Parties racines
Fraction acétate d'éthyle	6	1
Fraction butanolique	5,5	2

On remarque que le rendement le plus élevé est obtenu pour la méthode d'extraction par macération à froid. L'extrait aqueux des deux parties de la plante représente le rendement le plus élevé 14% pour la partie aérienne et 10% pour la partie racine, suivi par l'extrait hydroacétonique ensuite l'extrait hydrométhanolique. Tandis que le rendement est moyen pour les différentes fractions de la plante.

La méthode d'extraction par reflux à température 70°C a présenté un rendement relativement faible par rapport les extraits obtenus par macération, le meilleur rendement est obtenu pour l'extrait aqueux de la partie aérienne (8%) suivi par l'extrait hydrométhanolique de la même partie (7%).

Ces résultats ont montré des valeurs largement supérieures à celles obtenus par **Bouaziz et coll. (2009)** dans les différents extraits de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* récolté dans le Sud de Tunisie, qui a permis d'obtenir les rendements respectives avec des pourcentages relatifs aux solvants et méthodes d'extractions qui sont de : 1.20%, 2.50% et 3.10% d'extrait hexanolique, acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique par même méthode d'extraction sous reflux, et 5% d'extrait aqueux par macération à froid.

Pour cela, on constate que le rendement d'extraction dépend de la saison de récolte, la partie de plante utilisée, la méthode d'extraction et le choix des solvants utilisés selon leurs caractéristiques physico-chimiques, notamment leur polarité.

2. Les tests phytochimiques :

Les tests phytochimique réalisés sur les extraits de *Pituranthos scoparius* ont permis de détecter les différentes familles de composés existant dans les deux parties étudiées par des réactions qualitatives de caractérisation. Les résultats obtenus sont regroupés dans les **tableaux 6, 7 et 8**.

Tableau 6 : Résultats des tests phytochimiques d'extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par macération.

Extraction	Parties aériennes			Parties racines		
	Eau	E/MeOH	E/Ac	Eau	E/MeOH	E/Ac
Flavonoïdes	-	++	-	-	+	+
Stérols et terpènes	++	+++	+	-	++	++
Quinones	+	+	+	-	+	+
Saponines	-	-	-	-	-	-
Terpenoïdes	+	+++	+	+	+	+
Coumarines	+	+++	+++	++	+++	+++
Antraquinones	-	-	-	-	-	-
Sucres réducteurs	+++	+++	+	+	+++	+
Alcaloïdes	Mayer	-	-	+	-	-
	Wagner	-	-	+	-	-
Tanins	+++	+++	+++	-	++	++

(+++): Test fortement positif. (++) : Test moyennement positif. (+) : faiblement positive

(-) : teste négatif.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 6 ci-dessus, on constate une dominance des coumarines, suivi par les tanins, ensuite les stérols et terpènes ; cependant les autres composants, leur présence dépend du solvant d'extraction.

On note aussi l'absence totale des saponines et anthraquinones dans tous les extraits des deux parties de la plante.

La richesse de notre plante en tanins confirme leur présences dans tous les extraits testés, mais on constate leurs absences dans les extraits aqueux des deux parties de la plante. C'est ce qui explique que ces tanins font partie de la classe des tanins non hydrolysables d'où l'appellation : tanins catéchiques.

Il est connu que la plante contienne des coumarines et en particulier furocoumarines (**Nielsen., 1970**). Il est considéré comme responsable de nombreuses activités biologiques observées chez les plantes de la même famille à titre d'exemple ;*Pituranthos triradiatus* (**Novak et coll., 1966**).

Certains tests réalisés sur les extraits des plantes de la même famille sont confirmés par l'étude de **Soine (1964)**.

Tableau 7 : résultats des tests phytochimiques d'extraits de *Pituranthos scoparius* obtenus par l'extraction **Sous reflux**.

Extraction		Parties aériennes			Parties racines		
		Eau	E/MeOH	E/Ac	Eau	E/MeOH	E/Ac
Flavonoïdes		+++	+++	+	-	+	++
Stérols et terpènes		-	+++	-	-	+	+++
Quinones		+	++	-	-	++	+++
Saponines		-	-	-	-	-	-
Terpenoïdes		+++	+++	+	+	+++	+
Coumarines		+	+	+	+	+	-
Antraquinones		-	-	-	-	-	-
Sucres réducteurs		++	+++	-	+	+++	+++
Alcaloïdes	Mayer	-	-	-	+	++	++
	Wagner	-	-	-	-	-	-
Tanins		+++	+++	+++	-	+	++

Ce qui concerne les tests phytochimiques réalisés par la méthode sous reflux les résultats obtenus sont variés d'un extrait à un autre, mais toujours on peut constater une forte présence des tanins dans tous les extraits sauf l'extrait aqueux de la partie racine, même les coumarines occupent une place importante dans les différentes parties de la plante.

Tableau 8 : résultats des tests phytochimiques de différentes fractions de *Pituranthos scoparius*.

Extraction		Parties aériennes		Parties racines	
		F.acétate	F. butanol	F.acétate	F. butanol
Flavonoïdes		+++	++	+	++
Stérols et terpènes		-	-	-	-
Quinones		-	-	++	++
Saponines		-	-	-	-
Terpenoïdes		+++	++	+++	+++
Coumarines		+	++	++	++
Antraquinones		-	-	-	-
Sucres réducteurs		-	-	-	-
Alcaloïdes	Mayer	-	-	++	+
	Wagner	-	-	++	+
Tanins		+++	+++	+++	+++

Les tests phytochimiques des fractions des deux phases acétate d'éthyle et n-butanol révèlent aussi la présence des alcaloïdes dans la partie racine, et leur absence dans la partie aérienne, ainsi que la présence des flavonoïdes.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Benmekhbi et coll. (2008)** qui a fait l'identification des flavonoïdes et l'activité antibactérienne des huiles essentiels des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récolté à partir de Ghardaïa. A titre d'exemple l'effet antibactérienne des huiles essentiels sur *Escherichia coli* ATCC 25922 donne un diamètre d'inhibition de 30mm et 0.03 g/mL MIC, (128 µg/mL d'extrait).

3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux :

Les résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans nos extraits sont représentés dans les **tableaux 9, 10 et 11**, les courbes étalons de l'acide gallique et la catéchine sont représentés dans les figures 9 et 10 respectivement.

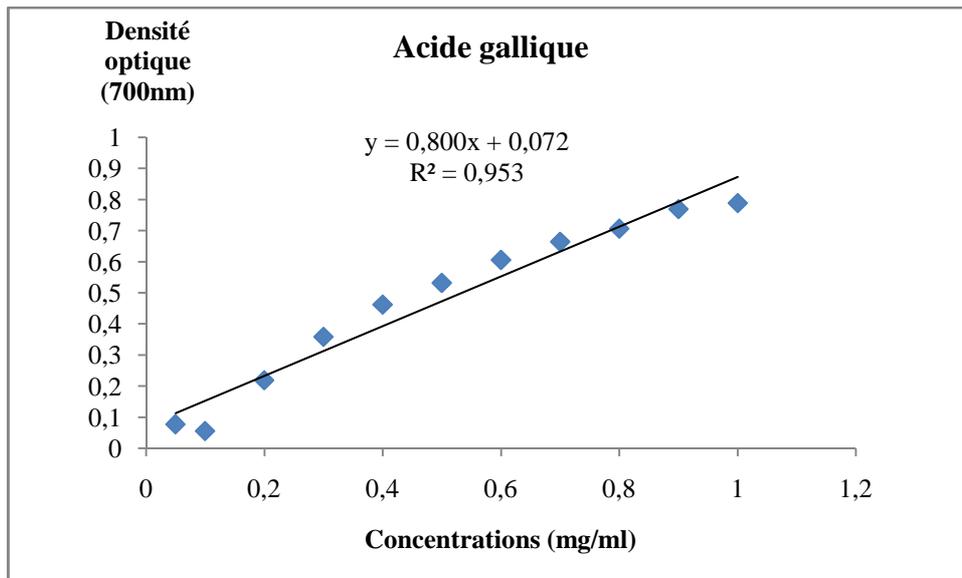


Figure 9 : Courbe d'étalon de l'acide gallique.

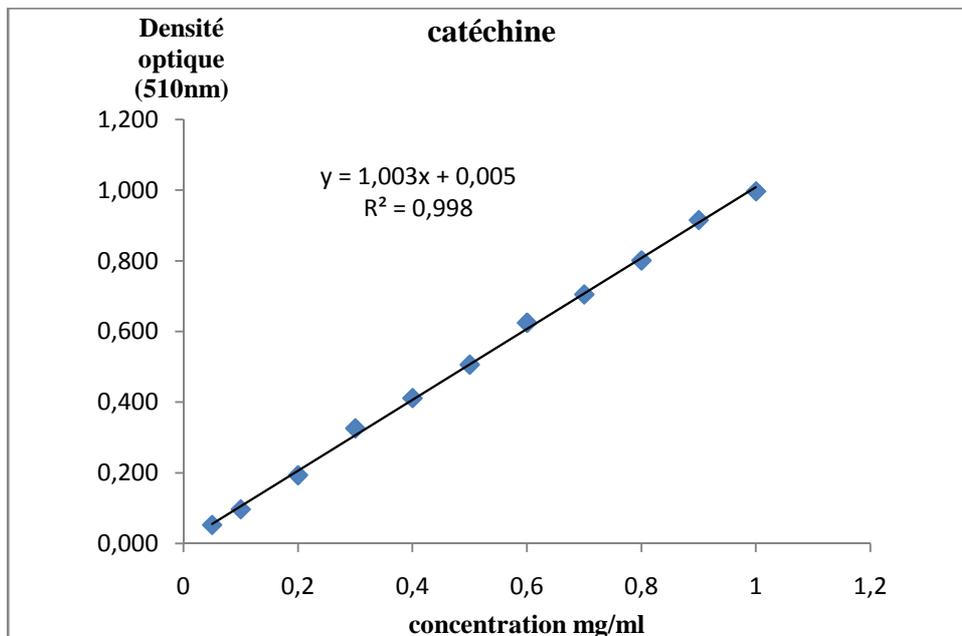


Figure10 : courbe d'étalon de la catéchine.

Tableau 9 : Résultats du dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits obtenus par macération.

	Extraits	Polyphénols		Flavonoïdes	
		mgEAG/g d'extrait	mg EAG/100g de matière sèche	mg CEQ/g d'extrait	mg CEQ/100g de matière sèche
Ps (A)	Eau	1.675	23.448	0.327	4.578
	Eau/MeOH	1.413	4.947	0.291	1.017
	Eau/Ac	3.286	26.291	0.820	6.556
Ps (R)	Eau	3.281	32.809	0.816	8.159
	Eau/MeOH	1.917	8.626	0.510	2.294
	Eau/Ac	3.090	23.172	0.504	3.781

Ps(A) : Partie aérienne

Ps(R) : Partie racine

Comme montré sur le tableau 9 ci-dessus, il ya une variabilité dans la teneur des polyphénols totaux dans nos différents extraits.

Les extraits épuisés par macération 24h à froid des deux parties de la plante ont des teneurs en polyphénols classées comme suit : Ps(R) eau > Ps(A) E/Ac > Ps(A) eau > Ps(R) E/Ac > Ps(R) E/MeOH > Ps(A) E/MeOH.

Concernant la teneur en flavonoïdes, a été proportionnelles à ceux des polyphénols delà on peut dire que la majorité des polyphénols présents dans nos extraits sont de la classe des tanins.

Tableau 10 : résultats du dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits obtenus par reflux.

	Extraits	Polyphénols		Flavonoïdes	
		mgEAG/g d'extrait	mg EAG /100g de matière sèche	mg CEQ /g d'extrait	mg CEQ /100g de matière sèche
Ps (A)	Eau	0.258	2.068	0.081	0.648
	Eau/MeOH	2.553	17.873	0.290	2.032
	Eau/Ac	3.190	6.380	2.266	4.533
Ps (R)	Eau	1.192	3.577	0.285	0.855
	Eau/MeOH	5.318	21.274	0.899	3.597
	Eau/Ac	4.293	8.585	1.010	2.020

Pour l'extraction sous reflux la teneur des polyphénols et flavonoïdes totaux est de classement remarquable comme suit : Ps(R) E/MeOH > Ps(A) E/MeOH > Ps(R) E/Ac > Ps(A) E/Ac > Ps(R) eau > Ps(A) eau, dont la qu'elle a été faible par rapport la teneur des polyphénols par macération.

Tableau 11 : résultats du dosage de polyphénols et de flavonoïdes totaux de différentes fractions de *Pituranthos scoparius*.

	Extraits	Polyphénols		Flavonoïdes	
		mgEAG/g d'extrait	mg EAG /100g de matière sèche	mg CEQ /g d'extrait	mg CEQ /100g de matière sèche
Ps (A)	F.acétate	11.729	70.373	1.962	11.776
	F.butanol	10.354	56.946	1.073	5.902
Ps (R)	F.acétate	2.353	2.35	0.601	0.601
	F.butanol	5.780	11.558	1.474	2.948

Selon les résultats présenté dans le **tableau 11**, la fraction acétate d'éthyle de la partie aérienne présente une teneur de polyphénols de 70.37 mg EAG/100g de matière sèche, suivie par la fraction n-butanol de la même partie avec un taux de 56.94 mg EAG/100g de matière

sèche, tandis que dans les fractions de la partie racine on note de faible teneur 11.55 mg EAG/100g de matière sèche, 2.35mg EAG/100g de matière sèche dans la fraction butanolique et acétate d'éthyle respectivement.

Nos valeurs sont plus élevées par rapport aux teneurs déterminées par **Bouaziz et coll. (2009)**, dans les différents extraits de la partie aérienne de *Piturantho schloranthus* récolté du Sud-Tunisie qui sont de : 3,80 mg E pyrogallol/gE de polyphénols dans l'extrait acétate d'éthyle et 3,72 mg PyE/gE dans l'extrait aqueux et 3,14 mg PyE/gE dans l'extrait méthanolique.

Concernant les teneurs en flavonoïdes déterminées par **Bouaziz et coll. (2009)** dans l'extrait acétate d'éthyle (0,41 mg RuE/gE), l'extrait aqueux (0,38 mg RuE/gE) et dans l'extrait méthanolique (0,19 mg RuE/gE de flavonoïdes) sont faiblement inférieur par rapport à nos résultats.

4. L'étude de l'activité antioxydante

Réduction du Fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

C'est une analyse de l'activité antioxydante rapide, et reproductible. Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols (spécialement les flavonoïdes) à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} .

En traçant les courbes des absorbances obtenues de nos différents extraits pour chaque extrait de chaque partie de la plante étudiée (**figures 11, 12, 13, 14,15et 16**), on a pu remarquer que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos extraits, et ça été confirmé par beaucoup d'autres scientifiques (**Su et coll., 2008 ; Liuk et coll., 2009**).

En comparant les valeurs obtenues pour les extraits de *Pituranthos scoparius* à celle de l'acide ascorbique.

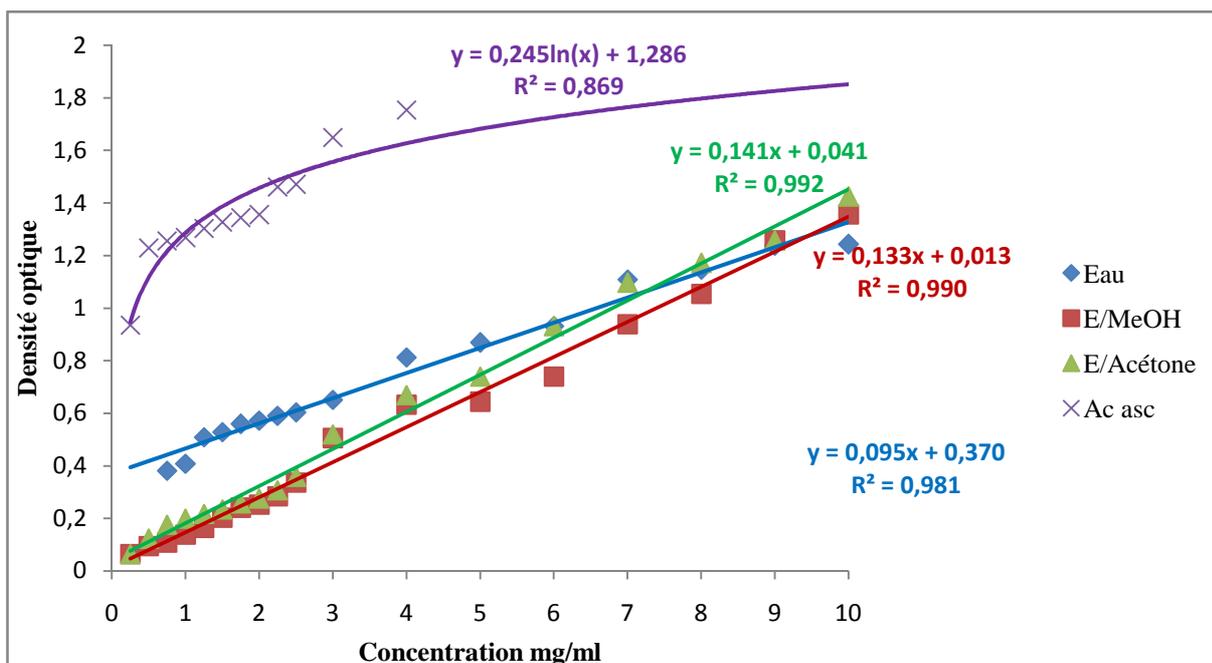


Figure11 : Pouvoir réducteur des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par **macération**.

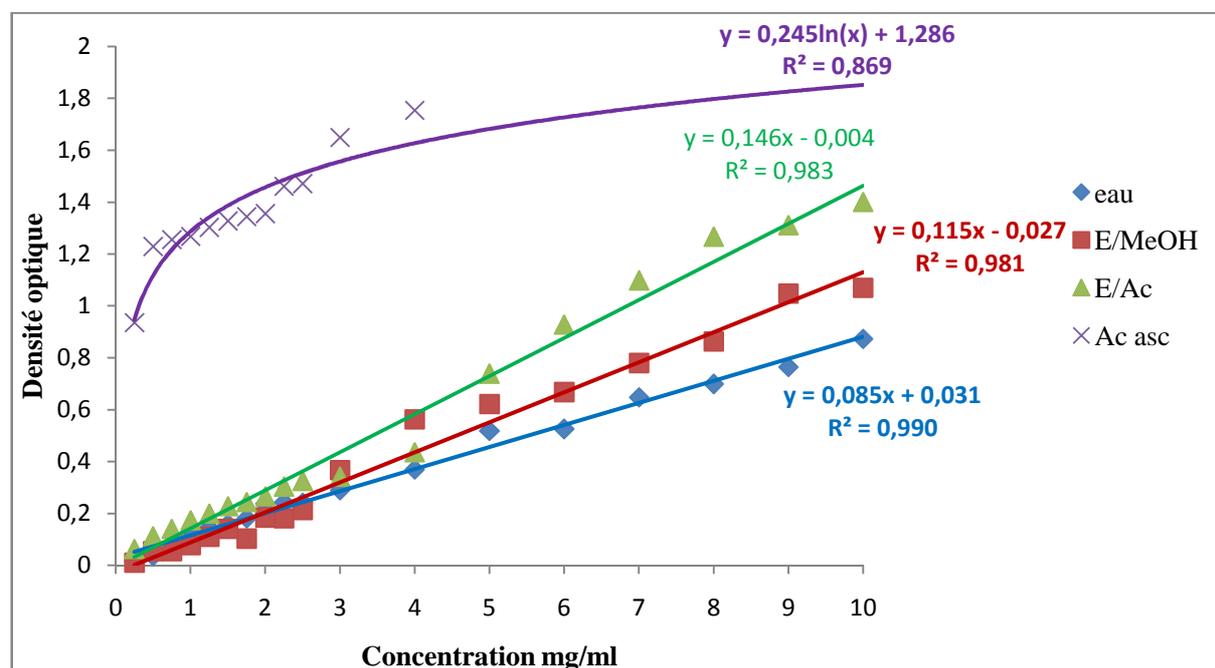


Figure 12: Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par **macération**.

Les densités optiques des extraits de la partie racine sont de l'ordre de 1.24 ; 1.35 ; 1.42 pour les extraits aqueux, hydrométhanolique et hydroacétonique respectivement qui sont

supérieurs aux densités optiques de la partie aérienne, qui sont de 0.87 ; 1.08 ; 1.40 pour les mêmes extraits.

D'après ces résultats, les extraits testés ont montré une grande capacité à réduire le fer, la partie racine à une grande activité antioxydante par rapport à celui de la partie aérienne.

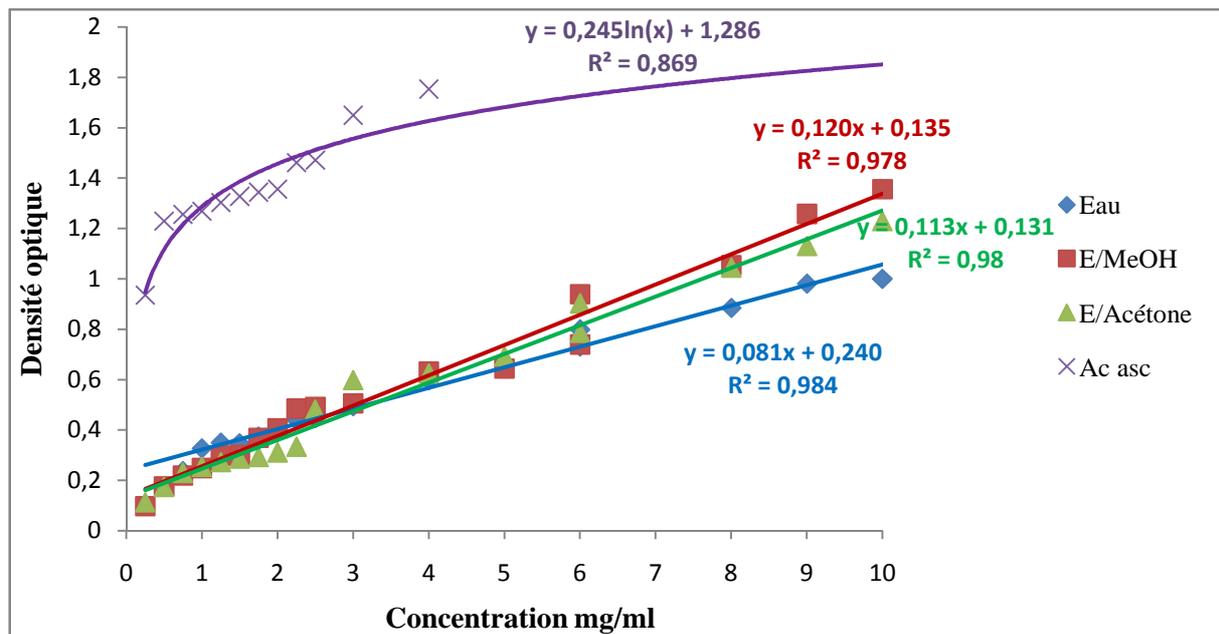


Figure 13: Pouvoir réducteur des extraits de la partie racine de *Pituranthos scoparius* obtenus par **reflux**.

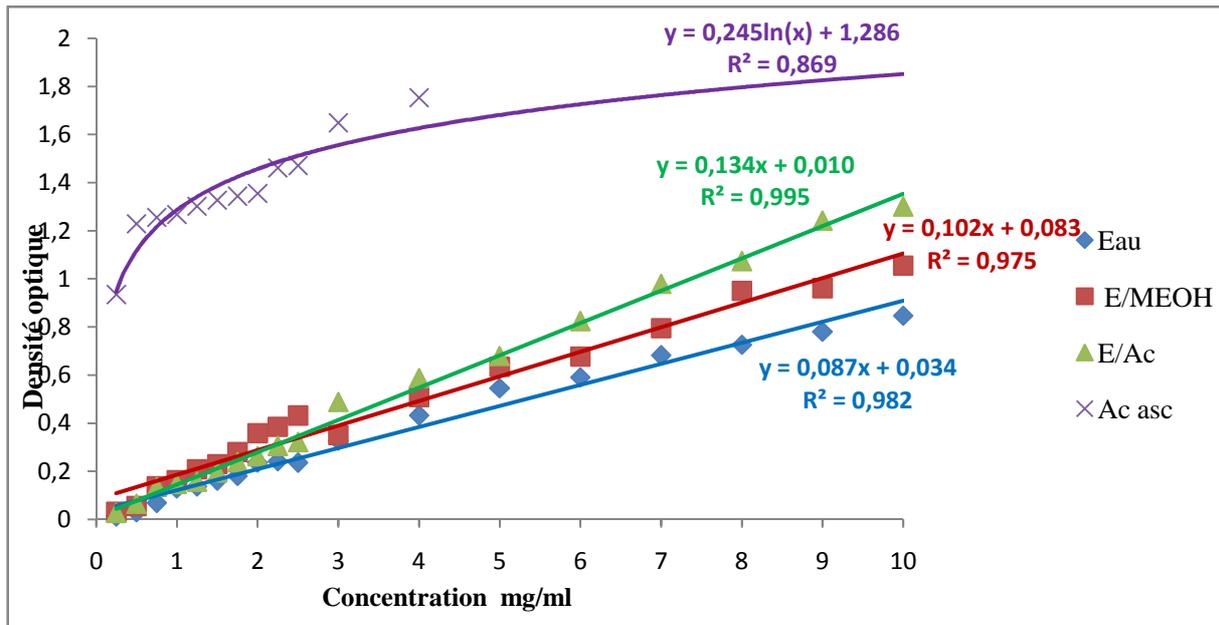


Figure 14: Pouvoir réducteur des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* obtenus par **reflux**.

Nous signalons aussi que les densités optiques obtenus par la partie racine sont égale à 0.99 pour l'extrait aqueux, 1.29 pour l'extrait hydrométhanolique et 1.26 pour l'extrait hydroacétonique qui sont supérieurs aux densités optiques de la partie aérienne qui sont de l'ordre de: 0.84 ; 1.05 ; 1.28 selon la disposition précédente, cette disproportion peut s'expliquer par le faite de la puissance antioxydante par réduction du fer d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son potentiel antioxydant(Meir *et coll.*, 1995).

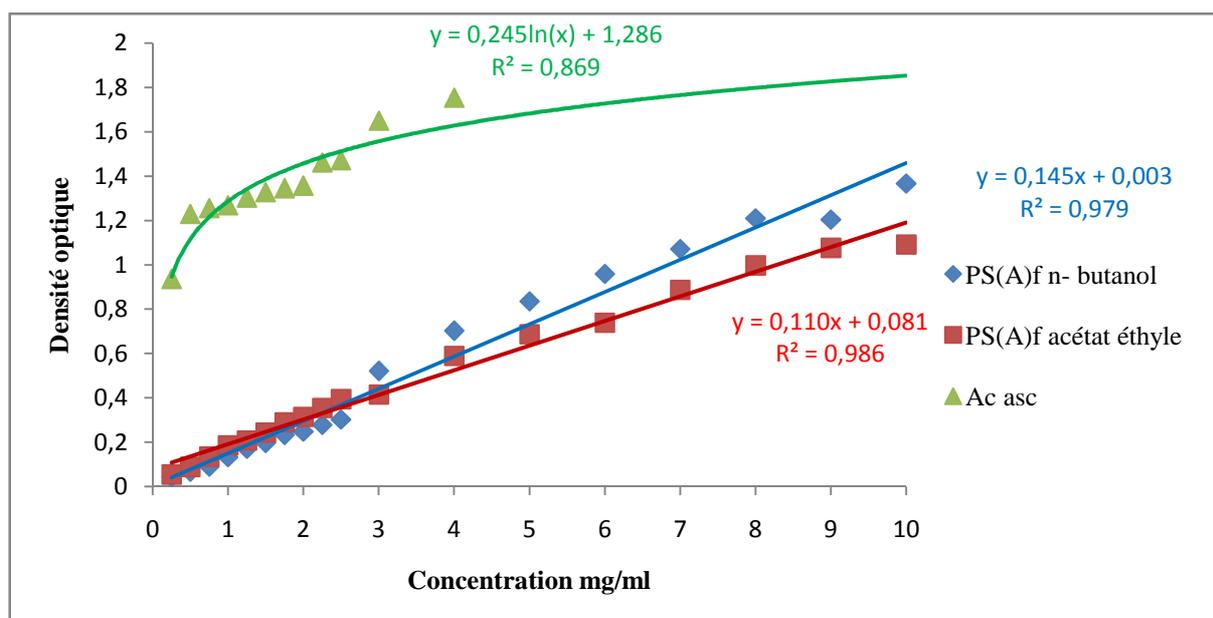


Figure15: Pouvoir réducteur des **fractions** de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius*.

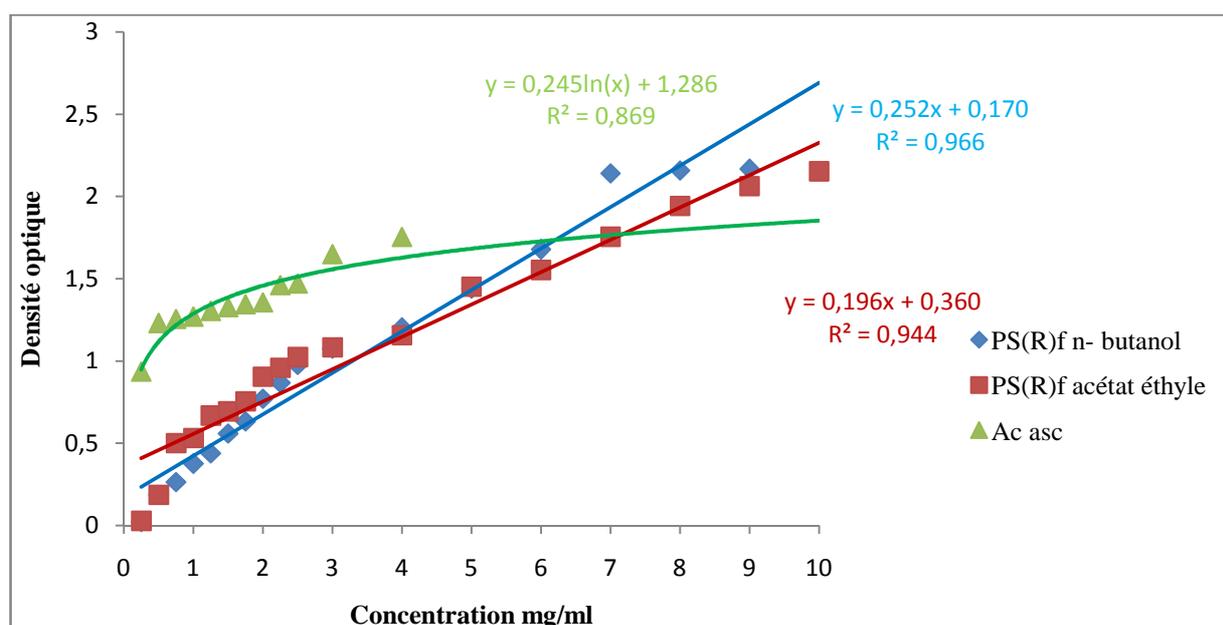


Figure16 : Pouvoir réducteur des **fractions** de la partie racine de *Pituranthos scoparius*.

Concernant la partie racine de notre plante les fractions acétate d'éthyle et n-butanol ont donné de meilleurs résultats par rapport à l'acide ascorbique qui est due à sa saturation dans le même intervalle de concentration à partir de 2-3 mg/ml.

Une étude récente faite sur cette capacité de réduction du fer par les polyphénols des plantes a indiquée que le noyau catéchol est la structure qui est associée positivement dans le pouvoir réducteur et selon cette étude cette structure augmente le pouvoir réducteur d'un composé à 36% par rapport à un autre qui n'en contient pas. Ils ont suggéré que cette activité a été due à la participation des groupements –OH liés au noyau catéchol.

L'activité des groupements –OH du catéchol peut être modulée par une variété de substituant sur le noyau aromatique. Par exemple, la substitution sur le noyau phénolique d'un groupement donneur d'électron (-CH₃, -CH₂-CH₃, ou d'autre substituant aliphatiques) promouvrai des réactions dans lesquelles les noyaux phénoliques acquièrent une tendance de donner des électrons via un groupement –OH, et finalement augmentent leur capacité de réagir comme des réducteurs. D'autre part, la double liaison dans le substituant aliphatique conjuguée avec le noyau aromatique diminue la réactivité du groupement –OH (**DeGraf-Johnson et coll., 2007**).

Les deux phases, acétate d'éthyle (moyennement polaire) et n-butanol (polaire) des deux parties de notre plante ont donné de meilleurs résultats que les autres extraits. L'activité de l'extrait butanolique est supérieur à celle de l'extrait acétate d'éthyle, et ceci a pu être confirmé par d'autre étude qui suppose que l'augmentation de l'activité dépend de l'augmentation de la polarité des solvants (**Ardestani, 2007 ; Matanjunet coll., 2008 ; Atmani, 2009 ; Li et coll., 2009**).

D'autre part, la capacité antioxydantes par piégeage du radical libre **DPPH** indiqué par **Bouaziz et coll.2009** dans les différents extraits de *Pituranthos chloranthus* de la partie aérienne est plus élevées par rapport à nos valeurs déterminées par la méthode de réduction de Fer **FRAP**, il a trouvé 2.24 µg/ml d'extrait acétate d'éthyle, 4.59 µg/ml dans l'extrait aqueux et 2.01 dans l'extrait méthanolique.

Cette différenciation est tout dépend la méthode utilisé et même le radicale étudiée. Pour cela le choix de la méthode par le DPPH pour évaluer l'activité antioxydante est le plus simple, le plus rapide et le plus efficace à cause de la grande stabilité du radical (**Bozin et coll., 2008**).

Conclusion

Il est été bien admis que les EOR provoquent des dommages cellulaires importants pouvant conduire à des défaillances au sein d'un organe. Dans cette optique, une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de composés antioxydants de synthèse, la recherche de nouveaux antioxydants naturels via le secret de sources végétales et surtout de plantes médicinales a résulté dans la découverte d'un grand nombre de ces composés utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines et aussi un rôle dans l'industrie alimentaire.

Dans ce contexte, ce travail avait pour but d'étudier l'activité antioxydante d'une plante endémique du Sahara Algériens sous le nom *Pituranthos scoparius* (**Guezzah**), nous avons abordé à l'isolement des métabolites secondaires, la détermination de leur teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, ainsi que leur activité antioxydante correspondante.

Les résultats obtenus par cette étude nous a permis de valoriser les deux parties de notre plante qui ont montré des potentialités intéressantes dans toute les extraits.

En général, on peut conclure que la plante étudiée est riche en quelques métabolites secondaires, et possède une capacité modeste de réduire le Fer.

Ainsi, il est intéressant d'approfondir cette étude par :

- Tester les différentes molécules isolées *in vivo* afin de trouver une application thérapeutique de ces molécules actives ;
- Evaluer d'autres activités non seulement antioxydante et antimicrobienne, mais aussi anticancéreuse et anti-inflammatoire...etc.
- Isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques ;
- Evaluer leur effet cytotoxique envers un modèle de cellules animales.

Références
Bibliographiques

- 1. Alwan A. (2010).** Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases : progress and capacity in high-burden countries, *the lancet*.376 :1861-1868.
- 2. Anderson C.M., Hallberg A., hogberg T. (1996).** Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28,65-180.
- 3. Ardestani A., Yazdanparast R. (2007).** Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on *in vitro* protein glycooxidation, *Food and Chemical Toxicology*. 45 : 2402-2411.
- 4. Atmani D., Chaheer N., Berboucha M., Ayouni K., Louis H., Boudaoud H., Debbach N., Atmani D. (2009).** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*. 112:303-309
- 5. Bahorun T. (1997).** Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* , p 83.
- 6. Barlow S.M. (1990).** Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson, B.J.F, *Food Antioxidants*: 253-307.
- 7. Bartosz G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. 9, 5-21.
- 8. Benbrook C.M. (2005).** Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. The Organic Center for Education and Promotion, 45.
- 9. Benchelah A. C., Bouziane H., Maka M., Ouahes C. (2000).** *Fleurs du Sahara*, Ibis Press, Paris, *Chemistry of Natural Compounds, Vol. 40, No. 6*.
- 10. Benmehdi H. (2000).** Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université de Tlemcen.
- 11. Bézanger Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. (1986).** Les plantes dans la thérapeutique moderne. Paris : Maloine, p382.

- 12. Boizit N., Charpentier J.P. (2006).** Méthodes rapides d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des Techniques de l'INRA pp79-82.
- 13. Borneo R., Leon A.E., Aguirre A., Ribotta P., Cantero J.J. (2009).** Antioxidant capacity of medical plants from provence of Cordoba (Argentina) and their in vitro testing in a model food system, Food Chemistry. 112 : 664-670.
- 14. Bouayed J. (2007).** Etude de la corrélation anxiété / statut oxydatif des granulocytes chez la souris et évaluation des effets antioxydants / neuroactifs des polyphénols extraits de *Prunus domestica L.* Thèse de Doctorat Option Phytochimie-pharmacologie, Ecole Doctorale Biologie, Santé, Environnement. Université Paul Verlaine-Metz.
- 15. Bouaziz M., Dhouib A., Loukil S., Boukhris M., Sayadi S. (2009).** Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*. 8 (24) : 7017-7027.
- 17. Boukef M.K. (1986).** Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Tunisie, 350.
- 18. Boutabet K. (2007).** Etude pharmaco-chimique de l'extrait de propolis au cours d'un stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine. Thèse de Magister. Département de Biologie moléculaire et cellulaire. Faculté des sciences. Université de Jijel.
- 19. Boutaghane N., Nacer A., Kabouche Z., Ait-Kaki B. (2004).** comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *pituranthos scoparius* from algerian septentrional sahara, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 40, No. 6.
- 20. Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier. 915-211,338.
- 21. Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^e édition, Edition Lavoisier TEC et DOC.
- 22. Cazzola R., Camerotto C., Cestaro B. (2011).** Antioxidant, anti-glycant, and inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase of selected spices and culinary herbs. *Int J Food Sci Nutr* 62(2): 175–84.
- 23. Chaves D.S., Frattani F.S., Assafim M. (2011).** Phenolic chemical composition of *Petroselinum crispum* extract and its effect on haemostasis. *Nat Prod Commun* 6(7): 961–4.

- 24. Christian D., Jean-Claude L. (2002).** Traité de Phytothérapie Clinique– Editions Masson– Paris 2002.
- 25. Clément R.P. (2005).** Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1^{ère} partie) À Législation. 4:171-5.
- 26. Cowan M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev*,12 : 564-582.
- 27. Cuendet M. (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *fagraea blumel* (Lloganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scorophlariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanula barbata* (Campanulaceae). Thèse de doctorat. Faculté des sciences de l'Université de Lausanne, p. 24.
- 28. Degraft- Johnson J., Kolodziejczyk K., Krol M., Nowak P., Krol B., Nowak D. (2007).** Ferric-Reducing Ability Power of Selected Plant Polyphenols and their Metabolites : Implication for clinical Studies on the Antioxidant Effects of Fruits and Vegetable Consumption, *Basic & Clinical pharmacology &Toxicology*.100 :345-352.
- 29. Dhalla N.S. (2000).** Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens* . 18 : 655-73.
- 30. Dhandapani S., Subramanian V.R., Rajagopal S., Namasivayam N. (2002).** Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological Research* ; 46 :251-255.
- 31. Duraffourd C., Lapraz J.C., Chemli R. (1997).** La plante médicinale de la tradition à la science. 1^{er} congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222.
- 32. Elqaj M., Ahami A., Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- 33. Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites, *Review. Phytochemistry* 68, 939- 953.
- 34. Farnsworth N.R. (1994).** Ethnopharmacology and drug development in ethnobotany and the search for new drugs. Wiley chichester (ciba foundation symposium 185). 42-59.

- 35. Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* ; pp108-115.
- 36. Ferrari J. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucrata* Steud. A. Rich. Thèse de doctorat de l'Université de Lausanne.
- 37. Frankel E. N. (1993).** In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in foods lipids. *Trends in Foods Sci. technol.* **4**: 220-225.
- 38. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. (2000).** Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data *Free Radi Biol Med* **29**:1106-14.
- 39. Gonzalez A. G., Estevez-Braun A. (1997).** Coumarins, *Nat. Prod. Reprod.*, **14**: 465-475.
- 40. Griendling K.K., Sorescu D., Ushio-Fukai M. (2000).** NADPH oxidase : role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* **86** :494-501.
- 41. Halliwell B., Whiteman M. (2004).** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture : how should you do it and what do the results mean,. *British journal of pharmacology.* **142**: 31-2.
- 42. Hamada H. ; Benkhaled M. ; Massiot G. ; Long C. ; Lavaud C. (2004).** Alkylated isocoumarins from *pituranthos scoparius*, *Natural Product Research*, Vol. 18, No. 5, pp. 409–413.
- 43. Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen H. (2010).** Impact of Dietary Polyphenols On Carbohydrate Metabolism. *Int. J. Mol. Sci.*, **11**: 1365-1402.
- 44. Hans W. K. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.
- 45. Harborne J.B. (1998).** *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis.* Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).
- 46. Hartmann T. (2007).** From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry.* **68** :2831-2846.

47. Hennebelle T. (2006). Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota Pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. Ecole Doctorale Sciences de la Matière du rayonnement et de l'Environnement. France.

48. Hubert A.J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bio ingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p 174

49. Ignat I., Volf I., Popa I.V. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry* 126: 1821-1835.

50. Igor Passi L.B. (2002). Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloides*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.

51. Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. (2001). Larousse des plantes medicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.

52. Ito N., Fukushima S., Tsuda H. (1985). "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic responses by BHA, BHT and other antioxidants". *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 15: 109-150.

53. Jaccot B., CampilloB. (2003). Nutrition humaine. MASSON, Paris. 311.

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

55. Kansole M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppossta vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir

un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

- 56. Karagozler A., Erdag B., Calmaz Emek Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*. 111 :400-407
- 57. Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O. (2004).** Identification of active parincipales of *M.balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *Medical Science*. 4 : 179-182.
- 58. Koechlin-Ramonatxo.C.(2006).**Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation ,or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. **20**:165-177.
- 59. Kohen R., Nyska A. (2002).** Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*. **30**: 620-650.
- 60. Landis G.N., Tower J. (2005).** Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech. Ageing Dev*. 126: 365–379.
- 61. Larkins N., Wynn S. (2004).** Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34, 291-327.
- 62. Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines. *La Presse médicale*. **30**: 1076-1081.
- 63. Lhuillier A. (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *agauria polyphylla* Baker (*ericaceae*), *tambourissa trichophylla* Baker (*monimiaceae*) et *embelia concinna* Baker (*myrsinaceae*). Doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, spécialité : sciences des Agroressources, p 214.
- 64. Li H. Y., Hao Z. B., Wanga X.L., Huang L., Li J.P. (2009).** Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Bioresource Technology*. 100: 970-974.
- 65. Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L., Ming-Jiuan W. (2003).** Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifeca* Gertn), *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.

- 66. Liuk L., Sun Y., Laura T., Liang X., Ye H., Zeng X. (2009).** Determination of polyphenolic content and antioxydant activity of Kudingcha made from *Ilex Kudingcha* C.J. *Tseng. Food chemistry*. 112 : 35-4.
- 67. Lucienne A.D. (2010).** Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition Berti. 20-6.
- 68. Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica Szegedientis*. 1-4.125-119.
- 69. Macheix J.J., Fleuriet A., Jay Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques. 192-1.
- 70. Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R. (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranien Journal of pharmaceutical Research*. 77-82.
- 71. Malecky M. (2006).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat de l'institut des sciences et des industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech), spécialité physiologie de la nutrition animale (biotechnologie), France.
- 72. Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecines Sciences*, 20, 458-464.
- 73. Martin S., Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie* 51, 304-315.
- 74. Mata A.T., Proenc C., Ferreira, A.R., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Araujo M.E.M. (2007).** Antioxidant and anti-acetyl cholinesterase activities of five plants used as portuguese food spices. *Food Chem.*, 103 :778-786.
- 75. Matanju P., Mohammed S., Mohammed Mustapha N ., Muhammad K., Ming C.H. (2008).** Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *J Appl Phycol*. 20:367-373.
- 76. Maydani M. (2000).** Vitamine E and prevention of heart disease in high risk patients. *Nutr. Rev*, 58, 278-281.

77. Meir S., Kanner J., Akiri B., Philosoph-Hadas S. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 1813-1819 .
78. Merghem R. (2009). Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: 107-133.
79. Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, 3, 173-193.
80. Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur. Domaine : Pharmacochimie, p 268.
81. Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S. (2005). Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.
82. Moheb A., Ibrahim R.K., Roy R., Sarhan F. (2011). Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. *Phytochemistry* 72: 2294- 2307.
83. Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R., Krishna D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.*, 33 : 2-16.
84. Nielsen B.E. (1970). Coumarins of umbelliferous plants. *Dan. Tidskr. Farm.*, 44, 111–286.
85. Novak I., Buzas G., Minker E., Kolfai M., Szendrei K. (1966). Alkylated isocoumarins from *pituranthos scoparius*, *Natural Product Research, Planta Med.*, 14, 57– 61.
86. Oloyede O.I. (2005). Chemical Profile of Unripe Pulp of *carica papaya*. *Pakistan Journal of nutrition*. 4 :379-381 .
87. Ozanda P. (1991). Flore et végétation du sahara. (3éme édition, augmentée). Ed. CNRS, Paris : 662 p.
88. Ozanda P. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer, *Journal of Ethnopharmacology* (105) 358–367.

- 89. Ozsoy-Sacan O., Yanardag R., Orak H. (2006).** Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 104(1–2): 175–81.
- 90. Patel R.P., Moellering D., Murphy-Ullrich J., Jo H., Beckman J.S., Darley-Usmar V.M. (2000)** Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 28:1780–1794. [Pub Med].
- 91. Perrin J.L. (1992).** Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Revue française des corps gras*. N° 39. P 25-32.
- 92. Peter H., Raven R., Franklin E., Susan E.E. (2003).** *Biologie végétale*, De Boeck Université, 968 p. (ISBN 2-7445-0102-6, 9782744501029).
- 93. Pietta P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. **63**: 1035-1042.
- 94. Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002).** Physiological action of antioxidant defenses. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **16**: 233-239.
- 95. Pourrut B. (2008).** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse spécialité : Ecotoxicologie. France.
- 96. Quzel P., Santa S. (1962-1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 1, Tome 2). Ed du centre national de la Recherche Scientifique.
- 97. Rita N., Farit A. (2009).** Natural polyphenols as anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-angiogenic agents in the metabolic syndrome. In *Oxydative Stress, Inflammation and Angogenesis*, Ed Springer Science, Business Media B.V. Université de Porto : Portugal.147-180.
- 98. Saiedirad M.H., Tabatabaeefar A., Borghei A., Mirsalehi M., Badii F., Ghasemi Varnamkhasti M. (2008).** Effects of moisture content, seed size, loading rate and seed orientation on force and energy required for fracturing cumin seed « *Cuminum cyminum* ». under quasi-static loading. *J. food Engineering* ;86 :565-572.

- 99. Servais S. (2002).** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : effets de l’âge et d’une supplimentation en Oméga-3. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard. Lyon.
- 100. Soine T.O. (1964).** Naturally occurring coumarins and related physiological activities. *J. Pharm. Sciences.*, 53, 231–264.
- 110. Sole M.J. (2002).** Conditioned nutritional requirements : therapeutic relevance to heart failure. *Hers*27, 174-8.
- 120. Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* 327: 649-662.
- 121. Stefano V.D., Avellone G., Bongiorno D., Cunsolo V., Muccilli V., Sforza S., Dossena A., Drahos L., Vekey K. (2012).** Applications of HPLC-MS for food analysis. *Journal of Chromatography A.*
- 122. Stevanovic T. (2005).** Chimie du bois. CHM-22170. Université Laval. Québec.
- 123. Su M.S., Shyu Y. T., Chien P.J. (2008).** Antioxydant activities of citrus herbal product extracts. *Food chemistry.* 111: 892-896.
- 124. Suhaj M. (2006).** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis.* 19 : (6-7); 531-537.
- 125. Tereschuk M.L, Baigorí M.D., De Figueroa L.I., Abdala L.R. (2004).** Flavonoids from *Argentine Tagetes* (Asteraceae) with antimicrobial activity. *Public Health Microbiology . Methods in Molecular Biology.* 268: 317-330.
- 126. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39:44-84.
- 127. Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions.* 160: 1-40.

- 128. Valls J., Millan S., Marti M.P., Borrás E., Arola L. (2009).** Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of chromatography A*, 1216: 7143-7172.
- 129. Verite P., Nacer A., Kabouche Z., Seguin E. (2004).** Flavour. Fragr. Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz. *J.*, **19** (6), 562
- 130. Vermerris W., Nicholson R. (2006).** Phenolic compound biochemistry. *Springer, Dordrecht*. ISBN: 1001-4020-5163-8.
- 131. Vernin G., Lageot C., Ghiglione C., Dahia M., Parkanyi C. (1999).** Comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian septentrional Sahara. *J. Essent. Oil Res.*, (**40**), 11, 673.
- 132. Vora S.R., Patil R.B., Pillai M.M. (2009).** Protective effects of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex A. W. Hill leaf extract on D-galactose-induced oxidative stress in mouse brain. *Indian J Exp Biol* 47(5): 338–42.
- 133. W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J.P., L–Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG., Burrowes J. (2007).** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, **137** (3 supp 1) : 718 s-737 s.
- 134. Wada L., Ou B. (2002).** Antioxidant activity and phenolic content of Oregon cranberries. *J. agric. food chem.*, 50.3495-3500.
- 135. Yao L.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 : 113-122.
- 136. Yu R., Mandlekar S., Tony Kong A.N. (2000).** "Molecular mechanisms of butylated hydroxylanisoleinduced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c". *Molecular Pharmacology*, 58: 431- 437. EPHE.
- 137. Yun-Zhong Fang. (2002).** *Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition*. Nutrition 18: 872-879.

138. Zelko I.N., Marian T.J., Folz R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family : a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology & medicine*. **33**: 337-349.

Annexes

- **Réactif de Mayer** : dissoudre 1.358g d' HgCl_2 dans 60 ml d'eau distillée puis 5 g de KI dans 10 ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.
- **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 2.27g de I_2 . Le volume est ajusté à 100 ml d'eau distillée.
- Alcool chlorhydrique : Mélange à volumes égaux d'alcool à 95° et d'acide chlorhydrique concentré.
- Liqueur de Fehling :
 - ✓ Fehling A : dissoudre 3.5 g de sulfate de cuivre penta hydraté $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans 50 ml d'eau distillée.
 - ✓ Fehling B : dissoudre 6.5 g d'ammoniaque NH_4OH , 17.3 g de tartrate de sodium et de potassium dans 35 ml d'eau distillé puis compléter le volume à 50 ml.Les composés réducteurs donnent avec le réactif de Fehling un précipité rouge brique.
- **Préparation de la solution tampon PBS (0.2M ; PH=6.6)** :
 - ✓ **Solution Basique** : dissoudre 2.84g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 100 ml eau distillé.
 - ✓ **Solution Acide** : dissoudre 4.6815g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 150 ml eau distillé.Mélanger 75 ml de la solution basique, et 125 ml pour la solution acide pour un volume total égal à 200 ml.

Résumé

Dans le cadre des études portant sur la recherche d'antioxydants naturels, la présente étude a été effectuée sur une plante médicinales du Sahara d'Algérien : *Pituranthos scoparius* (Guezzah) et cela dans le but d'évaluer l'activité antioxydante.

L'extraction a été effectuée par deux méthodes : l'extraction sous reflux à chaud et par macération à froid des différents organes de la plante : fleurs, tiges et racines, ensuite l'extraction des flavonoïdes (extraction par E/MeOH) qui a été réalisée par l'utilisation de solvants à polarité croissante.

L'analyse phytochimique a révélé la présence plus au moins marqué de: tanins, coumarines, sucres réducteurs, terpénoïde, Stérols et terpènes, quinones et flavonoïdes dont leurs présence a été confirmée par le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.

Concernant l'activité antioxydante des parties de la plante, le pouvoir réducteur des extraits des racines par fractionnement été plus élevé que celui de l'acide ascorbique, il en est de même pour les extraits de partie aériennes.

On peut dire que, cette plante présente une activité antioxydante modeste.

Mots clés : *Pituranthos scoparius*, métabolites secondaires, activité antioxydante, FRAP.

Abstract

Within the framework of studies on finding natural antioxidants, this study was performed on a medicinal plant of the Algerian Sahara: *Pituranthos scoparius* (Guezzah) and that in order to evaluate antioxidant activity.

The extraction was performed by two methods: extraction under reflux with heating and cold maceration of the different organs of the plant, then the extraction of flavonoïds (E/ MeOH) which was followed by the use of solvents with increasing polarity.

Phytochemical analysis revealed the presence of more or less marked: tannins, coumarins, reducing sugars, terpénoïde, sterols and terpenes, quinones and flavonoïds which their presence was confirmed by the determination of total polyphenols and flavonoïds.

Regarding the antioxidant activity of the plant parts, the reducing power of the extracts of the roots by the fractionation was higher than that of ascorbic acid, it is also in extracts of aerial part.

Arguably, this plant has a modest antioxidant activity

Key words: *Pituranthos scoparius*, secondary metabolites, antioxidant activity, FRAP.

ملخص

في إطار الدراسات حول البحث عن مضادات الأكسدة الطبيعية، تم إجراء هذه الدراسة على نبتة طبية في الصحراء الجزائرية *Pituranthos scoparius* : (قزاح) و ذلك من أجل تقييم النشاط المضاد للأكسدة.

تم إجراء استخراج المركبات بواسطة طريقتين وذلك على مختلف أجزاء هذه النبتة، ثم استخراج مركبات الفلافونويد بواسطة مزيج الماء و الميتانول الذي تبعه استخدام المذيبات.

كشفت التحليل الكيميائي النباتي وجود المركبات الثانوية بنسب مختلفة و متفاوتة في جميع أجزاءها.

بخصوص نشاط مضادات الأكسدة لأجزاء *Pituranthos scoparius* ، لاحظنا نشاط كبير للجذور حيث أنها أعلى من حمض الأسكوربيك،

يمكن القول، هذا النبات يحتوي على نشاط بيولوجي مثير للاهتمام.

الكلمات المفتاحية : المركبات الثانوية، النشاط المضاد للأكسدة.

