

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid
Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

تلمسان الجزائر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA)

THÈSE

Présentée par : M^{me} HADRI Née GHEMBAZA NASSIRA

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET BIOCHIMIE

Option : Produits naturels, Aspects nutritionnels et Activités biologiques

THEME

**Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes
Sedum villosum L. (Orpin.) et *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.)**

Soutenue le : 17/ 09 / 2015

Devant le jury

Présidente :	M ^{me} BENDIMERED N.	Professeur	Université de Tlemcen
Examineurs :	M ^{me} BENNACEUR M.	Professeur	Université d'Oran
	Mr DJEBLI N.	Professeur	Université de Mostaganem
	Mr DIB A.	MCA	Université de Tlemcen
Directrice de thèse :	M ^{me} ATIK-BEKKARA F.	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2015 - 2016

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au Laboratoire des Produits Naturels (LAPRONA) du département de Biologie, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par **M^{me} ATIK-BEKKARA F.**, Professeur de phytochimie à la Faculté SNV-STU de Tlemcen. Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon sujet de recherche. Je la remercie de m'avoir fait confiance et d'avoir été présente aussi souvent que possible malgré ses tâches administratives comme Chef d'équipe « Etude des composés volatils (huiles essentielles) et des composés phénoliques (flavonoïdes) » au laboratoire LAPRONA et responsable du doctorat LMD. Son soutien permanent et son dynamisme m'ont permis d'avancer plus loin dans mes recherches.

Je tiens à remercier **M^{me} BENDIMERED N.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury. Quelle trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect.

Mes remerciements vont aussi à **M^{me} BENNACEUR M.**, Professeur à l'Université d'Oran, d'avoir ménagé son temps pour juger et critiquer ce travail. Je suis particulièrement reconnaissante et honorée par sa participation au jury de cette thèse.

Que **Mr DJEBLI N.**, Professeur à la Faculté des Sciences, Université de Mostaganem, trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements, de m'avoir fait l'honneur d'être examinateur et de participer au jury de ce travail.

Il m'est aussi agréable de remercier **Mr DIB A.**, Maître de conférences (A) à la Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, pour l'attention qu'il a bien voulu porter à ce travail, en acceptant de le juger en qualité de membre de jury.

Je remercie également **Mr MICHALET S.**, Maître de Conférences à l'université de Lyon, de m'avoir aidé à faire les analyses par la chromatographie en phase liquide ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLUHP/SM) au sein de son laboratoire.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à **M^{me} BELYAGOUBI-BENHAMMOU N.**, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, pour les services rendus au cours de la préparation de cette thèse, son aide, sa bonne humeur, et ses encouragements.

J'adresse mes vifs remerciements aux docteurs **M^{me} STAMBOLI H.** et **Mr HASSANI F.**, membres du laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes Naturels au Département de Biologie et Environnement, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour m'avoir aidé à identifier les espèces végétales étudiées.

Mes remerciements vont aussi à l'égard de **Mr BOUABDALLA H.**, Maître assistant à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir donné les coordonnées géographiques de nos stations d'étude.

Je remercie les techniciens du laboratoire pédagogique : **Mr AMEL S.** et **Mr DAHMANI A.** pour leur aide matérielle, **Mr LOUKILI A.** pour les analyses HPLC.

J'adresse encore mes remerciements à tous les doctorants et les membres du laboratoire de produits naturels qui contribuent par leur bonne humeur à créer un cadre de travail agréable.

Pour terminer, je dédie ce manuscrit à ma famille, tout particulièrement mes parents pour leur soutien, leur amour et leur sagesse qui m'ont permis d'aboutir au grade de Docteur en biologie. Mes pensées vont à mes frères pour leur présence de tous les instants, leur sympathie et leurs encouragements qu'ils m'ont apporté.

Un grand merci à mon mari **Abdellah** pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles ainsi qu'à mes fils **Ali** et **Houcine** pour la joie qu'ils nous procurent.

RÉSUMÉ

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des ressources naturelles, nous nous sommes intéressées par l'étude phytochimique et l'activité antioxydante d'une plante saharienne *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.), et une plante de la région de Tlemcen *Sedum villosum* L. (Orpin.).

Les résultats obtenus montrent la richesse de nos plantes en tanins, moyennement en flavonoïdes et en saponosides. Nous avons enregistré des meilleurs rendements dans les extraits bruts méthanoliques des deux plantes de l'ordre de 5.47 % dans les rameaux, 4 % dans les racines d'*A. articulata* et 5.17 % dans la partie fleurie de *S. villosum*. Les autres métabolites secondaires tels que les tanins, les saponosides et les flavonoïdes (fraction acétate d'éthyle) présentent des rendements élevés dans la partie fleurie de l'espèce *S. villosum* par rapport aux deux autres parties de la plante *A. articulata*.

L'extrait brut méthanolique de la partie fleurie de *S. villosum* révèle la teneur la plus élevée en phénols totaux de l'ordre de 32.235 ± 1.128 mg EAG/g MS. Cette partie montre sa richesse aussi en tanins condensés et en flavonols dont les teneurs sont de l'ordre de 7.424 ± 0.882 mg EC/g MS et 6.198 ± 0.127 mg EQ/g MS, respectivement. Pour les flavonoïdes, les teneurs enregistrées dans les rameaux (3.081 ± 0.205 mg EC/g MS) et les racines d'*A. articulata* (3.800 ± 0.062 mg EC/g MS) sont très élevées par rapport à la partie fleurie de *S. villosum* (0.531 ± 0.371 mg EC/g MS), mais la teneur en caroténoïdes totaux des deux plantes est presque similaire.

L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par quatre méthodes a révélé des capacités antioxydantes chez tous les extraits et les fractions. L'extrait brut de la partie fleurie de *S. villosum* a montré une meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de 9.846 ± 0.133 , mg EAA/g MS, un bon piègeur de radical libre DPPH[•] ($EC_{50} = 0.537 \pm 0.007$ mg/ml), mais il possède une faible capacité réductrice ($EC_{50} = 0.733 \pm 0.001$ mg/ml) et un pouvoir inhibiteur moyen du blanchiment du β -carotène ($EC_{50} = 2.24 \pm 0.076$ mg/ml). Pour *A. articulata* les extraits des racines sont actifs par rapport aux extraits des rameaux dans la méthode de la réduction de fer, la technique du piégeage du radical libre DPPH et dans le test du blanchiment de β -carotène.

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et la spectrophotométrie UV-Visible nous ont permis de mettre en évidence des molécules de type acides phénols pour les racines d'*A. Articulata*, flavone et flavonol pour la partie fleurie de *S. villosum*. L'analyse par CLUHP/SM de cette dernière, nous a permis d'identifier deux glycosyl de flavones dont le composé 1 est le 7,3'-dihydroxyflavone-5-O-dihexosyl-4'-O-désoxyhexose et le composé 2 est le 7, 3'-dihydroxyflavone-5-O-hexose 4'-O-désoxyhexose.

Mots clés : *Anabasis articulata*; *Sedum villosum* ; Activité antioxydante ; CLHP/UV-Visible ; CLUHP/SM.

ABSTRACT

Within the framework of discovered new antioxidants from the natural resources, we have investigated in this work, phytochemical study and the antioxidant activity of a Saharan plant *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.), and a plant in the region of Tlemcen *Sedum villosum* L. (Orpin.).

The results obtained showed the richness of our plants in tannins, medium flavonoids and saponins. We recorded the better yields in the two methanolic crude extracts of plants of the order 5.47 % in the Stems, 4 % in the root of *A. articulata* and 5.17 % in the aerial parts of *S. villosum*. Other secondary metabolites such as tannins, saponins and flavonoids (ethyl acetate fraction) have high yields in the flower of the species *S. villosum* compared to the other two parts of the plant *A. articulata*.

The crude methanol extract of the flower part of *S. villosum* reveals the highest content of total phenols of about 32.235 ± 1.128 mg GAE/g DM. This section also shows his wealth condensed tannins and flavonol contents of which are of the order of 7.424 ± 0.882 (mg CE/g DM) and 6.198 ± 0.127 mg QE/ g DM), respectively. For flavonoids, the levels recorded in the twigs (3.081 ± 0.205 mg CE/g DM) and roots of *A. articulata* (3.800 ± 0.062 mg CE/g DM) are very high compared to the flowery part of *S. villosum* (0.531 ± 0.371 (mg CE/g DM), but the total carotenoids content of the two plants is almost similar.

The evaluation of the antioxidant power of four *in vitro* methods showed antioxidant capacity in all extracts and fractions. The crude extract of the flower part of *S. villosum* has a better total antioxidant capacity of the order of 9.846 ± 0.133 , 9.760 (mg AAE/g DM), good scavenger of free radicals DPPH• ($EC_{50} = 0.537 \pm 0.007$ mg/ml), but it has a low reducing capacity ($EC_{50} = 0.733 \pm 0.001$ mg/ml) and a means of inhibiting power bleaching β -carotene ($EC_{50} = 2.24 \pm 0.076$ mg/ml). For *A. articulata* extracts of roots are active compared to extracts from branches in the reduction method of iron, the technique of trapping free radical DPPH and the test of the β -carotene bleaching.

The high-performance liquid chromatography (HPLC) and UV-visible spectrophotometry allowed us to identify molecules type phenolic acids for the roots of *A. Articulata*, flavone and flavonol for the flower of *S. villosum*. Analysis by UHPLC / MS it has allowed us to identify two glycosyl flavones whose composé1 is the 7,3'-dihydroxyflavone-5-O-dihexosyl-4'-O-desoxyhexose and compose 2 is the 7,3'-dihydroxyflavone-5-O-hexose 4'-O-desoxyhexose.

Keywords: *Anabasis articulate*; *Sedum villosum* ; antioxidant activity ; HPLC/ UV-Visible ; UHPLC / MS.

ملخص

تدخل هذه الدراسة ضمن إطار اكتشاف مكونات مضادات جديدة للأكسدة من مصادر طبيعية، ولهذا الغرض قمنا في بحثنا هذا بدراسة التركيبية الكيميائية والفعالية المضادة للأكسدة لنببتين إحداهما صحراوية والثانية من منطقة تلمسان، إسماهما اللاتينيين هما على التوالي: (الشَّنَان المفصلي) *Anabasis articulata* Moq. و (السدَم الزغبي) *Sedum villosum* L.

أظهرت نتائج الدراسة غنى كلتا النبتتين بالعفص (التانينات)، الفلافونويدات والسابونينات، كما سجلنا أعلى مردودات للمستخلصات الميثانولية الخام: 5.47 % في السيقان و 4 % في الجذور في نبتة الشَّنَان 5.17 % في الجزء المزهَر لنبتة السدم.

أما بالنسبة للمركبات الثانوية الأخرى مثل العفص، السابونين وفلافونيدات (مستخلص خلات الإيثيل) لم تكن المردودات عالية إلا في الجزء المزهَر لنبتة السدم مقارنة بجزءين اثنين في نبتة الشَّنَان.

أظهر المستخلص الميثانولي الخام لنبتة السدم أعلى محتوى من الفينولات الإجمالية بما يعادل 1.128 ± 32.235 ملغ من حمض الغاليك في جرام من المادة الجافة، كما أظهر نفس المستخلص غناه بالعفص المكثف والفلافونوات بم يعادل بالترتيب 0.882 ± 7.424 ملغ من الكاتيشين في جرام من المادة الجافة و 0.127 ± 6.198 ملغ من الكيرسيتين في جرام من المادة الجافة. أما بالنسبة للفلافونويدات فكانت المحتويات كالآتي: جذور وسيقان نبتة الشَّنَان بما يعادل بالترتيب 3.800 ± 0.062 و 0.205 ± 3.081 ملغ من الكاتيشين في جرام من المادة الجافة، متبوعة بالجزء المزهَر لنبتة السدم بما يعادل 0.371 ± 0.531 ملغ من الكاتيشين في جرام من المادة الجافة، وفي ما يخص الكاروتينويدات كان لكلتا النبتتين تراكيز مماثلة تقريبا.

كشفت تجارب الفعالية المضادة للأكسدة المخبرية (*in vitro*) لكل المستخلصات باتباع أربعة طرق مختلفة على أن المستخلص الخام للجزء المزهَر من نبتة السدم هو الأكثر فعالية إذ أظهر أحسن قدرة مضادة للأكسدة الإجمالية عادت 0.133 ± 9.846 ملغ من حمض الأسكوربيك في جرام من المادة الجافة، وكان أحسن منظم للجذور الحرة بقيمة تركيز تثبيطي أقصى حتى النصف (IC_{50}) لم تتعدى 0.007 ± 0.537 ملغ/مل، ولكن عكس هذا كانت له قدرة اختزالية ضعيفة تساوي 0.001 ± 0.733 ملغ/مل وقدرة كابحة لتبييض البيتل-كاروتين متوسطة 0.076 ± 2.24 ملغ/مل. بالنسبة لنبتة الشَّنَان الجذور تنشط مقارنة بالفروع في طريقة الحد من الحديد، وأسلوب محاصرة الجذور الحرة DPPH واختبار لتبييض β كاروتين.

سمحت لنا تقنيتنا استشراب السائل ذات الاداء العالي (CLHP) ومطيافية الضوء المرئي/فوق البنفسجي (UV/Vis spectroscopy) بتسليط الضوء على جزيئات من نوع الأحماض الفينولية بالنسبة لجذور نبات الشَّنَان و فلافون وفلافونول بالنسبة للجزء المزهَر لنبتة السدم. باستعمال تقنية استشراب السائل ذات الاداء العالي المقترنة لمطيافية الكتلة (CLUHP/SM) تمكنا من تحديد جزيئين من غليكوزيلات الفلافون وهما:

- 7,3'-dihydroxyflavone-5-O-dihexosyl-4'-O-désoxyhexose
- 7, 3'-dihydroxyflavone-5 -O-hexose 4'-O-désoxyhexose

Ⓜ **كلمات مفتاحية:** (الشَّنَان المفصلي) *Anabasis articulata* Moq.، (السدَم الزغبي) *Sedum villosum* L.، الفعالية المضادة للأكسدة، CLHP/الأشعة فوق البنفسجية المرئي، CLUHP/SM.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Abréviations

Introduction générale

Introduction 2

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les métabolites secondaires 6

1. Introduction 6

2. Les saponines 6

3. Les alcaloïdes 6

4. Les composés phénoliques 7

4.1. Les acides phénols 8

4.2. Les flavonoïdes 9

4.3. Les anthocyanes 10

4.4. Les flavanes 11

4.5. Les tanins 11

5. Biosynthèse des composés phénoliques 12

5.1. La voie de l'acide shikimique 12

5.2. La voie de l'acide malonique 12

6. Quelques intérêts thérapeutiques des composés phénoliques 14

6.1. Prévention contre les maladies cardiovasculaires 14

6.2. Prévention anticancéreuse 14

6.3. Action anti-ulcère 15

6.4. Action gastro-protectrice 15

6.5. Prévention contre les maladies hormono-dépendantes 15

6.6. Autres activités biologiques	15
Chapitre 2 : Présentation des plantes étudiées	17
1. <i>Sedum villosum</i> L. (Orpin.)	17
1.1. Introduction	17
1.2. Position systématique	17
1.3. Description botanique de <i>Sedum villosum</i>	17
1.4. Propriétés et usages thérapeutiques	18
1.5. Travaux antérieurs	19
2. <i>Anabasis articulata</i> Moq. (Forsk.)	19
2.1. Introduction	19
2.2. Position systématique	20
2.3. Description botanique d' <i>Anabasis articulata</i>	20
2.4. Propriétés et usages thérapeutiques	21
2.5. Travaux antérieurs	21
Chapitre 3 : Radicaux libres et activité antioxydante	22
1. Introduction	22
2. Les radicaux libres	22
3. Les principales sources d'espèces réactives oxygénées	23
4. Implications pathologiques d'espèces réactives oxygénées	23
5. Les antioxydants et leurs classifications	24
6. Evaluation de la capacité antioxydante <i>in vitro</i>	26
Partie expérimentale	
Chapitre 1 : Criblage phytochimique et extraction des métabolites secondaires	29
Introduction	29
1. Choix du matériel végétal et caractéristiques de la station d'étude	29
1.1. Conservation du matériel végétal	30
1.2. Identification botanique	30
2. Tests phytochimiques	31
2.1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude	31
2.1.1 Détection d'amidon	31
2.1.2 Détection des saponosides	31
2.1.3 Recherche des tanins	32
2.2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol	32
2.2.1 Détection des flavonoïdes	32

2.2.2	Détection des composés réducteurs	32
2.2.3	Recherche des tanins galliques et cathéchiques	32
2.3.	Autres métabolites secondaires	33
2.3.1.	Détection des alcaloïdes	33
2.3.2.	Détection des coumarines	33
2.3.3.	Recherche des stérols et triterpènes	33
3.	Préparation des extraits de <i>S. villosum</i> et d' <i>A.articulata</i>	34
3.1.	Extraits bruts méthanoliques	34
3.2.	Extraction des flavonoïdes	34
3.3.	Extraction des tanins	35
3.4.	Extraction des saponosides	36
3.5.	Extraction des alcaloïdes totaux	37
	Chapitre 2 : Quantification des teneurs des composés phénoliques et évaluation du pouvoir antioxydant des extraits	39
	Introduction	39
1.	Teneurs des composés phénoliques	39
1.1.	Teneurs en phénols totaux	39
1.2.	Teneurs en flavonoïdes	39
1.3.	Teneurs en tanins condensés	40
1.4.	Teneurs des flavonols totaux	40
2.	Teneur en caroténoïdes totaux	41
3.	Activité antioxydante	41
3.1.	Capacité antioxydante totale (CAT)	41
3.2.	Réduction du fer (FRAP)	42
3.3.	Piégeage du radical libre DPPH [•]	42
3.4.	Test du blanchiment de β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique	43
3.5.	Analyse statistique	44
	Chapitre 3 : Séparations chromatographiques et analyses des composés actifs des extraits bruts	45
	Introduction	45
1.	Séparations chromatographiques	45
1.1.	Préparation de l'extrait brut méthanolique	45
1.2.	Fractionnement et isolement des composés	45
2.	Analyse des composés des extraits bruts méthanoliques	49

2.1. Spectrophotométrie UV-Visible	49
2.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)	50
2.3. Analyse de la sous-fraction F16-8 par CLUHP/SM (Agilent 1290).....	51
Résultats	
Chapitre 1 : Screening phytochimique et rendements en extraits sec	54
1. Screening phytochimique	54
2. Rendements en extraits sec	54
Chapitre 2 : Teneurs des composés phénoliques et activité antioxydante des métabolites secondaires	56
1. Teneurs en phénols totaux, tanins condensés, flavonoïdes, flavonols et caroténoïdes totaux	56
2. Pouvoir antioxydant des extraits	58
2.1. Activité antioxydante totale (CAT)	59
2.2. Réduction de fer (FRAP).....	60
2.3. Piégeage du radical libre DPPH [•]	63
2.4. Méthode de blanchiment du β -carotène	67
Chapitre 3 : Analyses des composés actifs des extraits bruts méthanoliques des racines d'<i>A. articulata</i> et de la partie fleurie de <i>S. villosum</i>	70
1. Séparations chromatographiques	70
1.1. <i>Sedum villosum</i>	70
1.2. <i>Anabasis articulata</i>	71
2. Analyse des composés par CLHP, spectrophotométrie UV-Visible et CLUHP/SM des racines d' <i>A. articulata</i> et de la partie fleurie de <i>S. villosum</i>	73
2.1. Analyse par CLHP et spectrophotométrie UV-Visible	73
2.2. Analyse de la sous-fraction F16-8 par CLUHP/SM	77
Discussion	
Discussion	81
Conclusion générale	
Conclusion générale	88
Références bibliographiques	92
Annexes	107
Publications et communications	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant <i>in-vitro</i>26
Tableau 2 : Lieu de récolte des plantes et caractéristiques géographiques et bioclimatiques des stations d'étude3
Tableau 3 : Résultats des tests phytochimiques54
Tableau 4 : Rendements en extraits obtenus à partir de <i>S. villosum</i> et d' <i>A.articulata</i>55
Tableau 5 : Teneurs en phénols totaux, tanins condensés, flavonoïdes, flavonols et caroténoïdes totaux58
Tableau 6 : Concentration EC ₅₀ des extraits d' <i>A. articulata</i> et de <i>S. villosum</i> par FRAP63
Tableau 7 : Concentrations EC ₅₀ des extraits d' <i>A. articulata</i> et de <i>S. villosum</i> par DPPH66
Tableau 8 : Concentrations EC ₅₀ des extraits d' <i>A. articulata</i> et de <i>S. villosum</i> par le système β-carotène/ acide linoléique69
Tableau 9 : La mise en évidence des composés par CCM préparative de la fraction F13 de <i>S. villosum</i> et leurs pourcentages d'inhibition.....	.70
Tableau 10 : La mise en évidence des composés par CCM préparative de la fraction F12 d' <i>A. articulata</i> et leurs pourcentages d'inhibition72
Tableau 11 : Molécules obtenues par CCM préparative de la sous fraction F12.2 d' <i>A. articulata</i>72
Tableau 12 : Essai d'identification des composés phénoliques74

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Quelques acides phénols de la série benzoïque	8
Figure 2 : Quelques acides phénols de la série cinnamique.....	8
Figure 3 : Structure du flavone.....	9
Figure 4 : Structure du flavane.....	9
Figure 5 : Diverses classes de flavonoïdes.....	10
Figure 6 : Structure d'une anthocyane	10
Figure 7 : Structure de la (+) – catéchine	11
Figure 8 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols.....	13
Figure 9 : Photo de <i>Sedum villosum</i> L. (Orpin.).....	18
Figure 10 : Photo d' <i>Anabasis articulata</i> Moq. (Forsk.)	20
Figure 11 : Situation géographique des stations d'étude	30
Figure 12 : Protocole d'extraction d'extrait brut méthanolique.....	34
Figure 13 : Protocole d'extraction des flavonoïdes.....	35
Figure 14 : Protocole d'extraction des tanins.....	36
Figure 15 : Protocole d'extraction des saponosides	37
Figure 16 : Protocole d'extraction des alcaloïdes	38
Figure 17 : Protocole d'extraction, séparation et analyse de la partie fleurie de <i>S. villosum</i>	47
Figure 18 : Protocole d'extraction, séparation et analyse des racines d' <i>A. articulata</i>	48
Figure 19 : Les bandes caractéristiques d'un squelette de flavonoïdes	49
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	56
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	56
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés	57
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.....	57
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de β -carotène pour le dosage des caroténoïdes	57
Figure 25 : Comparaison de la capacité antioxydante totale des extraits des plantes étudiées.....	59
Figure 26 : Pouvoir réducteur des extraits de plante <i>S. villosum</i>	60
Figure 27 : Pouvoir réducteur des extraits des rameaux d' <i>A. articulata</i>	61
Figure 28 : Pouvoir réducteur des extraits des racines d' <i>A. articulata</i>	61
Figure 29 : Pourcentages d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations des extraits de plante <i>S. villosum</i>	64

Figure 30 : Pourcentages d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations des extraits de rameaux d' <i>A. articulata</i>64
Figure 31 : Pourcentages d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations des extraits de racines d' <i>A. articulata</i>65
Figure 32 : Pourcentages d'inhibition de blanchiment du β -carotène en fonction des concentrations des extraits de plante <i>S. villosum</i>67
Figure 33 : Pourcentages d'inhibition de blanchiment du β -carotène en fonction des concentrations d'extraits des rameaux et des racines d' <i>A. articulata</i>68
Figure 34 : Photo de la séparation par CCM sur gel de silice des fractions F13 et F16 de <i>S. villosum</i>71
Figure 35 : Photo de la séparation par CCM sur gel de silice des composés de la fraction F12 d' <i>A. articulata</i>73
Figure 36 : Spectres et chromatogrammes des sous-fractions F13.7 , F13.8 de la partie fleurie de <i>S. villosum</i>75
Figure 37 : Spectres et chromatogrammes des molécules F12.2a , F12.2b , F12.2c des racines d' <i>A. articulata</i>76
Figure 38 : Chromatogramme de la sous- fraction F16.8 de la partie fleurie de <i>S. villosum</i> : UV enregistré à 280 nm (A) et courant d'ions total (TIC) en electrospray mode positif (ESI ⁺) (B).....	.78
Figure 39 : Spectre UV et spectre de fragmentation en mode positif [M+H] ⁺ du composé 1(7,3'-dihydroxyflavone-5- <i>O</i> -dihexosyl-4'- <i>O</i> -désoxyhexose)79
Figure 40 : Spectre UV et spectre de fragmentation en mode positif [M+H] ⁺ du composé 2 (7, 3'-dihydroxyflavone-5 <i>O</i> -hexose 4'- <i>O</i> -désoxyhexose).80

ABRÉVIATIONS

- ABTS : Acide 2,2'-azinobis 3-éthylbenzo-triazoline-6-sulphonate
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AlCl₃ : Chlorure d'Aluminium
- BHA : Butyl hydroxy anisole
- BHT : Butyl hydroxy toluène
- CAT : Capacité antioxydante totale (*Total antioxidant capacity*)
- CCM : Chromatographie sur couche mince
- CC : Chromatographie sur colonne
- DMPD : Balayage du radical cation N, N- diméthyl-p-phénylenediamine
- DO : Densité optique
- DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- ERO : les espèces réactives de l'oxygène
- EAA : Equivalents d'acide ascorbique
- FRAP : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (*Ferric reducing/antioxidant power*)
- CLUHP/DAD/SMHR:Chromatographie liquide à ultra-haute performance avec détecteur à barrettes d'iodes couplée à la spectrométrie à haute résolution
- H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
- I%: Pourcentage d'inhibition
- EC₅₀ : Concentration inhibitrice (Efficace concentration)
- ERU/g MS : Equivalent rutine par g de la matière sèche
- IOC : Capacité d'inhibition de l'absorption d'oxygène
- LDL : Lipoprotéines à basse densité (*Low density lipoproteins*)
- m/v : Rapport masse par volume
- NADPH : Nicotinamide adénosine dinucléotide phosphate (sous sa forme réduite)
- NBT : Activité de piégeage de l'anion superoxyde
- NH₄OH : Ammoniaque
- ORAC : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène (*Oxygen radical Absorbance capacity*)
- TEAC :Capacité antioxydante équivalente de Trolox (*Trolox-equivalent antioxidant capacity*)
- TRAP : Paramètre du piégeage du radical total
- Rf : Rétenion frontale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun *et al.*, 1996**).

De plus, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans le processus du stress oxydatif et la lutte contre les maladies infectieuses, mais la découverte des antioxydants synthétiques et des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine à base de plantes.

Cependant, les effets néfastes du stress oxydatif sur la santé humaine sont devenus un grave problème. L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que 80% des habitants de la terre s'appuyant sur la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé, et la plupart de ce traitement implique l'utilisation des extraits de plantes et leurs composants actifs (**Winston, 1999**). Sous stress, notre corps produit plus d'espèces réactives oxygénées (ERO), par exemple, les anions superoxydes, les radicaux hydroxyles et de l'hydrogène peroxyde, que des antioxydants enzymatiques (la catalase, la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase) et non enzymatiques (acide ascorbique, α -tocophérol, flavonoïdes et caroténoïdes). Ce déséquilibre entraîne des dommages cellulaires et un manque d'antioxydants, ceci facilite le développement des maladies dégénératives y compris les maladies cardiovasculaires, cancers ...etc. Une solution à ce problème est de compléter le régime alimentaire avec des composés antioxydants qui sont contenus dans les plantes (**Krishnaiah *et al.*, 2011**).

En effet, les antioxydants naturels de plantes peuvent servir comme un type de médecine préventive puisque les antioxydants synthétiques, tels que le butyl hydroxy toluène (BHT) et

le butyl hydroxy anisole (BHA), ont été largement utilisés dans l'industrie alimentaire comme antioxydants et peuvent être responsable des dommages au foie et la carcinogénèse. Pour cette raison, l'intérêt à l'utilisation des antioxydants naturels a été augmenté (**Krishnaiah et al., 2011**).

Actuellement, les plantes ont été à la base de la médecine traditionnelle à travers le monde depuis des milliers d'années et de continuer à fournir les nouveaux remèdes pour l'humanité, un grand effort a donc porté sur l'utilisation des techniques expérimentales disponibles pour identifier des antioxydants naturels à partir de plantes. Plusieurs auteurs ont examiné les utilisations bénéfiques de ces espèces végétales (**Speroni et Scartezzini, 2000; Matkowski, 2008 ; Hadj Salem et al., 2011 ; Benhammou et al., 2013 ; Kanoun et al., 2014**).

C'est dans cette optique que plusieurs études biologiques ont été effectuées. Pour apporter notre contribution à ce vaste travail, nous avons focalisé notre étude sur un screening phytochimique et une évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* d'extraits de deux plantes : *Sedum villosum* L. (Orpin.) et *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.).

Dans la première partie, le premier chapitre concerne l'étude bibliographique des métabolites secondaires et quelques activités biologiques de ces composés.

Dans le deuxième chapitre, nous rappelons la description (les caractères botaniques et la systématique) des deux espèces végétales : *S. villosum* L. (Orpin.) et *A. articulata* Moq. (Forsk.), l'intérêt biologique et quelques travaux antérieurs réalisés sur ces plantes.

Le troisième chapitre portera sur l'étude des radicaux libres, ceci est suivi par un rappel de quelques méthodes les plus utilisées (piégeage du radical DPPH[•], réduction de fer...) pour évaluer le pouvoir antioxydant *in vitro*.

Dans la deuxième partie, nous abordons la description du protocole expérimental qui se déroule en quatre volumes:

Dans le premier volume, nous avons réalisé les tests phytochimiques des principaux métabolites secondaires et l'extraction de principales familles. Dans le deuxième volume, nous nous sommes intéressés à la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tanins condensés) et des pigments liposolubles (caroténoïdes totaux) et l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits des plantes par quatre techniques chimiques : capacité antioxydante totale, réduction de fer, piégeage du radical libre

DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le blanchiment du β -carotène. Dans le troisième volume, nous avons effectué la séparation chromatographiques par la chromatographie sur colonne (CC), chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie sur couche mince préparative (CCM préparative) et l'analyse des composés actifs des extraits bruts méthanoliques des racines d'*A. articulata* et de la partie fleurie de *S.villosum* par la chromatographie liquide à haute performance (CLHP), la spectrophotométrie UV-Visible et la chromatographie en phase liquide à ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLUHP/SM). Enfin, dans le quatrième volume, nous avons rapporté les résultats obtenus et sa discussion.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralités sur les métabolites secondaires

1. Introduction

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes.

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques (**Epifano et al., 2007**).

2. Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, par ce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Ainsi on distingue fondamentalement, les saponines stéroïdiques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux, biosynthétiquement de l'oxydosqualène. Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, molluscicides (**Vincken et al., 2007**).

3. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (**Bruneton, 1999 ; Zenk et Juenger, 2007**).

Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures (**Roberts et Wink, 1999 ; Stöckigt et al., 2002**).

4. Les composées phénoliques

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considéré. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal.

Ces composés phénoliques sont hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (**Dangles *et al.*, 1992 ; Hagerman *et al.*, 1998 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Ces composés regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (**Bamforth, 2000**). Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 30000 Dalton, comme les tanins (**Hagerman *et al.*, 1998 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Comme la majorité des composés secondaires, les polyphénols sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant :

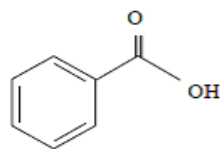
- Défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes.
- Dissuasion alimentaire. On parle du phénomène d'allélopathie : certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes.
- Protections contre les rayonnements UV. (**Druyne, 1999 ; Schiestl *et al.*, 2000, Yi-Cai *et al.*, 2000 ; Sasaki et Takahashi, 2002**).
- Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et la dispersion de graine.
- Ils interviendraient dans la fertilité des plantes et la germination du pollen (**Stalikas, 2007**).

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille, il y a de nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure en cinq groupes principaux :

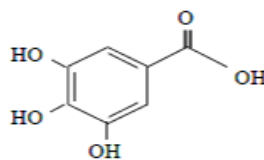
4.1. Les acides phénols

Les acides phénols, ou acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

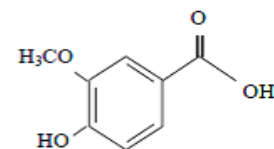
- Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides (Haslam, 1994). Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tanins hydrolysables (Figure 1).



Acide benzoïque



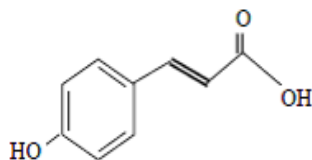
Acide gallique



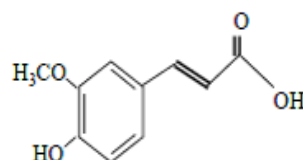
Acide vanillique

Figure 1 : Quelques acides phénols de la série benzoïque (Bruneton, 2009 ; Pawlowska *et al.*, 2006).

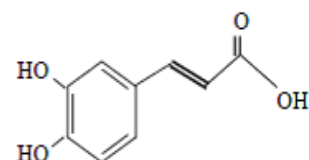
- Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique (Haslam, 1994 ; Bruneton, 2009) ; dont certains sont représentés dans la figure 2.



Acide cinnamique



Acide férulique



Acide caféique

Figure 2 : Quelques acides phénols de la série cinnamique (Bruneton, 2009 ; Pawlowska *et al.*, 2006).

4.2. Les flavonoïdes

Ce sont des pigments quasi universels des végétaux presque toujours hydrosolubles. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (**Bruneton, 1993; Rajnerayanama et al., 2001**).

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (**Figure 3**) portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base (**Bruneton, 1993**) (**Figure 4**).

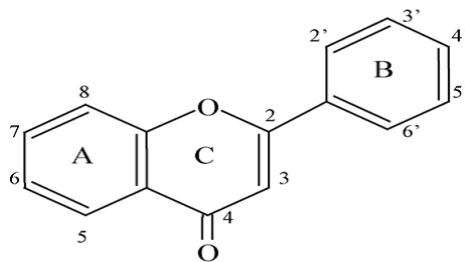


Figure 3 : Structure du flavone (**Harborne, 1999**).

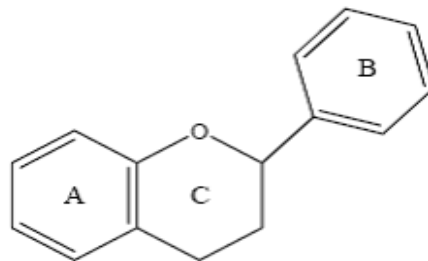


Figure 4: Structure du flavane (**Bruneton, 1993 ; Elicoh-Middleton et al ., 2000**).

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C (**Bruneton, 1993 ; Elicoh-Middleton et al., 2000**). Les différentes classes des flavonoïdes sont représentées dans **la figure 5**.

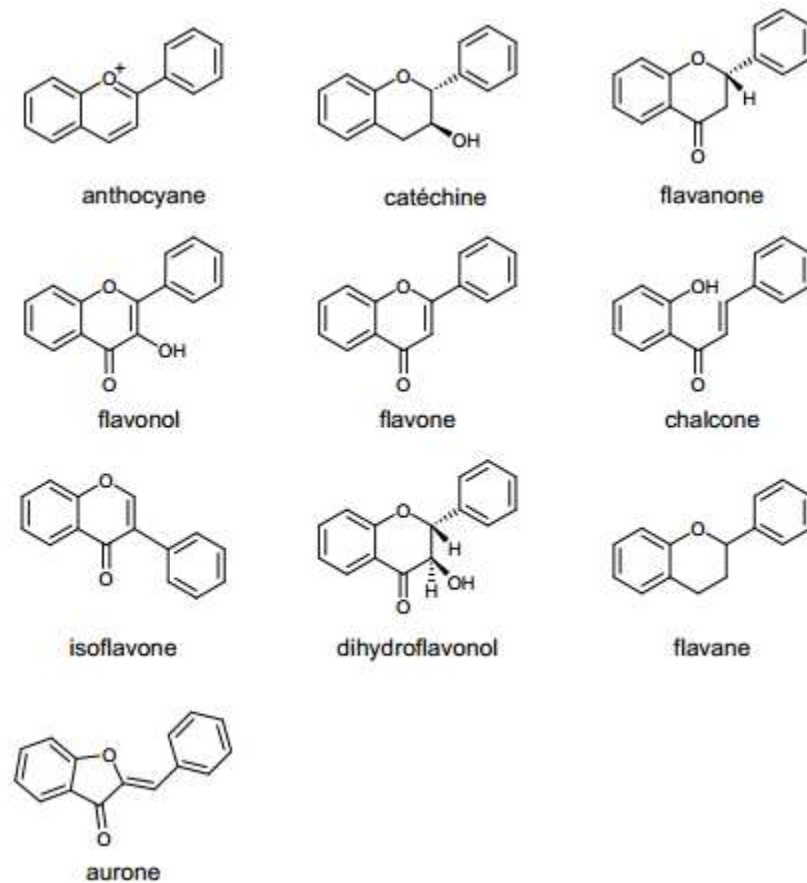


Figure 5: Diverses classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

4.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou rouge. Ces molécules ont comme les flavonoïdes, un squelette de base en C_{15} formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C) ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement. Cette charge est due à leur structure de base commune : le cation flavylium ou 2 phényl 1-benzopyrilium (Figure 6) (Heller et Forkmann, 1993).

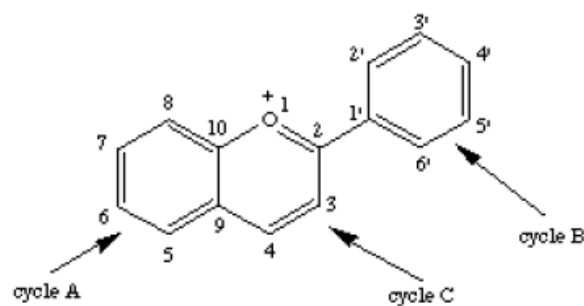


Figure 6 : Structure d'une anthocyane (Heller et Forkmann, 1993).

4.4. Les flavanes

Les flavanes sont sous forme de monomères (ex : la catéchine) ou sous forme de polymères (dimères, trimères...de catéchine). Ils existent sous forme de plusieurs stéréo-isomères provenant de deux carbones asymétriques : C2 et C3. Les flavanes sont très répandues dans les écorces végétales (**Figure 7**) (**Jakupovic et al., 1988**).

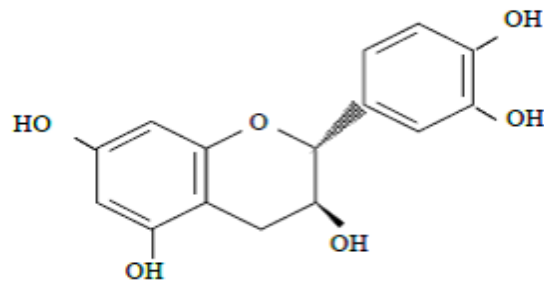


Figure 7 : Structure de la (+) – catéchine.

4.5. Les tanins

Les tanins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes principaux :

- Les tanins hydrolysables : sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).
- Les tanins condensés : appelés proanthocyanidines ou procyanidines, se sont des composés qui ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavoniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (**Bruneton, 1999**).

5. Biosynthèse des composés phénoliques

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales qui sont :

5.1. La voie de l'acide shikimique

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement.

Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tanins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tanins condensés (**Haslam ,1994 ; Dewick , 1995**). Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique.

5.2. La voie de l'acide malonique

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de L'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**Fleeger et Flipse , 1964 ; Richter, 1993**) (**Figure 8**).

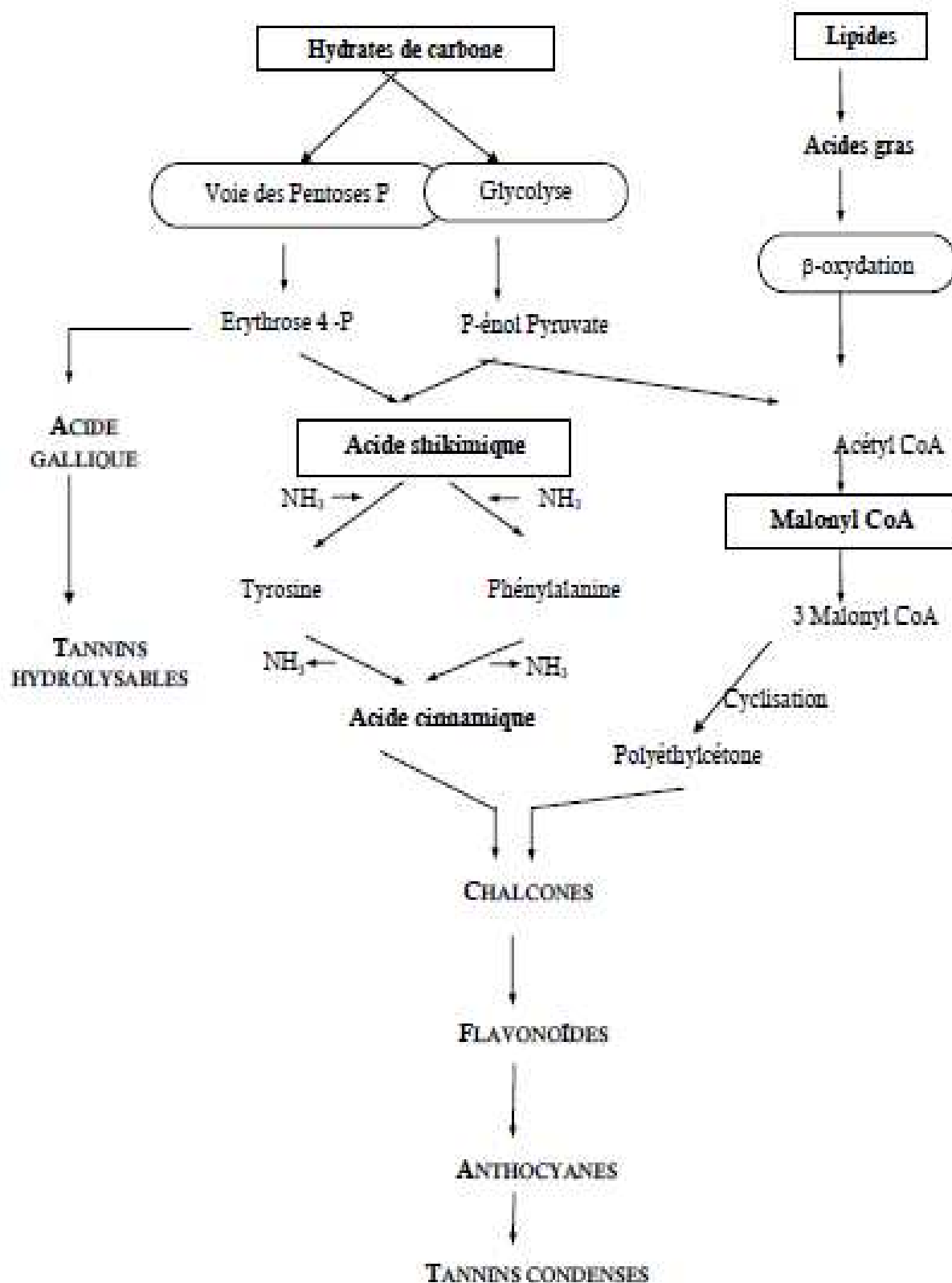


Figure 8 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Fleeger et Flipse , 1964 ; Richter, 1993).

6. Quelques intérêts thérapeutiques des composés phénoliques

Ces dernières années, ont connu un regain d'intérêt pour les polyphénols, aider par le nombre grandissant d'études expérimentales et épidémiologiques portant sur les effets bénéfiques de certaines substances phénoliques contre le cancer, les maladies cardiovasculaires et les neuropathies dégénératives (Yoon *et al.*, 2013).

La principale caractéristique des polyphénols c'est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants (Pietta, 2000 ; Frei et Higdon, 2003 ; Oszmianski *et al.*, 2007). En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Ce principe a été utilisé dans la fabrication de plusieurs médicaments, comme le Daflon produit à base de diosmine. Il a été démontré par des essais *in vitro* que ces composés sont plus actifs que les vitamines E et C et particulièrement les flavonoïdes (Bhouri *et al.*, 2011).

Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les radicaux bon-mauvais (qui peuvent être les deux), comme l'oxyde nitrique qui favorise une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules de ce dernier (Srivastava *et al.*, 2000 ; Kenny *et al.*, 2007). Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer les suivants :

6.1. Prévention contre les maladies cardiovasculaires

La consommation des polyphénols favorise la protection contre les altérations cardiaques et vasculaire (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Au niveau des artères, ces molécules préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) (Yamanaka *et al.*, 1996) évitant ainsi l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués).

6.2. Prévention anticancéreuse

De nombreuses études ont signalé les effets de ces composés actifs (les polyphénols) de prévention anticancéreuse potentiels, comme anti-prolifération, l'arrêt et/ou de l'apoptose du cycle cellulaire de cancer de polyphénols individuelles ou des extraits bruts de plantes (Hadj Salem *et al.*, 2011).

6.3. Action anti-ulcère

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production de leucotriènes (**Di Carlo et al., 1999**).

6.4. Action gastro-protectrice

Les polyphénols sont capables de réduire la surface des lésions gastriques chez les rates, dont principalement les tanins hydrolysables qui ont confirmé l'action gastro-protectrice attribuée aux polyphénols. De même, ces derniers montrent une activité antibactérienne très importante contre *Helicobacter pylori*, responsable de l'ulcère d'estomac et du duodénum (**Funatogawa et al., 2004 ; Ruggiero et al., 2006**).

6.5. Prévention contre les maladies hormono-dépendantes

L'exemple le plus important est la prévention contre l'ostéoporose. Ceci en modulant la réponse aux oestrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja ont une affinité remarquable pour les récepteurs d'oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-oestrogènes.

Les fruits et légumes contenant aussi des polyphénols, tels que la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée, possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques inhibant la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Mais, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme (**Gerber et Berta-Vanrullen, 2006**).

6.6. Autres activités biologiques

Les flavonoïdes peuvent aussi prévenir le développement du diabète en inhibant l'enzyme aldose réductase. Plusieurs auteurs ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques (**Ong et Khoo, 1997, 2000 ; Goodarzi et al., 2006**). Les effets anti-viraux des flavonoïdes ont été également démontrés (**Chu et al., 1992**). Les tanins aussi se caractérisent par une forte activité chimique et une variété d'effets

biologiques, tels que anti-tumoral, antimutage antimicrobien, anti-inflammatoire (**Olchowik et al ., 2012**).

Chapitre 2 : Présentation des plantes étudiées

1. *Sedum villosum* L. (Orpin.)

1.1. Introduction

Sedum (Crassulacées) englobe un grand nombre d'espèces utilisé en pharmacie. L'étude chimique des espèces de *Sedum* a conduit à l'isolement de plusieurs classes de substances telles que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les composés cyanogènes (**De Melo et al., 2009**). Les constituants phytochimiques de ces espèces ont été largement publiés dont certaines ont été documentées comme étant des légumes ou des médicaments traditionnels pour traiter de nombreuses maladies. Ces plantes ont été utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle comme agents anti-inflammatoire, analgésique et kératolytique, en raison de son effet bénéfique dans le traitement de la douleur des dents et l'amygdalite (**Szewczyk et al., 2012**).

1.2. Position systématique (Quezel et Santa, 1962 ; Dupont et Guignard, 2007)

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Sous classe: Rosidées basales

Ordre : Saxifragales

Familles : Crassulacées

Genre : *Sedum*

Espèce : *Sedum villosum* L. (Orpin.)

Noms vernaculaires : Orpin velu

(www.cactuspro.com/articles/noms_vernaculaires_noms_communs)

1.3. Description botanique de *Sedum villosum*

C'est une plante très hispide, glanduleuse, à tiges dressées, feuillées. Ces pétales sont 3- 4 fois plus longs que les sépales, Elle est très rare. La distribution en Algérie et l'aire de répartition de l'espèce *Sedum villosum* a été indiquée comme suit : de Constantine au Dj. Ouach (Secteur du Tell constantinois) et à mare du Sersou (Sous-secteur des Hauts-Plateaux algérois et Oranais) (**Quezel et Santa, 1962**) (**Figure9**).



Figure 9: Photo de *Sedum villosum* L. (Orpin.) (Prise par BENHAMMOU Nabila, 2009)

1.4. Propriétés et usages thérapeutiques

Plusieurs espèces du genre *Sedum* ont été employées en médecine traditionnelle. L'espèce *S. telephium* L, qui est très répandue dans l'Europe, est utilisée en médecine traditionnelle pour toutes sortes des maladies inflammatoires de la peau, ces feuilles présentent une puissante activité kératolytiques et analgésique ainsi que les effets sur la régénération de cellules de la peau. Ils sont utilisés pour le traitement des eczémas, fistule, des brûlures sévères et les blessures (les feuilles fraîches récoltées ou congelés sont posées sur le enroulé et fixé avec un ruban adhésif) (Sendl *et al.*, 1993). *S. sarmentosum* Bunge a été fréquemment utilisée pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques dans les pays orientaux, comme la Corée et la Chine (Wu, 1996 ; Kang *et al.*, 2000). *S. praealtum* a été employée pendant une longue période en Mexique pour traiter les maux de dents, l'amygdalite, etc., (Camargo *et al.*, 2002). La partie entière de *S. kamtschaticum* Fischer qui commune en Corée, en Chine et au Japon, a été préparée sous forme d'un extrait aqueux pour améliorer la circulation du sang, comme un anti-anxiété et un anti inflammatoire (Kim *et al.*, 2004). Le jus frais des feuilles de *S. dendroideum* a été utilisé en médecine traditionnelle Brésilienne pour traiter l'ulcère, trouble gastrique et contre l'inflammation (De Melo *et al.*, 2005). *S. lineare* Thunb en Chine a été entièrement consommée comme des médicaments traditionnels pour traiter l'ictère, hépatite persistante, des maux de gorge, ainsi la dysenterie (Niu *et al.*, 2011). *S. aizoon* L. est un

médicament bien connu comestible, elle se trouve dans les pays orientaux, a été employée pour soigner des palpitations et l'insomnie en Chine (**Wang et al., 2011**).

1.5. Travaux antérieurs

Il n'y a pas eu des travaux sur cette plante, mais une littérature est limitée sur autres espèces du même genre. Peu d'étude porte sur la composition chimique du genre *Sedum*, il est connu par sa richesse en alcaloïdes, en tanins, en flavonoïdes et en composés cyanogéniques (**De Melo et al., 2005**). Les espèces *S. praealtum*, *S. kamtschaticum*, *S. sarmentosum*, *S. dendroideum*, *S. telephium* ont montré une activité anti-inflammatoire (**Camargo et al., 2002 ; Kim et al., 2004 ; Jung et al., 2008 ; De Melo et al., 2009 ; Sendl et al., 1993**). Autre vertus telles que l'activité antioxydante des polysaccharides de *S. aizoon*, et des constituants phénoliques de *S. takesimense* ont été mis en évidence par **Wang et al., 2011 ; Thuong et al., 2007**. L'extrait d'hexane de l'espèce *S. oxypetalum* a présenté une activité antifongique (**Navarro Garcia et al., 2003**), aussi l'extrait d'alcaloïde de *S. sarmentosum* a montré un effet antiprolifératif sur l'hépatome murin et les lignées cellulaires d'hépatome humain (**Kang et al., 2000**). Enfin l'extrait d'éthanol de l'espèce *S. praealtum* a montré une activité spermicide chez les souris (**Silva-Torres et al., 2003**).

2. *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.)

2.1. Introduction

De nombreuses espèces végétales sahariennes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle par la population autochtone contre la fièvre, la diarrhée, le diabète, l'asthme, les rhumatismes et les traitements du cancer. Les plantes de la famille des Chénopodiacées sont utilisées pour leur richesse en substances bioactives. Le genre *Anabasis* se développe en pierre et dans les oueds sablonneux largement parcouru par les chameaux et les chèvres (**Chopra, 1956**).

2.2. Position systématique (Quezel et Santa, 1963 ; Dupont et Guignard, 2007)

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous classe : Pré-astéridées

Ordre : Caryophyllales

Familles : Amaranthacées

Genre : *Anabasis*

Espèce : *Anabasis articulata* (Forsk.) Moq.

Noms vernaculaires : Belbel, Djell (Quezel et Santa, 1963), Ajrem en arabe.

2.3. Description botanique d'*Anabasis articulata*

C'est une plante endémique saharienne à buisson bas, à souche épaisse et tortueuse, de couleur verte bleuté très clair. Les rameaux articulés et presque sans feuilles, pendant les périodes de grande sécheresse les rameaux sont caduques et tombent au pied de la plante. Les feuilles opposées ont une partie libre très courte, obtuse ou terminée par une pointe blanchâtre. Les fleurs blanches rosées sont isolées à l'aisselle de chaque feuille. Le fruit est entouré par trois ailes dues à la dilatation de trois de ces sépales. Cette espèce est commune dans les sols pierreux de tout le Sahara, jusqu'au Sahara méridional (Ozenda, 2004) (Figure 10).



Figure 10: Photo d'*Anabasis articulata* (Forsk.) Moq. (Prise par BENABDELKADER Sakina ,2011)

2.4. Propriétés et usages thérapeutiques

Grâce à ces vertus précieuses, *Anabasis articulata* comme d'autres plantes d'Amaranthacées est largement employée dans la médecine traditionnelle algérienne contre le diabète (**Kambouche et al., 2009**). Les parties aériennes sont utilisées en décoction et sous forme de cataplasme pour soigner les dermatoses, les maladies de la peau (eczéma), les maux de la tête et la fièvre (**Hammiche et Maiza, 2006**). D'autres propriétés cholinergiques ont été aussi signalées chez cette espèce (**Tilyabaev et Abduvakhabov, 1998**).

2.5. Travaux antérieurs

Peu d'études ont été effectuées sur la phytochimie d'*A. articulata* (**Batanouny, 1999 ; Kambouche et al., 2009 ; Eman, 2011**). Ces auteurs ont mis en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des alcaloïdes, des carbohydrates et/ou des glycosides, des coumarines et des triterpènes dans les extraits de cette espèce. D'autres constituants chimiques ont été identifiés chez *A. brevifolia* : 2-O-béta-D-glucopyranosyloxy-4,6-diméthoxyphénylenthane ; 2-O-(2)-béta-D-glucopyranosyloxy-4,6-diméthoxyphénylenthane ; acide 3-méthyl-but-2-énoïque-[2-(4-méthoxyphényl)-éthyl]-amide ; 5, 6, 7, 2'- tétraméthoxy-isoflavonoïde ; 2'- hydroxy-5, 6, 7-triméthoxy-isoflavonoïde (**Chen et al., 2005**). Dans la partie aérienne d'*A. aphylla*, **Du et al. (2009)** ont pu identifier trois alcaloïdes : N-méthylanabasine, anabasamine et isonicotéine et d'autres classes de flavonoïdes tels que la picéine, l'isorhamnétine, la quercétine, la rutine et l'isorhamnétine-3-rutinoside (**Yang et al., 2010**). L'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*A. aretioides* (feuilles) présente une puissante activité de balayage sur le radical DPPH et H₂O₂ (**El-Haci et al., 2013**).

Chapitre 3 : Radicaux libres et activité antioxydante

1. Introduction

Les radicaux libres sont des substances produites par le métabolisme cellulaire, ils peuvent être toxiques pour les tissus biologiques et source de lésions de l'ADN, des lipides, des membranes cellulaires et des protéines. Des systèmes protecteurs efficaces contrôlent leurs effets délétères au sein de la cellule. Ces systèmes reposent en particulier sur trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase. Un défaut d'équilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense constitue un stress oxydant (**Desport et Couratier, 2002**). La recherche de ces deux dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant (**Gutteridge, 1993**). Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses représenté par des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisés dans les compartiments intra et extracellulaire (**Berger, 2006**). En outre, plusieurs études s'accordent aujourd'hui sur l'importance de la contribution des antioxydants exogènes apportés par l'alimentation, dans la lutte contre les maladies associées au stress oxydant (**Cillard et Cillard, 2006 ; Hertog et al., 1993**).

2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et/ou un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), On peut distinguer :

Les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical peroxy (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxy (RO^{\bullet}) ;

Les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides...), telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$) (**Favier, 2003**).

3. Principales sources d'espèces réactives oxygénées

Les radicaux libres sont produits par des sources endogènes ou exogènes :

❖ Sources exogènes

Elles sont surtout d'origine physique et chimique (ex : radiations X ou gamma, UV (315- 400 nm), radiolyse de l'eau, réactions photochimiques ...).

❖ Sources endogènes

De nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules sont également capables de générer des oxydants (Salvayre *et al.*, 2003) :

- Les NAD(P) H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent $O_2^{\bullet-}$ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ERO, particulièrement $O_2^{\bullet-}$ et H_2O_2 , lors de l'ischémie/reperfusion.
- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation.
- De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries "centrale énergétique de la cellule" par voie enzymatique en molécule non toxique comme H_2O . Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$. Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance comme indiqué précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle HO^{\bullet} . Ces ERO mitochondriales pourraient intervenir dans l'oxydation des LDL (Mabile *et al.*, 1997).

4. Implications pathologiques d'espèces réactives oxygénées

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire,

vieillesse accélérée, Alzheimer, Parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose et le diabète (Atawodi, 2005 ; Georgetti et al., 2003).

5. Les antioxydants et leurs classifications

Les antioxydants sont des substances vitales qui possèdent la capacité de protéger l'organisme contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres. Le terme « **antioxydant** » a été formulé comme une substance qui en faible concentration, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels (Halliwell, 1995).

La classification de tous les antioxydants est connue, ils sont classés généralement soit par leur mécanisme d'action ou par leur nature chimique.

- *Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action*

D'après la littérature, il existe deux groupes :

Le premier groupe porte plusieurs noms par exemple, antioxydants primaires, chain-breaking, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydant peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire.

Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxylysés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du radical peroxylyse (ROO^\bullet), en comparaison avec les autres radicaux comme le radical alkoxylyse (RO^\bullet) et la faible concentration du piègeur du radical libre dans l'aliment. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (Frankel et Meyer, 2000).

Les composés du deuxième groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils englobent une large inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non- radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation.

Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller *et al.*, 1996).

- *Classification des antioxydants par rapport à leur nature chimique*

Ce type d'antioxydants regroupe les antioxydants naturels et synthétiques :

Antioxydants naturels

- **Les vitamines** telles que la vitamine A, ou bien son précurseur, la vitamine E (α -tocophérol) ou encore la vitamine C (acide ascorbique). On les trouve dans de nombreux fruits et légumes. Des antioxydants naturels comme le β -carotène et le lycopène de la tomate préviennent les lésions cellulaires (Norman, 2001).

- **Les composés phénoliques** naturels les plus connus sont les polyphénols comme les flavonoïdes (catéchines, flavonols, antocyanidols) et les tanins (Gardes-Albert *et al.*, 2003).

- **Les oligoéléments** tels que le sélénium, le cuivre, le manganèse, ou encore le zinc. Ils ont une valeur hautement protectrice du fait de leur présence dans de nombreuses métallo-enzymes à action antiradicalaire (Moure *et al.*, 2001).

Antioxydants synthétiques

Les composés les plus efficaces rencontrés par rapport à leur faible coût pour retarder l'oxydation lipidique sont le **BHT** (butyl hydroxy toluène) et le **BHA** (butyl hydroxy anisole). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu *et al.*, 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). Pour le **BHT**, cet antioxydant présenterait des effets carcinogènes chez le rat (Ito *et al.*, 1985).

6. Évaluation de la capacité antioxydante *in vitro*

Selon **Huang *et al.* (2005)**, les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu : soit les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (**HAT**, Hydrogen Atom Transfer), soit les tests basés sur le transfert d'un électron (**SET**, Single Electron Transfer) (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Liste des méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant *in-vitro* (**Badarinath *et al.*, 2010**).

N°	Nom des méthodes
Groupe 1	Méthodes de transfert d'un atome d'hydrogène (HAT)
1	-Méthode d'ORAC (<i>Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène</i>)
2	- Méthode LPIC (<i>Capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique</i>)
3	- Méthode de TRAP (<i>Paramètre du piégeage du radical total</i>)
4	- Méthode d'IOC (<i>Capacité d'inhibition de l'absorption d'oxygène</i>)
5	- Méthode d'ABTS (<i>acide 2,2, azino-bis-(3-éthylebenzothiazoline)-6-sulfonique</i>) : la décoloration du radical cation ABTS
6	- Méthode de balayage des radicaux de H ₂ O ₂ .
Groupe 2	Méthodes de transfert d'un électron (SET)
1	- Méthode TEAC (<i>Capacité antioxydante équivalente de Trolox</i>)
2	- Méthode de FRAP (<i>Capacités réductrices ferriques d'antioxydants</i>)
3	- Méthode de DPPH (<i>2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl</i>)
4	- Méthode de DMPD (<i>Balayage du radical cation N, N- dimethyl-p-phenylenediamine</i>).

Parmi les tests simples les plus fréquemment utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*, nous citons :

- La méthode de **DPPH** (*2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl*) : cette méthode a été décrite par **Blois en 1958** et a ensuite été modifiée légèrement par de nombreux chercheurs. Elle est basée sur le piégeage du DPPH par l'ajout d'une espèce de radical ou un antioxydant qui décolore la solution DPPH (**Krishnaiah *et al.*, 2011**).

- L'essai du blanchiment de **β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique** : cette technique est basée sur la décoloration de la β -carotène par les peroxydes générés au cours de l'oxydation de l'acide linoléique à une température élevée.
- La méthode de **FRAP** (*Capacités réductrices ferriques d'antioxydants*) : ce test a été introduit par **Benzie et Strain (1999)**. Elle est basée sur le pouvoir réducteur d'un composé (antioxydant) potentiel qui réduit le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).
- la méthode **ORAC** (*Capacité d'absorption de l'oxygène radicalaire*) : ce test a été développé par **Cao et al. (1996)**. Cette méthode a été utilisée pour évaluer la capacité antioxydante de l'eau-soluble phytochimique (**Tsao et Deng, 2004**).
- la méthode **ABTS** : Cette méthode génère une amélioration bleu/vert ABTS^{•+} chromophore par l'intermédiaire de la réaction de l'ABTS et le persulfate de potassium et elle est maintenant largement utilisée (**Krishnaiah et al., 2011**).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre 1 : Criblage phytochimique et extraction des métabolites secondaires

Introduction

Dans le contexte de recherche des antioxydants naturels, nous nous sommes intéressés à évaluer quelques activités antioxydantes de deux espèces végétales à savoir : *Sedum villosum* L. (Orpin.) et *Anabasis articulata* Moq. (Forsk.).

Dans une première partie, nous avons effectué un screening phytochimique suivi par l'extraction des principaux métabolites secondaires tels que les extraits bruts méthanoliques (composés phénoliques), les fractions flavoniques (fraction acétate d'éthyle et fraction n-butanol), les tanins, les saponosides et les alcaloïdes.

1. Choix du matériel végétal et caractéristiques de la station d'étude

Cette étude est réalisée sur deux plantes : *Sedum villosum* et *Anabasis articulata*. La partie fleurie de *S. villosum* a été récoltée de l'oued El Akheder dans la région de Tlemcen durant le mois d'avril 2009. Tandis que les racines et les rameaux de la plante *A. articulata* ont été collectés au mois de Mai 2011, dans la région de Béchar (Algérie) (**Figure 11**).

A notre connaissance, très peu de travaux concernant l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante ont été réalisés sur ces deux espèces choisies. Pour l'espèce herbacée *S. villosum* le choix de sa partie fleurie est basé sur la majorité de cette dernière est représenté par les fleurs, le genre a été documenté comme étant des légumes ou des médicaments traditionnels pour traiter de nombreuses maladies (anti-inflammatoire, analgésique et kératolytique...ect). Le choix de l'espèce *A. articulata* a été effectué sur les rameaux et racines puisque la période de la floraison était le mois de septembre d'une part, d'autre part, cette plante a été utilisée traditionnellement contre le cancer.

Les situations géographiques ainsi les étages bioclimatiques des stations d'étude (confirmés par **Mr. Bouabdellah H**, membre du laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes Naturels, au département de Biologie et Environnement, Université de Tlemcen) sont représentés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Lieu de récolte des plantes , caractéristiques géographiques et bioclimatiques des stations d'étude.

Plantes	Stations	Période de récolte	Longitude (Ouest)	Latitude (Nord)	Altitude (m)	Etage bioclimatique
<i>Sedum villosum</i>	Oued El Akheder (Tlemcen)	Avril 2007	1° 10'	34° 54'	100-500	Semi-aride à hiver froid
<i>Anabasis articulata</i>	Bechar (Sahara)	Mai 2011	2° 55'	32°	500-600	Saharien

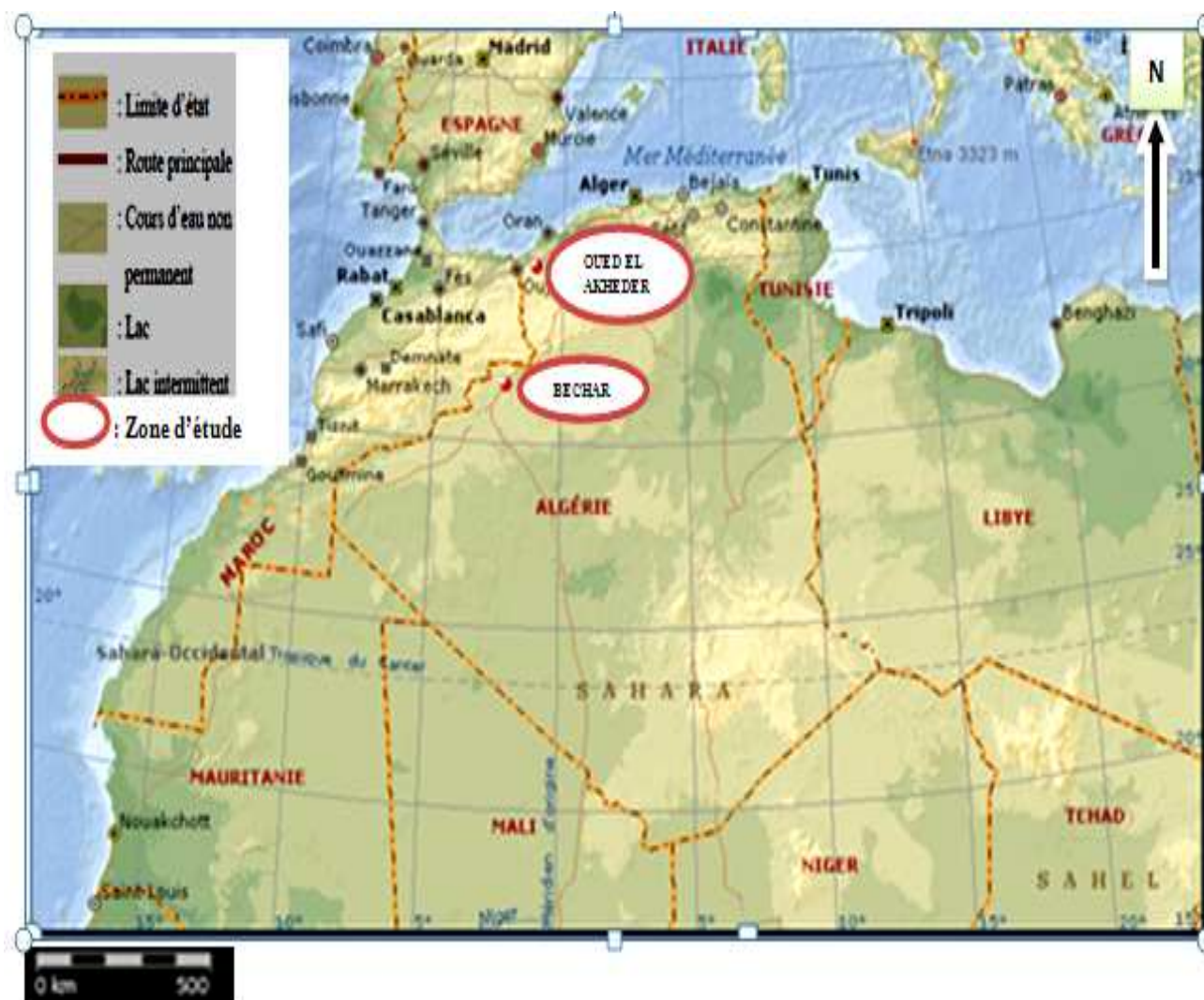


Figure 11 : Situation géographique des stations d'étude (Encarta, 2009).

1.1. Conservation du matériel végétal

Une fois la récolte est achevée, le matériel végétal est nettoyé pour éliminer les débris puis étaler sur des papiers et laisser à l'ombre à la température ambiante dans une pièce aérée. Les

échantillons sont brassés chaque jour, surtout au début du séchage pour faciliter celui-ci. La conservation est faite dans des sacs en papier.

1.2. Identification botanique

Les espèces ont été identifiées par les docteurs **Hassani F.** et **Stamboli H.**, membres du laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes Naturels au Département de Biologie et Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

2. Tests phytochimiques

L'examen phytochimique est un premier pas dans la recherche des molécules à activité thérapeutique dans les plantes. Il permet la détection des classes de composés chimiques essentiellement : les composés phénoliques, les saponosides, les alcaloïdes, les stérols et triterpènes, l'amidon et les composés réducteurs.

Ces tests phytochimiques sont représentés par :

- Des réactions de coloration et de précipitation ;
- Des essais de solubilité des constituants présents dans la plantes vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente ;
- Des examens sous la lumière ultraviolette.

La détection des principaux constituants chimiques est réalisée sur les différents extraits obtenus par épuisement avec de l'eau, avec de l'éthanol, l'ajout de H₂SO₄ et macération dans l'éther (méthodes spécifiques du notre laboratoire).

2.1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 10g du matériel végétale est mis en présence de 60 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis à la mise en évidence de : l'amidon, tanins et saponosides. Ces tests sont réalisés deux fois pour vérifier la reproductibilité des résultats.

2.1.1. Détection d'amidon

La détection de l'amidon s'effectue comme suit : Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à ébullition, ajouter le réactif d'amidon (**Annexe 1**). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-violacée (**Bruneton, 1999**).

2.1.2. Détection des saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est abandonné pendant 20 min et la présence des saponosides est évaluée par :

Pas de mousse = test négatif

Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif

Mousse de 1 – 2 cm = test positif

Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**).

2.1.3. Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée (1%). L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans, 1987**).

2.2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 10g du matériel végétale est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis à la mise en évidence des : flavonoïdes, composés réducteurs, tanins (galliques ou cathéchiques).

2.2.1. Détection des flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml HCL concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 min (**Earnsworth et al., 1974**).

2.2.2. Détection des composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanoliques avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (**Trease et Evans, 1987**).

2.2.3. Recherche des tanins galliques et cathéchiques

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée (1%). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tanins galliques), verte ou bleue verte (tanins cathéchiques) (**Trease et Evans, 1987**).

2.3. Autres métabolites secondaires

2.3.1. Détection des alcaloïdes

Ajouter 10 ml de H₂SO₄ dilué (1/10) à 10 g de la poudre végétale dans un erlenmeyer de 250 ml. Laisser agiter et macérer pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire. Après filtration sur papier lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 10 ml de filtrat.

1 ml de filtrat + 5 gouttes du réactif de Mayer, s'il apparait un précipité blanc- jaunâtre c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes.

1 ml de filtrat +5 gouttes du réactif de Wagner, s'il apparait un précipité brun c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes (**Annexe 1**) (**Paris et Moyse, 1969**).

2.3.2. Détection des coumarines

Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes. Ajouter 0.5 ml de NH₄OH (10 %). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

2.3.3. Recherche des stérols et triterpènes

Une macération a été réalisée pendant 24 h à 5 % dans l'éther. L'extrait éthérique est ensuite évaporé à sec à 60°C et repris avec de l'anhydride acétique puis du chloroforme. Déposer au fond du tube contenant l'extrait de l'acide sulfurique. En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides, la couche surnageante étant verte ou violette (Trease et Evans, 1987).

3. Préparation des extraits de *S. villosum* et *A. articulata*

3.1. Extraits bruts méthanoliques

Avant de procéder les extractions, les différentes parties utilisées (partie fleurie de *S. villosum*, racines et rameaux d'*A. articulata*) sont réduites en poudre.

Une quantité de 1g de chaque partie est macérée dans 20 ml du méthanol pendant 24 h (Figure 12). Après filtration sur papier Whatman, la solution méthanolique est évaporée à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif de type Buchi R-200 à 60°C. Le résidu sec pesé est repris par 3 ml du méthanol pour l'utilisation dans les futures textes du dosages et d'activités antioxydantes (Benhammou *et al.*, 2009).

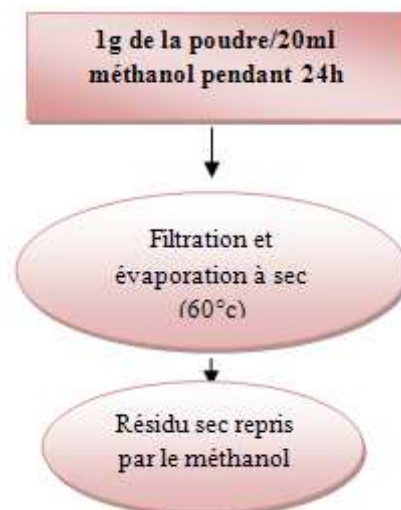


Figure 12 : Protocole d'extraction d'extrait brut méthanolique (Benhammou *et al.*, 2009).

3.2. Extractions des flavonoïdes

1g du matériel végétal est macéré dans 20 ml du méthanol pendant 24 h. L'extrait méthanolique récupéré est ensuite évaporé à sec par un rotavapeur type Buchi R-200 à 60°C. Le résidu sec obtenu est partagé entre 10 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml d'eau distillée bouillante dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase acétate d'éthyle est récupérée puis évaporée par un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris par 3 ml du méthanol. La phase aqueuse issue est lavée par 10 ml de n-butanol. Après décantation, la phase butanolique est séchée au rotavapeur à 60 °C. Le résidu sec pesé est repris par 3 ml du méthanol pour l'utilisation dans les prochains textes d'activités antioxydantes (Bekkara *et al.*, 1998) (Figure 13).

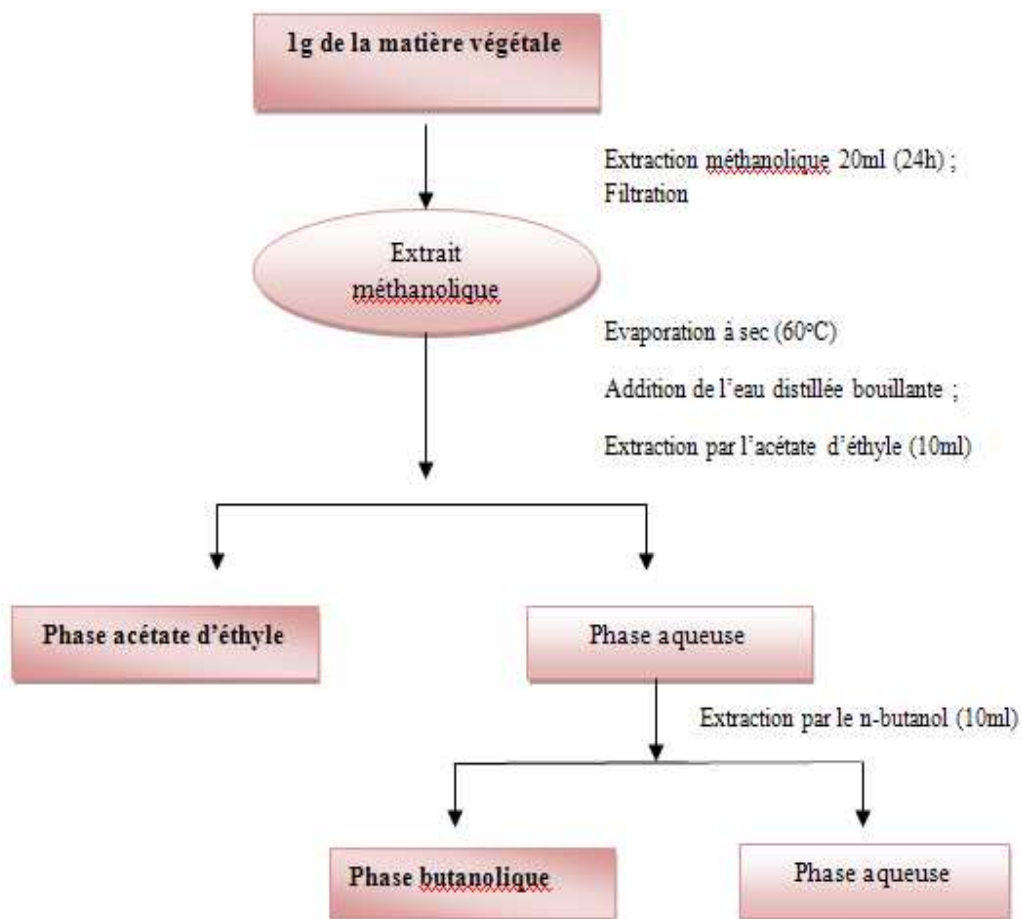


Figure 13 : Protocole d'extraction des flavonoïdes (Bekkara *et al.*, 1998) .

3.3. Extractions des tanins

L'extraction des tanins est obtenue en suivant la méthode de **Zhang *et al.* (2008)**. Le broyat du matériel végétal (2.5 g) a été macéré par 50 ml du mélange acétone/eau distillée (35/15 ; V/V) durant 3 jours à la température ambiante. La solution est filtrée et évaporée à 40 °C par un rotavapeur type Buchi R-200 pour éliminer l'acétone. Puis, la phase aqueuse est lavée par 15 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides.

Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse a été extraite une fois avec 15 ml d'acétate d'éthyle puis la phase organique obtenue est évaporée à sec à 40 °C par le rotavapeur puis pesé et repris par 3 ml du méthanol pour l'utilisation dans différents textes d'activités antioxydantes (**Figure 14**).

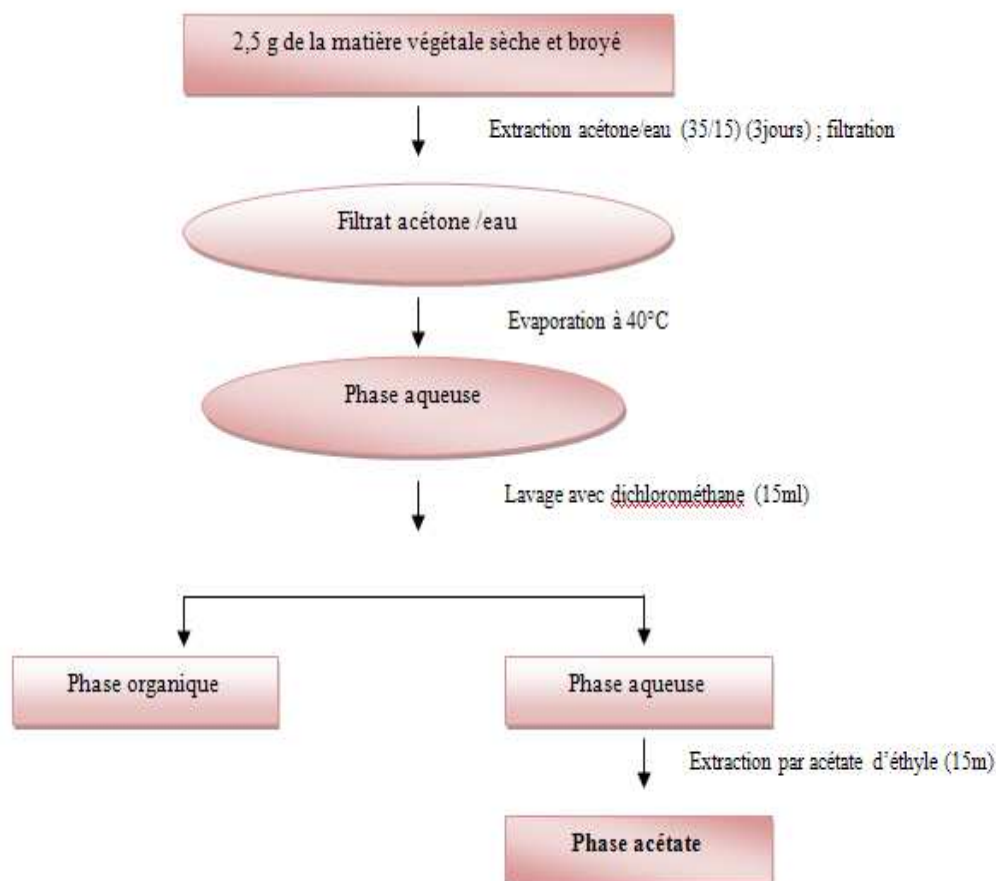


Figure 14 : Protocole d'extraction des tanins (**Zhang *et al.*, 2008**).

3.4. Extractions des saponosides

Les saponosides ont été extraits selon la méthode élaborée par **Applebaum et al. (1969)**. Le broyat (5 g) a été délipidé durant 2 h sous reflux par 75 ml d'hexane pur. Après élimination de la phase organique, le précipité obtenu a été macéré dans 25 ml d'éthanol absolu sous agitation à la température ambiante pendant 24 h. Après filtration, la phase éthanolique a été évaporée à sec sous vide à 60 °C par le rotavapeur. Le résidu sec a été extrait une fois par 50 ml du mélange eau distillée/éther de pétrole (v/v) chauffé à 50 °C dans un bain marie pendant 30 min. La phase aqueuse est reprise par 5 ml de n-butanol pendant 30 min. Après décantation, la phase organique a été évaporée à sec à 60 °C et reprise par du méthanol pour l'utilisation dans les différents tests d'activités antioxydantes (**Figure 15**).

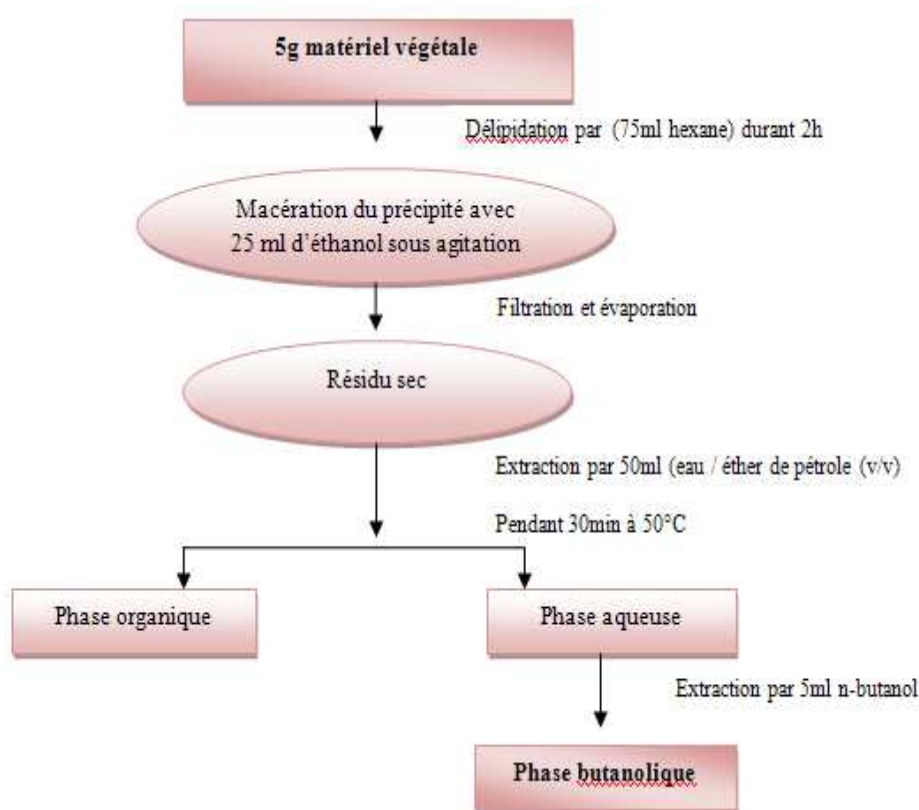


Figure 15 : Protocole d'extraction des saponosides (**Applebaum et al., 1969**) .

3.5. Extraction des alcaloïdes totaux

Cette famille a été obtenue selon la méthode de **Harborne (1998)**. Une quantité de 10 g de poudre des rameaux d'*A. articulata* a été extraite au soxhlet par 150 ml d'éthanol absolu durant 5 h. L'extrait éthanolique a été ensuite évaporé à sec sous vide à 60°C par un

rotavapeur de type Buchi R-200. Le résidu sec a été repris par 20 ml du chloroforme et acidifié par HCl à 5 % au pH 3. Après 30 min à la température ambiante, la phase aqueuse acide a été extraite par 20 ml du chloroforme, basifié par le NaHCO₃ à 5% au pH 9 et laissée reposer pendant 15 min. La phase chloroformique a été évaporée et le résidu sec qui représente les alcaloïdes totaux a été pesé puis repris par 3 ml du méthanol pour l'utilisation dans les futures textes d'activité antioxydante (**Figure 16**).

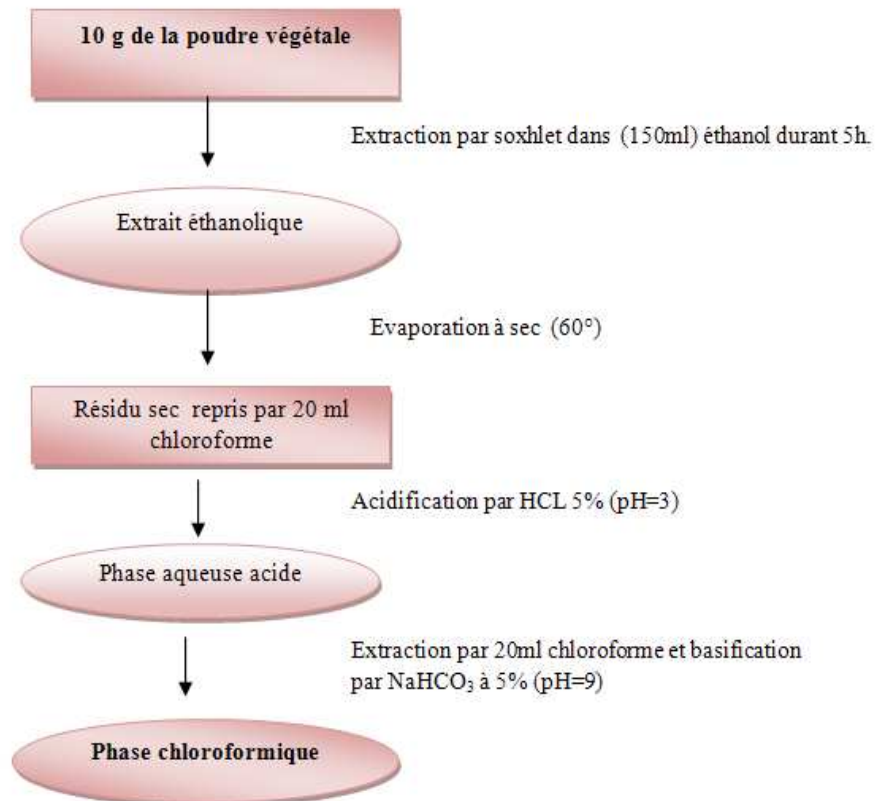


Figure 16 : Protocole d'extraction des alcaloïdes (Harborne, 1998).

❖ Calcul des rendements en extrait sec

Nous avons déterminé le rendement des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt \%} = (\text{P1-P2} / \text{P3}) * 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation ;

P2 : poids du ballon avant évaporation (ballon vide) ;

P3 : poids de la matière végétale de départ.

Chapitre 2 : Quantification des teneurs des composés phénoliques et évaluation du pouvoir antioxydant des extraits

Introduction

Dans la seconde partie, nous nous sommes intéressés à la quantification des teneurs en composés phénoliques et en caroténoïdes dans les extraits bruts méthanoliques. Ces dosages obtenus exprimés en mg/g de matière sèche sont déterminés en utilisant les réactifs suivants : le Folin-Ciocalteu pour les polyphénols, le trichlorure d'aluminium pour les flavonoïdes et les flavonols et la vanilline pour les tanins condensés. Ensuite, nous avons évalué le pouvoir antioxydant des extraits des plantes par quatre techniques chimiques complémentaires : la capacité antioxydante totale, la réduction de fer, le piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le blanchiment du β -carotène.

1. Teneurs des composés phénoliques

1.1. Teneurs en phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de **Singleton et Rossi. (1965)**, on utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu.

Un volume de 200 μ l pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais, le mélange 1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 % est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min. L'absorbance est mesurée à 765 nm en utilisant le spectrophotomètre Specord^R 200 Plus UV/ Vis.

Une courbe d'étalonnage à différente concentration d'acide gallique a été préparée.

La teneur en phénols totaux est exprimée en milligramme (mg) équivalents acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

1.2. Teneurs en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par **Zhishen et al. (1999)**.

Une quantité de 500 µl de solution méthanolique de catéchine à différentes concentrations ou de l'extrait méthanolique convenablement dilués est mélangé avec 1500 µl de l'eau distillée. A temps zéro, 150 µl de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5 % est ajouté au mélange. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10 % (m/v) est rajouté. Après l'incubation de 6 min à la température ambiante, 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1M) est additionné immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre le blanc.

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme (mg) équivalents catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EC/g MS) à partir de la courbe d'étalonnage.

1.3. Teneurs en tanins condensés

Les quantités des tanins condensés sont estimées en utilisant la méthode à vanilline en milieu acide (**Julkumen-Titto, 1985**).

Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v), puis le contenu est mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laisser réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance à 550 nm est mesurée contre le blanc.

La concentration des tanins condensés est estimée en milligramme (mg) équivalents catéchine par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EC/g MS) à partir de la courbe d'étalonnage.

1.4. Teneurs des flavonols totaux

La teneur en flavonols totaux a été déterminée par la méthode décrite par **Kumaran et al. (2007)**. Un volume de 0.25 ml d'extrait a été mélangé avec 0.25 ml d'AlCl₃ (2 mg/ ml) et 1.5 ml d'acétate de sodium (50 mg/ ml). L'absorbance est mesurée à 440 nm après 150 min d'incubation à la température ambiante.

La teneur en flavonols a été exprimée en mg équivalents quercétine par gramme du poids de la matière sèche (mg EQ/ g MS).

2. Teneurs en caroténoïdes totaux

Les caroténoïdes totaux ont été extraits selon la méthode de **Talcott et Howard (1999)**, en utilisant une courbe standard de β -carotène. Deux grammes d'échantillons ont été homogénéisés avec 20 ml d'un mélange acétone/éthanol (1:1 v / v) et 200 mg/l de BHT, le mélange a été macéré pendant 24 h à la température ambiante.

Les échantillons ont été filtrés et centrifugés à 1500 t/m pendant 20 min. Le surnageant a été transféré dans une fiole gradué et le mélange acétone /éthanol (25/25 ; v/v) a été ajouté à un volume final de 50 ml.

La teneur en caroténoïdes totaux a été déterminée par la méthode spectrophotométrique à 470 nm. Ces pigments ont été exprimées en milligramme (mg) équivalents β -carotène par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg E β C/ g MS).

❖ Toutes les expériences des dosages sont répétées trois fois.

3. Activité antioxydante

Dans notre étude, l'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* de nos extraits des métabolites secondaires a été réalisée par quatre techniques chimiques à savoir : la capacité antioxydante totale (CAT), la réduction du fer, le piégeage du radical libre DPPH et le test du blanchiment de β -carotène.

3.1. Capacité antioxydante totale (CAT)

Ce test est évalué par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto *et al.* (1999)**. Il est basé sur la réduction de Molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide.

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité

antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences sont répétées 3 fois.

3.2. Réduction du fer (FRAP)

Cette méthode est déterminée en utilisant la technique d'Oyaizu (1986). Les différentes concentrations des extraits dans l'eau distillée (1 ml) sont mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. Après, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. A la fin, 2.5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

La concentration EC_{50} qui est définie comme la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du thiocyanate ferrique est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des substances bioactive.

3.3. Piégeage du radical libre DPPH•

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Sanchez-Moreno *et al.* (1998).

Un volume de 50 μ l de différentes concentrations en mg/ml de chaque extrait est ajouté à 1.950 ml de la solution méthanolique du DPPH• (0.025 g/l) fraîchement préparée. L'absorbance est mesurée à 515 nm après 30 min d'incubation à la température ambiante. Les pourcentages d'inhibition (%) du radical DPPH sont calculés à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(DO_{\text{témoin}} - DO_{\text{échantillon}}) / DO_{\text{témoin}}] * 100$$

Où : $DO_{\text{témoin}}$: représente l'absorbance du contrôle sans extrait après 30 min.

$DO_{\text{échantillon}}$: représente l'absorbance en présence d'extrait après 30 min.

Les concentrations nécessaires pour réduire 50 % du radical DPPH• (EC₅₀) sont calculées graphiquement par les régressions exponentielles. (des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés)

3.4. Test du blanchiment de β -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique

Le β -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de qualité de ces produits (**Bougatef et al., 2009**). Cependant, dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend le β -carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes. Ces radicaux sont formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique dans un système émulsion aqueuse en résultant le blanchiment du β -carotène (**Unten et al., 1997**). La présence des antioxydants comme les polyphénols réduisent l'ampleur de la destruction du β -carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système.

Le test du blanchiment de β -carotène utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de nos plantes est celui du **Moure et al. (2000)**. Une quantité de 2 mg de β -carotène est dissous dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1 ml de cette solution dans une fiole contenant préalablement 200 mg Tween 40 et 20 μ l d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapeur jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 ml de l'eau distillée est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans des tubes à vis, l'émulsion β -carotène/acide linoléique de 4 ml est additionnée à 200 μ l des solutions méthanoliques de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse (BHT, acide gallique) de différentes concentrations. Après une agitation proprement dite, l'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à $t = 0$ min contre le blanc contenant l'émulsion sans β -carotène. Les tubes bien fermés sont placés dans un bain à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à $t = 120$ min. Pour le contrôle positif, l'échantillon est remplacé par le BHT. Le contrôle négatif est constitué par 200 μ l du méthanol au lieu de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse. Tous les échantillons sont répétés en deux essais.

L'activité antioxydante (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β -carotène en employant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibitions}(\%) = [(A_{A(120)} - A_{C(120)}) / (A_{C(0)} - A_{C(120)})] * 100$$

Où : $A_{A(120)}$: représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min ;

$A_{C(120)}$: représente l'absorbance du contrôle à 120 min ;

$A_{C(0)}$: représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

La valeur EC_{50} est définie comme la concentration des antioxydants correspondant à 50 % d'inhibition. Elle est calculée en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait.

3.5. Analyse statistique

Les données expérimentales du dosage et de l'activité antioxydante obtenues ont été exprimées par une moyenne et plus ou moins l'écart type en utilisant les programmes Microcal Origin 6 et l'Excel 2003.

Chapitre 3 : Séparations chromatographiques et analyses des composés actifs des extraits bruts

Introduction

Le dernier chapitre de la partie expérimentale est consacré à la séparation chromatographique par la chromatographie sur colonne, la chromatographie sur couche mince, la chromatographie sur couche mince préparative (CC, CCM et CCM préparative) et l'analyse des fractions actives des racines d'*A. articulata* et de la partie fleurie de *S. villosum* par la chromatographie liquide à haute performance (CLHP), la spectrophotométrie UV-Visible et la chromatographie en phase liquide à ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLUHP/SM).

1. Séparations chromatographiques

1.1. Préparation de l'extrait brut méthanolique

Une quantité de 50 g (la partie fleurie de *S. villosum* et les racines d'*A. articulata*) a été macérée dans 270 ml du méthanol pendant 24 h à la température ambiante. Après filtration sur papier Whatman, le mélange est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Buchi R-200 (Benhammou *et al.*, 2009).

1.2. Fractionnement et isolement des composés

Pour l'ensemble des extraits, nous avons débuté le traitement par une chromatographie analytique sur couche mince pour mettre au point l'éluant ou le système chromatographie d'élution qui donnerait les meilleurs résultats. Ces essais ont été effectués avec des plaques de gel de silice 60 F254 prêtes à l'emploi sur un support en aluminium. Les divers systèmes d'élution testés sont :

- ✓ **Système N°1** : Chloroforme/ Méthanol/ Eau/ Acide Acétique : (100/ 15/ 0.5/ 0.5) (Jeffery et Christic Nea, 1983 *in* Heimeur, 2004).
- ✓ **Système N°2** : Toluène / Acétate d'Ethyle/ Acide Acétique : (36/ 12/ 5) (Medie-Sarie *et al.*, 2004).
- ✓ **Système N°3** : Hexane/ Acétate d'Ethyle/ Acide Acétique : (7.75/ 3.5/ 1.25) (Medie-Sarie *et al.*, 2004).

- ✓ **Système N°4** : Butanol/ Acide Acétique / Eau : (4/ 1/ 5) (Markham, 1982).
- ✓ **Système N°5** : Acétate d'éthyle/Acide Acétique / Eau : (65/ 15/ 20) (Waksmundzka-Hajnos *et al.*, 2008).
- ✓ **Système N°6** : Dichlorométhane / Méthanol : (50/ 50).

Parmi ces systèmes, nous avons sélectionné le Dichlorométhane / Méthanol qui a donné une bonne séparation des composés des extraits bruts pour les deux espèces.

Nos extraits ont été fractionnés par chromatographie sur colonne en verre (**Figure 17 et 18**).

Cette dernière d'une longueur de 44 cm et diamètre de 2.5 cm a été équipée d'un entonnoir et d'un robinet, ensuite elle a été remplie avec le gel de silice 60 F254, sa granulométrie est de l'ordre de 0.063 à 0.2 mm. Les extraits méthanoliques de *S. villosum* et d'*A. articulata* dissout dans le méthanol sont mélangés à une petite quantité de ce gel, l'ensemble est séché à l'air libre. La poudre homogène a été déposée sur le gel. L'élution a été réalisée par un gradient de solvants organiques composé du dichlorométhane et du méthanol, et les fractions éluées ont été récupérées sous la lampe UV. L'analyse par CCM du contenu de chaque tube permet finalement de réunir rationnellement les fractions avant d'éliminer les solvants sous l'évaporateur rotatif. Nous avons obtenu 24 fractions pour *S. villosum* et 17 fractions pour *A. articulata* (**Figure 17 et 18**).

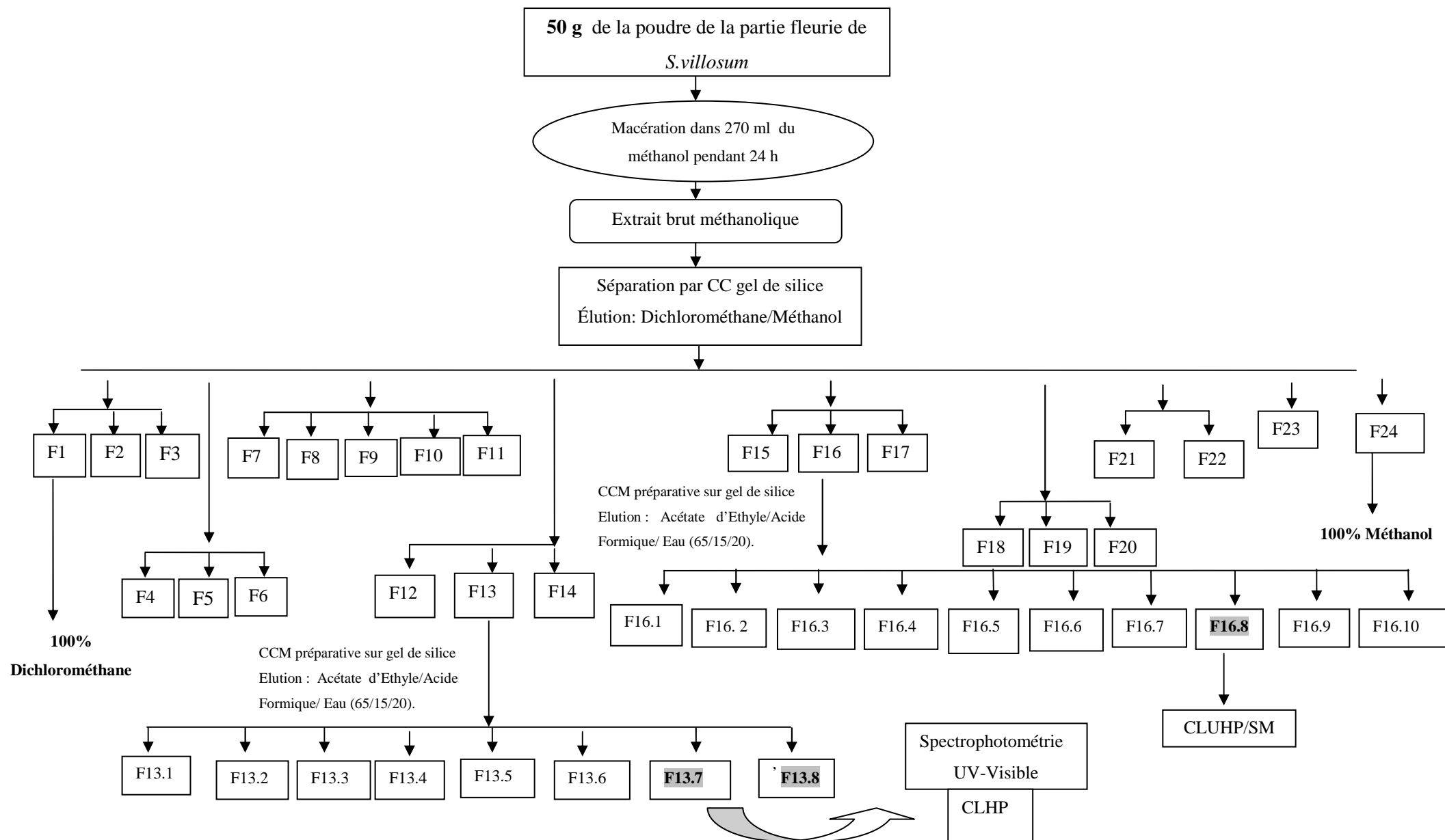
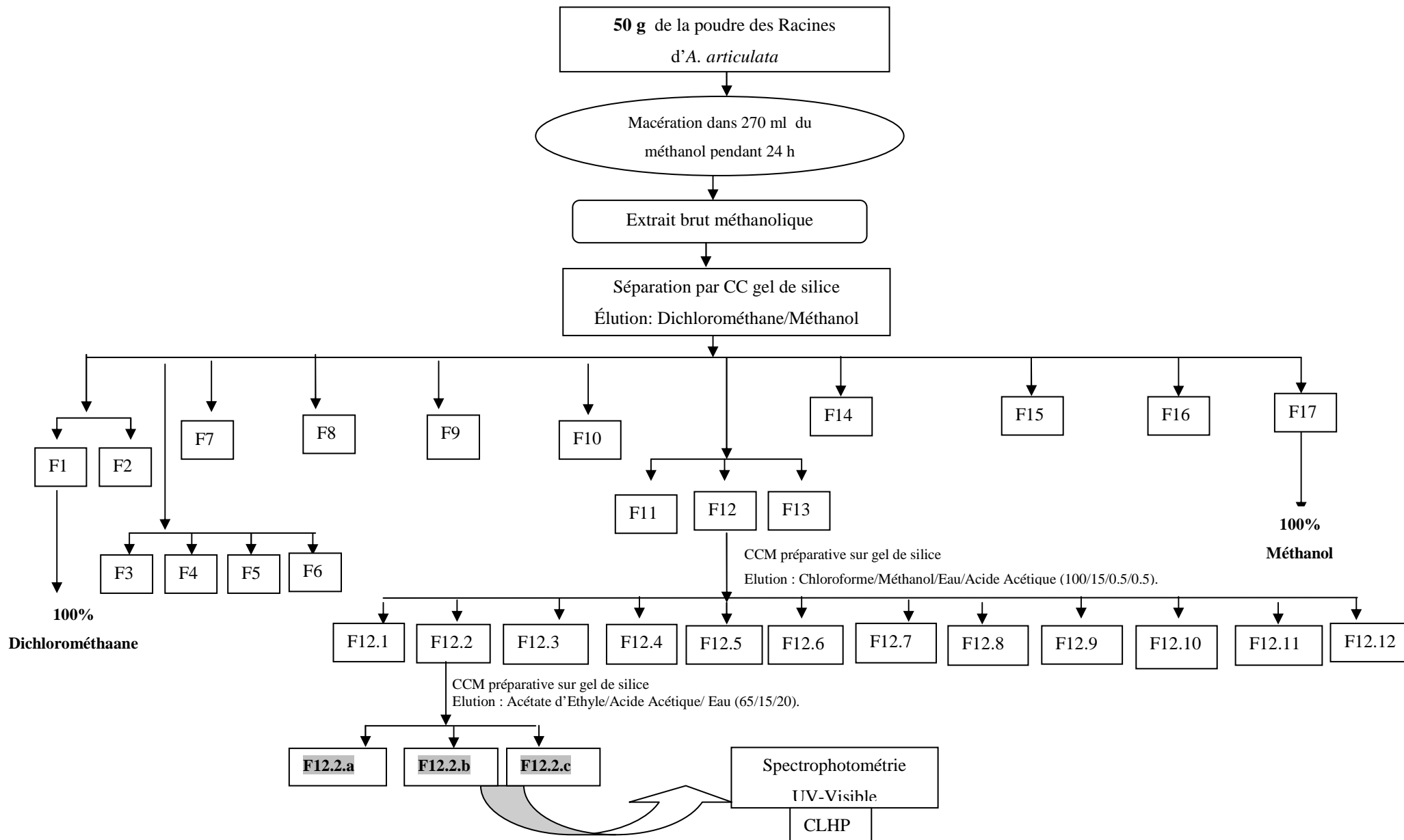


Figure 17 : Protocole d'extraction, séparation et analyse de la partie fleurie de *S. villosum*.

Figure 18 : Protocole d'extraction, séparation et analyse des racines d'*A. articulata*.

2. Analyse des composés de l'extrait brut méthanolique

Les fractions obtenues des extraits bruts d'*A. articulata* et de *S. villosum* séparées sur colonne de gel de silice et éluées par un gradient de solvants dichlorométhane/ méthanol ont subi un test du pouvoir antioxydant, en utilisant la technique du piégeage du radical libre DPPH[•], selon la technique de **Sanchez-Moreno et al. (1998)**. Les molécules purifiées ont été analysées par le spectrophotomètre UV-Vis, la chromatographie liquide à haute performance et la chromatographie en phase liquide à ultra- haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLUHP/SM).

2.1. Spectrophotométrie UV-Visible

C'est l'une des méthodes la plus simple, la plus rapide à mettre en œuvre et les plus intéressantes du point de vue nombre de renseignements obtenus à partir d'une très faible quantité de produit à analyser pour la mise en évidence des composés phénoliques. Elle est basée essentiellement sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) caractérisé par l'apparition de deux bandes d'absorption (**Jurd et Horowitz, 1962**) (**Figure 19**).

L'action des flavonoïdes dans les plantes résulte de l'absorption dans le domaine UV. Dans le méthanol neutre, les composés flavonoïdiques absorbent dans deux régions différentes du spectre ultra-violet entre 300 et 385 (**Bande I**), et entre 250 et 280 (**Bande II**).

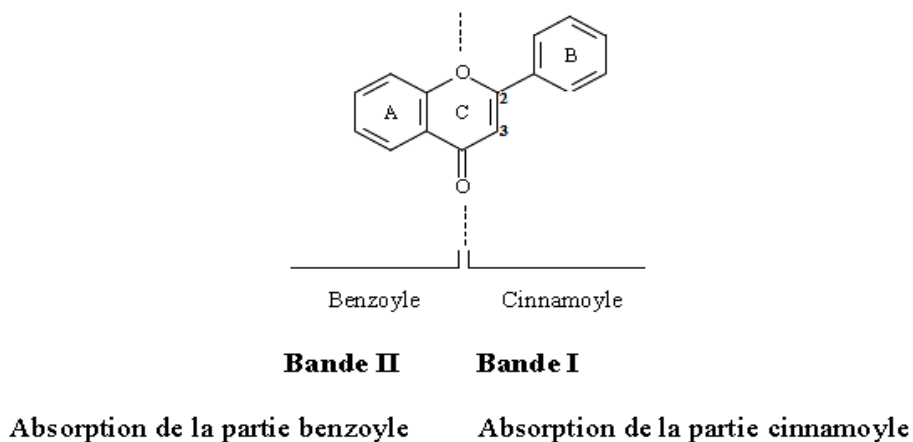


Figure 19 : Les bandes caractéristiques d'un squelette de flavonoïdes ((**Markham, 1982**)).

Bande I : présentant un maximum d'absorption entre 300 et 400 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

Bande II : présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, elle est attribuée à l'absorption du système benzoyle qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne des informations sur les variations structurales du cycle A (**Markham, 1982**).

Le balayage spectral des molécules a été fait par le spectrophotomètre de type Specord^R 200 Plus, piloté par le logiciel WinASPECT Plus. Les spectres obtenus ont été enregistrés et comparés avec ceux des témoins des composés phénoliques (Catéchine, quercétine, pyrocatechol, phloroglucinol, hydroquinone, acide férulique, acide vanillique, acide tannique, acide gallique et acide p-coumarique).

Suivant le nombre de doubles liaisons conjuguées sur la structure des flavonoïdes, ces bandes seront plus ou moins intenses. Il est ainsi facile de faire la différence entre des molécules aglycones à cycle C ouvert (chalcone, aurone) qui ont une bande II très réduite et les autres flavonoïdes à cycle C fermé qui possèdent une bande II beaucoup plus intense. Par contre, les isoflavones et les flavanones possèdent une bande I qui est généralement réduite à un épaulement.

2.2. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La chromatographie liquide à haute performance est la technique d'analyse, de caractérisation d'extraits en composés phénoliques la plus utilisée (**Gomez-Caravaca et al., 2006**), car elle présente une haute résolution, une reproductibilité élevée et une durée d'analyse relativement courte.

L'appareillage utilisé au laboratoire est constitué d'une chaîne chromatographique de type Y L9100 qui est composée d'une pompe quaternaire, d'un détecteur UV-Vis DUAL, pilotée par le logiciel YL Clarity. Cette analyse a été réalisée en phase inverse avec une colonne CLHP de type C18, d'une longueur de 15 cm et d'un diamètre interne de 4.6 mm, avec un débit de 0.8 ml/ min.

Vingt microlitre ont été introduit dans cette colonne et la phase mobile est composée de : Méthanol/ Eau (ultra pure)/ Acide acétique (45/55/5). Les composés phénoliques sont élués en utilisant un mode isocratique et la détection a été faite à une longueur d'onde de 260 nm pendant un temps de 30 min sous une pression de 100 à 150 bars et à 25°C (Température du laboratoire).

2.3. Analyse de la sous-fraction F16.8 par CLUHP/SM (Agilent 1290)

La sous fraction F16.8 a été analysée par la chromatographie en phase liquide ultra-haute performance (CLUHP) couplée à la spectrométrie de masse (SM) sous la direction du docteur Serge Michalet, Maître de Conférences, UMR 5557 Université Lyon 1/CNRS, Écologie Microbienne, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISPB), Centre d'Étude des Substances Naturelles (CESN).

Ce système CLUHP (Agilent 1290 infinity series) est muni d'une pompe de distribution de solvant (G4226A), d'un passeur d'échantillons (G1316C) et d'un four à colonne (G4212A) relié à un détecteur à barrette de diodes (DAD, G4212A) et un spectromètre de masse à quadrupole couplé à un analyseur en temps de vol (QTOF, Agilent 6530) en mode électrospray (ESI) d'ions positifs (Agilent Technologies).

Cinq microlitres d'extrait ont été séparés sur colonne Poroshell 120 C18 (3.0*150 mm, 2.7 µm), avec un débit de 1.2 ml/min. Les phases mobiles sont composées de 0.4% d'acide formique dans l'eau (A) et de l'acétonitrile (B). Les composés phénoliques sont éluées en utilisant un gradient d'éluion, le programme est comme suit : **1%** de **B** ; 0-2 min, **1-7 %** de **B**; 2-15 min, **7-20 % de B** ; 15-25 min, **20-40 % de B**; 25-35 min, **40-100 % de B**; 35-46 min et **100%** de **B** ; 46 à 47 min.

La détection est réalisée par un détecteur à barrette de diodes (190-600 nm). Les aires de pics des extraits sont mesurées à la longueur d'onde de 280 nm. L'analyse par spectrométrie de masse est effectuée en un seul mode d'ionisation (positif), électrospray positif (ESI⁺), dans les conditions suivantes :

Le mode ESI⁺ : tension du fragmenteur à 70V et du capillaire à 4000V ; sources de gaz fixée (N₂) à 40 psi avec un débit de 11 L/min à une température de 320°C.

Les paramètres ioniques ont été optimisés et calibrés en mode ESI⁺ par un réglage automatique par l'utilisation de solutions standards de masses de références.

L'analyse complète des spectres de masse (MS) a été réalisée à haute résolution (R= 12000) avec un balayage de 100 à 3000 m/z (rapport masse/charge) pour obtenir des masses exactes et des scans en MS² ont été automatiquement réalisés (acquisition en auto MSMS) pour une étude structurale.

Les données sont traitées à l'aide du logiciel MassHunter (Agilent Technologies). Les masses expérimentales ainsi que les spectres UV ont été comparées à la littérature disponible afin d'identifier la nature des métabolites.

PARTIE RÉSULTATS

Chapitre 1 : Screening phytochimique et rendements en extraits sec

1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les différents extraits des deux plantes *S. villosum* et *A. articulata* en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques sont illustrés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Résultats des tests phytochimiques.

Composés chimiques recherchés	<i>Anabasis articulata</i>		<i>Sedum villosum</i>
	Rameaux	Racine	Partie fleurie
Amidon	-	-	+
Saponosides	+	+	++
Tanins cathéchiques	+++	-	++
Tanins galliques	-	+++	-
Flavonoïdes	+	+	++
Composé réducteurs	-	-	-
Alcaloïdes	++	-	-
Coumarine	-	-	-
Tanins	+++	+++	+++
Stérols et triterpènes	+++	++	-

(+) : Présence en faible quantité ; (++) : Présence en quantité moyenne ; (+++) : Présence en forte quantité ; (-) : Absence.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal de différentes parties de nos plantes mentionnés dans le **tableau 3**, montrent la présence des flavonoïdes, tanins, saponosides dans les deux plantes avec des intensités variables, ainsi que la présence des stérols et triterpènes que dans la plante *A. articulata*. Nous enregistrons aussi la présence d'alcaloïdes que dans la partie rameaux de cette dernière. La présence d'amidon que dans la partie fleurie de la plante *S. villosum*.

2. Rendements en extraits secs

Les extractions des différents métabolites secondaires les plus abondants dans nos plantes nous ont permis de calculer le rendement de chaque extraits notamment les extraits bruts

méthanoliques, les flavonoïdes (fractions acétate d'éthyle et butanolique), les tanins, les saponosides à partir des deux plantes citée auparavant et les alcaloïdes à partir des rameaux d'*A. articulata*. Les rendements obtenus exprimés en pourcentage sont représentés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Rendements en extraits obtenus à partir de *S. villosum* et d'*A. articulata*.

Rendement (%)	<i>Anabasis articulata</i>		<i>Sedum villosum</i>
	Rameaux	Racines	Partie fleurie
Extrait brut	5.470 ± 0.537	4.000 ± 0.042	5.170 ± 0.050
Fraction acétate d'éthyle	1.860 ± 0.643	1.310 ± 0.233	3.280 ± 0.353
Fraction butanolique	0.800 ± 0.141	3.000 ± 1.860	0.230 ± 0.035
Tanins	0.964 ± 0.039	1.430 ± 0.339	5.050 ± 0.854
Saponosides	0.611 ± 0.007	0.391 ± 0.126	2.450 ± 0.090
Alcaloïdes	5.950 ± 0.256		

Nous constatons que les rendements des extraits bruts méthanoliques de la partie fleurie de *S. villosum* et des rameaux d'*A. articulata* sont plus au moins proches avec des pourcentages de l'ordre de 5.17 et 5.47 %, respectivement, suivi par l'extrait brut des racines d'*A. articulata* à raison de 4 %. Cependant, le rendement des alcaloïdes des rameaux d'*A. articulata* (5.95 %) est le plus élevé par rapport aux autres métabolites pour les deux plantes. Pour la partie fleurie de *S. villosum*, le rendement des tanins (5.05 %) est plus important, il représente presque la totalité des composés polyphénoliques. Cette famille ne forme que 1.43 et 0.964 %, respectivement dans les racines et les rameaux d'*A. articulata*. Concernant les flavonoïdes, la fraction acétate d'éthyle de la partie fleurie de *S. villosum* a donné un meilleur rendement de l'ordre de 3.28 % par rapport aux rameaux (1.86 %) et racines (1.31 %) d'*A. articulata*. Contrairement à la fraction butanolique de la partie fleurie de *S. villosum* qui révèle un faible rendement (0.23 %), les racines et les rameaux de la plante *A. articulata* enregistrent des rendements de 3 et 0.8%, respectivement. De même, le rendement des saponosides (2.45%) trouvé dans la partie fleurie de *S. villosum* est élevé par rapport aux rameaux (0.611%) et racines (0.391%) d'*A. articulata*.

Chapitre : Teneurs en composés phénoliques et en caroténoïdes et activité antioxydante des métabolites secondaires

1. Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, en tanins condensés et en caroténoïdes totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins condensés sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en mg équivalents acide gallique, mg équivalents catéchines, et mg équivalent quercétine. Pour les caroténoïdes, une équation de la régression exponentielle a été établie et exprimée en mg équivalents β -carotène par g de la matière sèche (Figures 20, 21, 22, 23 et 24).

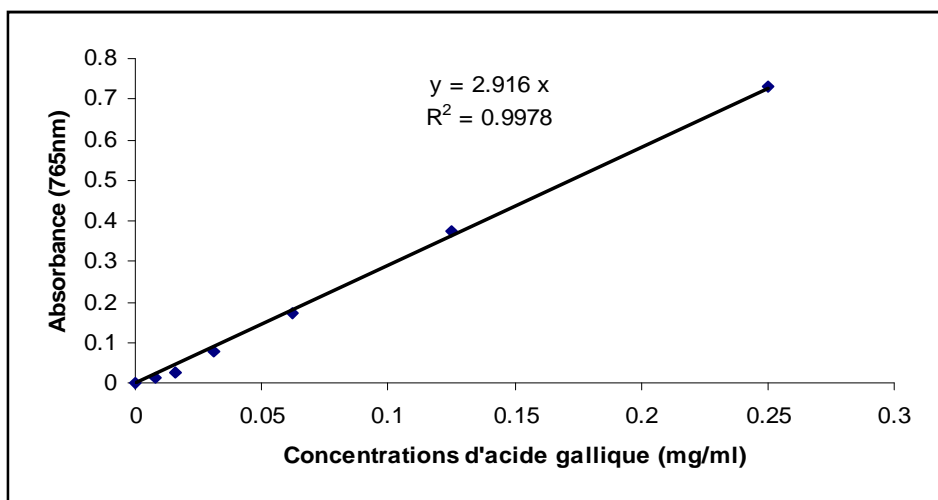


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

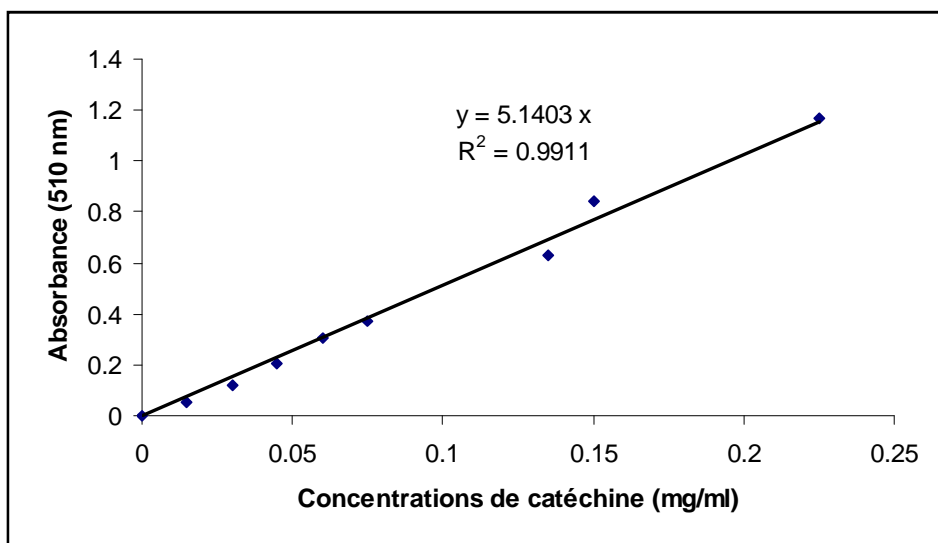


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

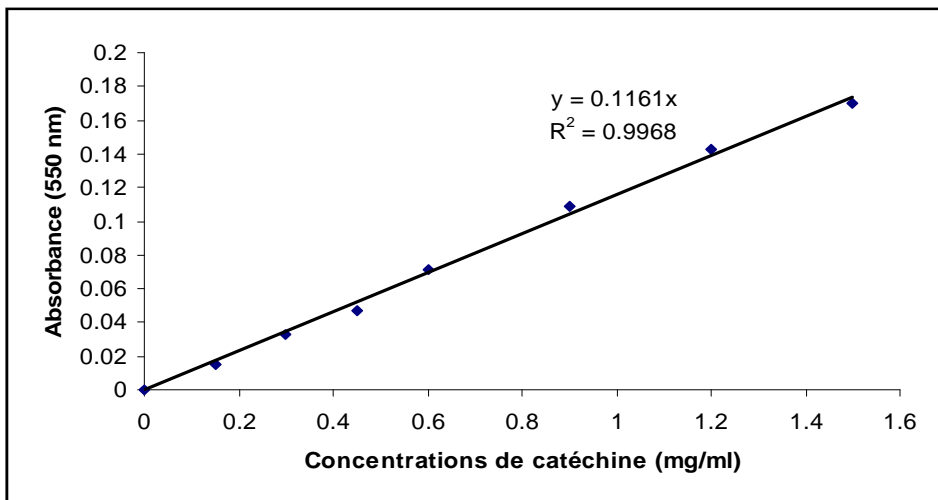


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

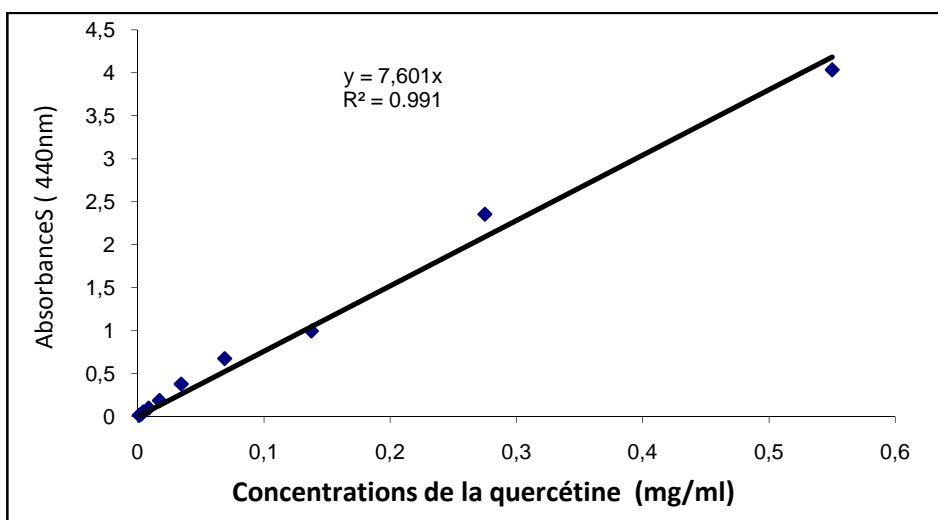


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.

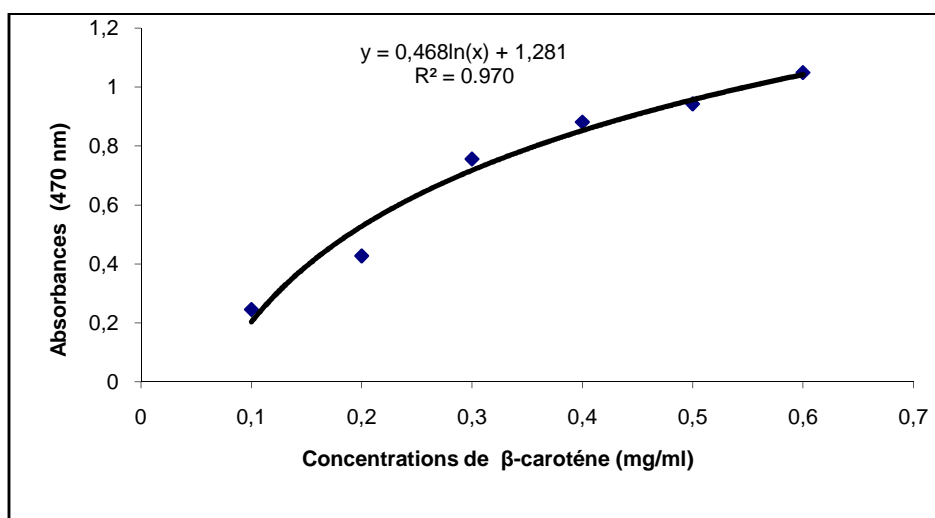


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de β -carotène pour le dosage des caroténoïdes.

Le **tableau 5** résume les résultats obtenus des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, en tanins condensés et en caroténoïdes totaux des extraits bruts méthanoliques de *S. villosum* et d'*A. articulata*.

Tableau 5 : Teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes, en flavonols, en tanins condensés et en caroténoïdes totaux.

Extraits des plantes		Phénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EC/g MS)	Tanins condensés (mg EC/g MS)	Flavonols (mg EQ/g MS)	Caroténoïdes (mg EβC/g MS)
<i>S. villosum</i>	Partie fleurie	32.235 ± 1.128	0.531 ± 0.371	7.424 ± 0.882	6.198 ± 0.127	0.237 ± 0.000
<i>A. articulata</i>	Rameaux	25.480 ± 3.829	3.081 ± 0.205	4.031 ± 0.341	1.000 ± 0.036	0.267 ± 0.000
	Racines	19.855 ± 7.518	3.800 ± 0.062	2.678 ± 0.127	0.570 ± 0.059	0.218 ± 0.000

mg EAG/g MS : milligramme équivalents acide gallique par gramme de matière sèche ; mg EC/g MS : milligramme équivalents catéchine par gramme de matière sèche ; mg EQ/g MS : milligramme équivalents quercétine par gramme de matière sèche ; mg EβC/g MS : milligramme équivalents β carotène par gramme de matière sèche.

Nous constatons d'après ce tableau, que la teneur la plus importante en phénols totaux est constatée dans la partie fleurie de *S. villosum* suivi par les rameaux et les racines d'*A. articulata*, elles sont de l'ordre de 32.235 ± 1.128 , 25.480 ± 3.829 et 19.855 ± 7.518 mg EAG/g MS, respectivement. Tandis que, les racines d'*A. articulata* étaient particulièrement riche en flavonoïdes (3.800 ± 0.062 mg EC/ g MS) par rapport aux autres parties de plantes. La partie fleurie de *S. villosum* apparaît riche en tanins condensés (7.424 ± 0.882 mg EC/ g MS) et en flavonols totaux (6.198 ± 0.127 mg EQ/g MS). Pour les caroténoïdes, les teneurs enregistrées sont rapprochées dans les différentes parties de nos plantes.

2. Pouvoir antioxydant des extraits

L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de nos plantes a été réalisée par quatre techniques chimiques : la capacité antioxydante totale, la réduction de fer, le piégeage du radical libre DPPH et le blanchiment du β-carotène.

2.1. Capacité antioxydante totale

Le résultat de la capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de plantes exprimée en mg équivalents acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS), à partir d'une courbe d'étalonnage est représenté dans la **figure 24** (Annexe 2).

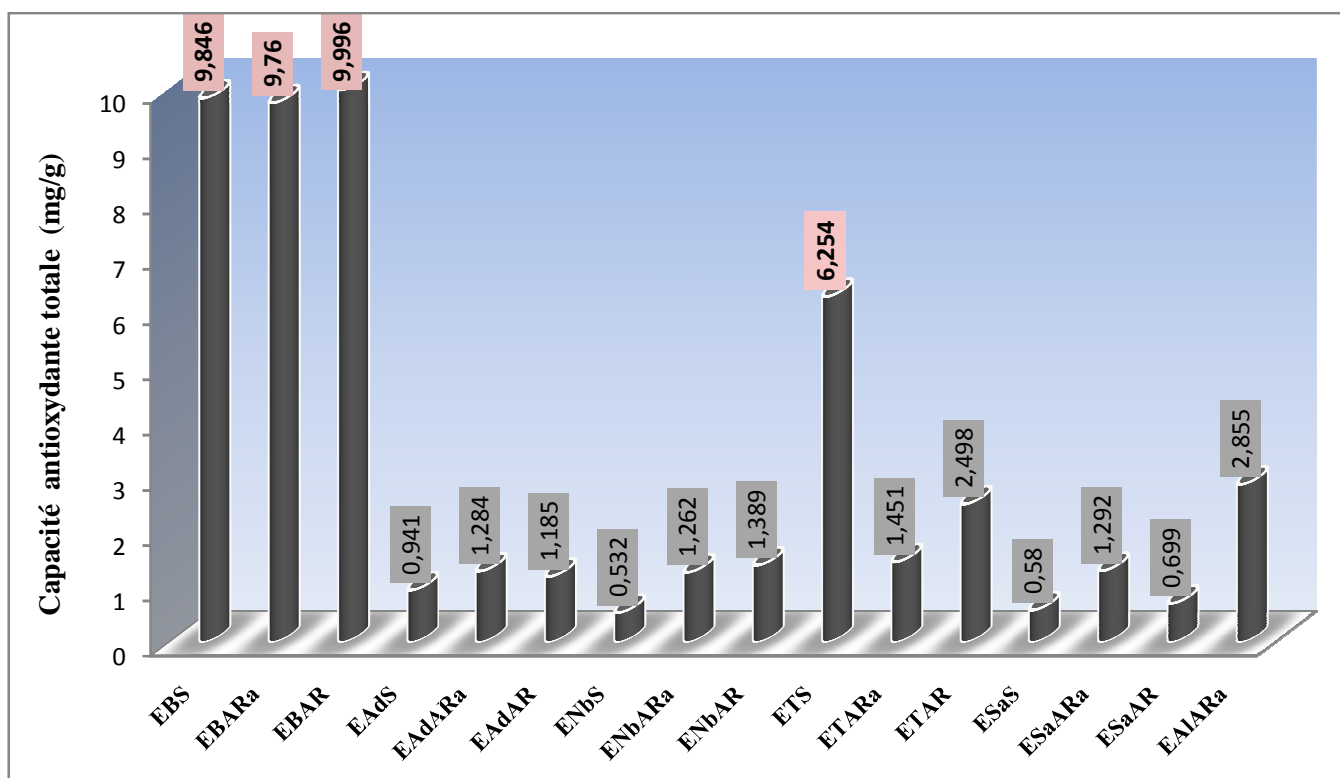


Figure 25 : Comparaison de la capacité antioxydante totale des extraits des plantes étudiées.

EBS : extrait brut de *S. villosum* ; **FnBS** : fraction butanolique de *S. villosum* ; **EBARa** : extrait brut rameaux d'*A. articulata* ; **FnBARa** : fraction butanolique de rameaux d'*A. articulata* ; **EBAR** : extrait brut racines d'*A. articulata* ; **FnBAR** : fraction butanolique de racines d'*A. articulata* ; **FAdS** : fraction acétate d'éthyle de *S. villosum* ; **ETS** : extrait tanins de *S. villosum* ; **FAdARa** : fraction acétate d'éthyle rameaux d'*A. articulata* ; **ETARa** : extrait tanins de rameaux d'*A. articulata* ; **FAdAR** : fraction acétate d'éthyle racine d'*A. articulata* ; **ETAR** : extrait tanins de racines d'*A. articulata* ; **ESaS** : extrait saponosides de *S. villosum* ; **ESaARa** : extrait saponosides de racines d'*A. articulata* ; **ESaARA** : extrait saponosides de rameaux d'*A. articulata* ; **EAlARa** : extrait alcaloïdes de rameaux d'*A. articulata*.

Nous remarquons que tous les extraits présentent des différents degrés d'activités antioxydantes. Les extraits bruts méthanoliques ont des meilleures capacités antioxydantes totales de l'ordre de 9.846 ± 0.133 , 9.760 ± 0.128 et 9.996 ± 0.037 mg EAA/g MS pour la partie fleurie de *S. villosum* (**EBS**), les rameaux et les racines d'*A. articulata* (**EBARa**, **EBAR**) respectivement.

Les extraits des tanins révèlent aussi des capacités antioxydantes moins intéressantes à raison de 6.254 ± 0.035 pour Sedum (**ETS**), 2.498 ± 0.000 (**ETAR**) et 1.451 ± 0.042 (**ETARa**) mg EAA/g MS pour les racines et les rameaux d'Anabasis. Les valeurs enregistrées des deux fractions acétates et butanoliques pour les deux plantes sont comparables et égales à 0.941 ± 0.007 (**FAdS**), 1.284 ± 0.033 et 1.185 ± 0.039 mg/g pour la fraction acétate et 0.532 ± 0.012 (**FnBS**), 1.262 ± 0.054 (**FnBARa**) et 1.389 ± 0.097 (**FnBAR**) mg/g pour la fraction butanolique de la partie fleurie de Sedum, les rameaux et les racines d'Anabasis respectivement. Pour le reste, la gamme de cette capacité est limitée entre 0.58 ± 0.009 et 2.855 ± 0.007 mg/g pour les extraits des saponosides et des alcaloïdes (**Figure 25**).

2.2. Réduction de fer

Le résultat de l'activité réductrice des différents extraits de chaque partie de plantes étudiées est mentionné dans les **figures 25, 26 et 27**. Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes des absorbances en fonction des concentrations.

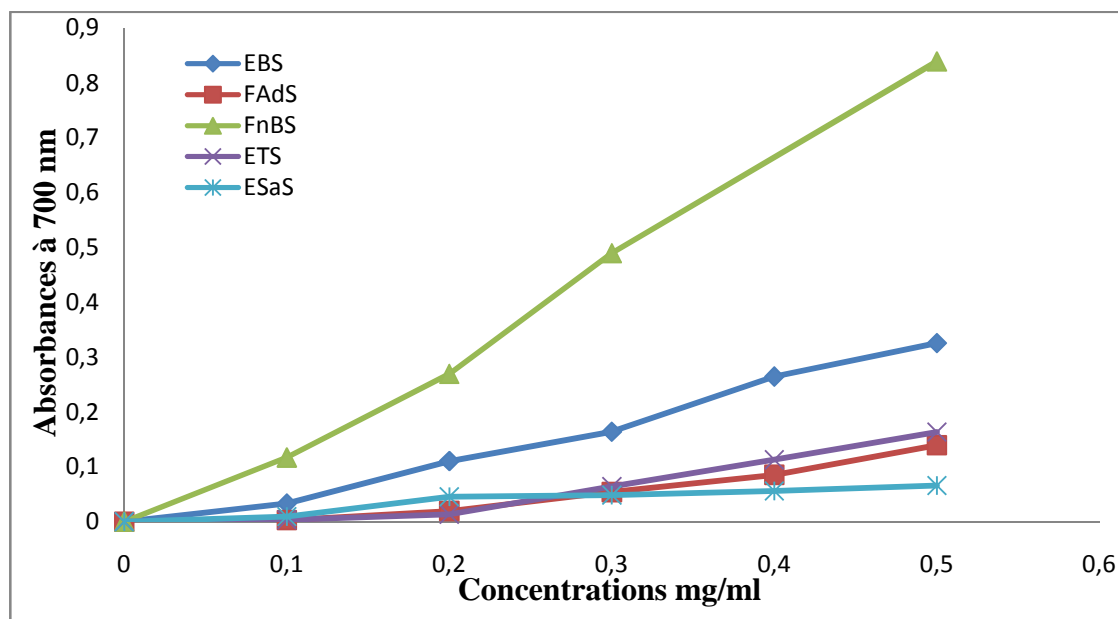


Figure 26 : Pouvoir réducteur des extraits de plante *S. villosum*.

EBS : extrait brut de *S. villosum* ; **FAdS** : fraction acétate d'éthyle de *S. villosum* ; **FnBS** : fraction butanolique de *S. villosum* ; **ETS** : extrait de tanins de *S. villosum* ; **ESaS** : extrait de saponosides *S. villosum*.

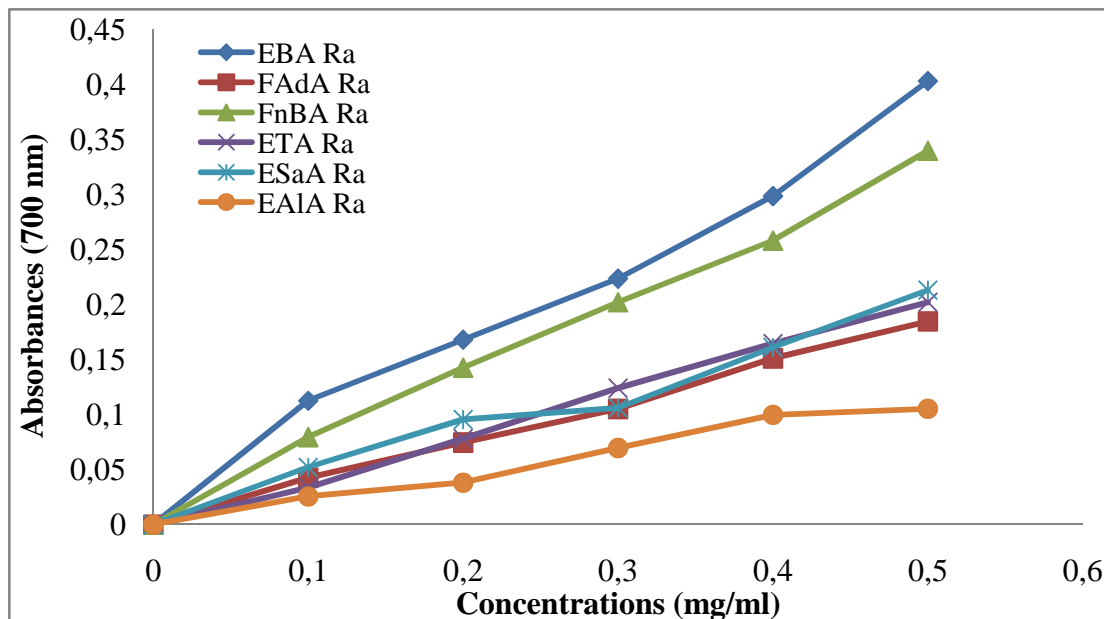


Figure 27 : Pouvoir réducteur des extraits des rameaux d'*A. articulata*.

EBA Ra : extrait brut de rameaux d'*A. articulata* ; **FnBARa:** fraction butanolique de rameaux d'*A. articulata* ; **FAdARA :** fraction acétate d'éthyle rameaux d'*A. articulata* ; **ETARA :** extrait tanins de rameaux d'*A. articulata* ; **ESaARA :** extrait saponosides de rameaux d'*A. articulata* ; **EAIARA :** extrait alcaloïdes de rameaux d'*A. articulata* .

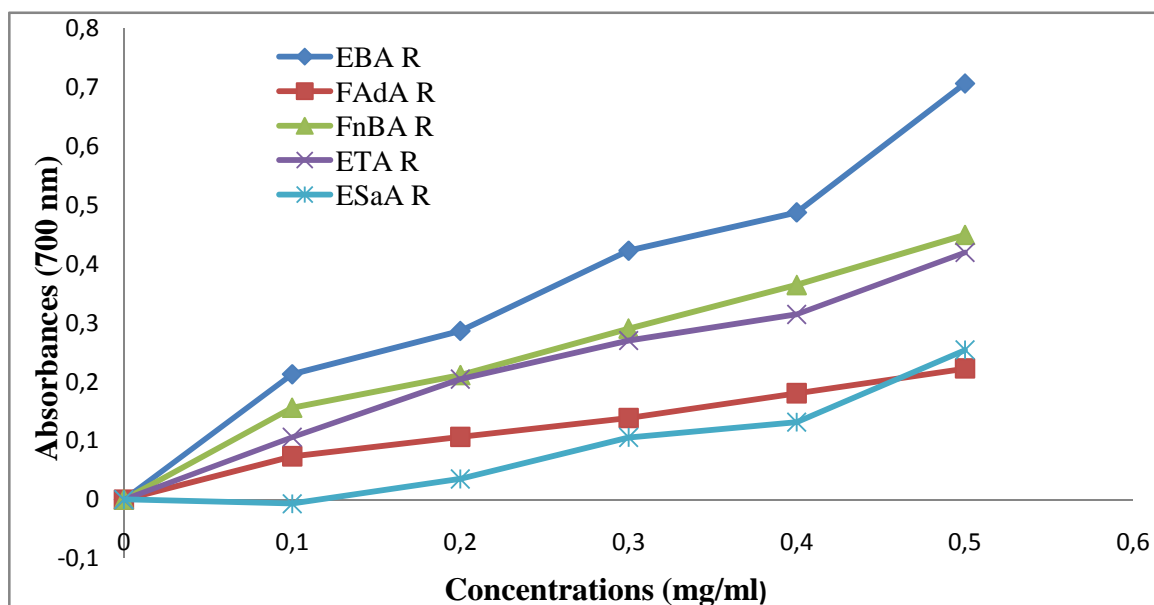


Figure 28: Pouvoir réducteur des extraits des racines d'*A. articulata*.

EBAR : extrait brut racines d'*A. articulata* ; **FnBAR:** fraction butanolique de racines d'*A. articulata* ; **FAdAR :** fraction acétate d'éthyle de racine d'*A. articulata* ; **ETAR :** extrait tanins de racines d'*A. articulata* ; **ESaAR :** extrait saponosides de racines d'*A. articulata*.

Nous constatons que l'activité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration. Le pouvoir réducteur de la fraction butanolique de la partie fleurie de *S. villosum* (**FnBS**) et l'extrait brut méthanolique des racines d'*A. articulata* (**EBAR**) s'élèvent de 0.117 et 0.213 à la concentration 0.1 mg/ml à 0.839 et 0.707 à la concentration 0.5 mg/ml, respectivement (**Figures 26** et **28**). Ces deux extraits ont présenté l'activité la plus élevée pour réduire le fer par rapport aux autres extraits. Ainsi que, les alcaloïdes des rameaux (**EAlARa**), la fraction butanolique et les tanins des racines (**FnBAR**, **ETAR**) et aussi l'extrait brut méthanolique des rameaux d'*A. articulata* (**EBARa**) ont enregistré des pouvoirs réducteurs considérables avec des densités optiques maximales de 0.451, 0.4495, 0.4195 et 0.403 à la concentration 0.5 mg/ml, respectivement (**Figures 27** et **28**). A la même concentration, les pouvoirs réducteurs de l'extrait brut méthanolique (0.3395) de la partie fleurie de *S. villosum* (**EBS**) et la fraction butanolique (0.3255) des rameaux d'*A. articulata* (**FnBA Ra**) sont plus ou moins similaires (**Figures 26** et **27**). Pour l'extrait des saponosides de *S. villosum* (**ESaS**) sa capacité reste plus faible par rapport aux différents extraits (**Figure 26**).

Afin de comparer l'efficacité de nos extraits, nous avons déterminé la concentration EC_{50} et les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau 6**.

La concentration EC_{50} la plus faible est signalée dans l'acide ascorbique à raison de 0.063 ± 0.002 mg/ml. Pour les extraits de nos plantes, les valeurs EC_{50} sont de 0.364 ± 0.001 mg/ml pour l'extrait brut méthanolique des racines et 0.663 ± 0.006 mg/ml pour les rameaux d'*A. articulata* et 0.733 ± 0.001 mg/ml pour la partie fleurie de *S. villosum*. En plus, les fractions acétates des deux plantes sont similaires contrairement aux fractions butanoliques, la plante *S. villosum* présente un meilleur pouvoir réducteur à raison de 0.332 ± 0.000 mg/ml. En effet, la concentration EC_{50} la plus élevée est enregistrée pour l'extrait des saponosides de Sedum avec une concentration égale à 3.983 ± 0.062 mg/ml.

L'efficacité de la réduction de fer est inversement proportionnelle à la valeur EC_{50} , elle est de l'ordre croissant selon le classement suivant : **Acide ascorbique** >FnBS >EBAR >EAlA Ra >FnBAR >ETAR >EBARa>EBS >FnBRa >EsaAR >ETARa >FadAR >EsaARa >ETS >FadARa >FadS >EsaS.

Tableau 6 : Concentration EC₅₀ des extraits d'*A. articulata* et de *S. villosum* par FRAP.

Plantes étudiées		Extraits de plantes	Abréviations	EC ₅₀ (mg/ml)
<i>Sedum villosum</i>	Partie fleurie	Extrait brut méthanolique	EBS	0.733 ± 0.001
		Fraction acétate d'éthyle	FadS	1.597 ± 0.005
		Fraction butanolique	FnBS	0.332 ± 0.000
		Tanins	ETS	1.321 ± 0.009
		Saponosides	EsaS	3.983 ± 0.062
<i>Anabasis articulata</i>	Rameaux	Extrait brut méthanolique	EBARa	0.663 ± 0.006
		Fraction acétate d'éthyle	FAdARa	1.377 ± 0.004
		Fraction butanolique	FnBARa	0.765 ± 0.003
		Tanins	ETARa	1.196 ± 0.016
		Saponosides	ESaARa	1.267 ± 0.035
		Alcaloïdes	EAlARa	0.517 ± 0.008
	Racines	Extrait brut méthanolique	EBAR	0.364 ± 0.001
		Fraction acétate d'éthyle	FAdAR	1.256 ± 0.034
		Fraction butanolique	FnBAR	0.577 ± 0.005
		Tanins	ETAR	0.621 ± 0.007
		Saponosides	ESaAR	0.889 ± 0.006
Acide ascorbique				0.063 ± 0.002

2.3. Piégeage du radical libre DPPH[•]

L'activité antiradicalaire des extraits étudiés de l'espèce *S. villosum* et les deux parties de la plante *A. articulata* vis-à-vis du radical DPPH exprimée en pourcentages d'inhibition est illustrée dans les **figures 29, 30 et 31**.

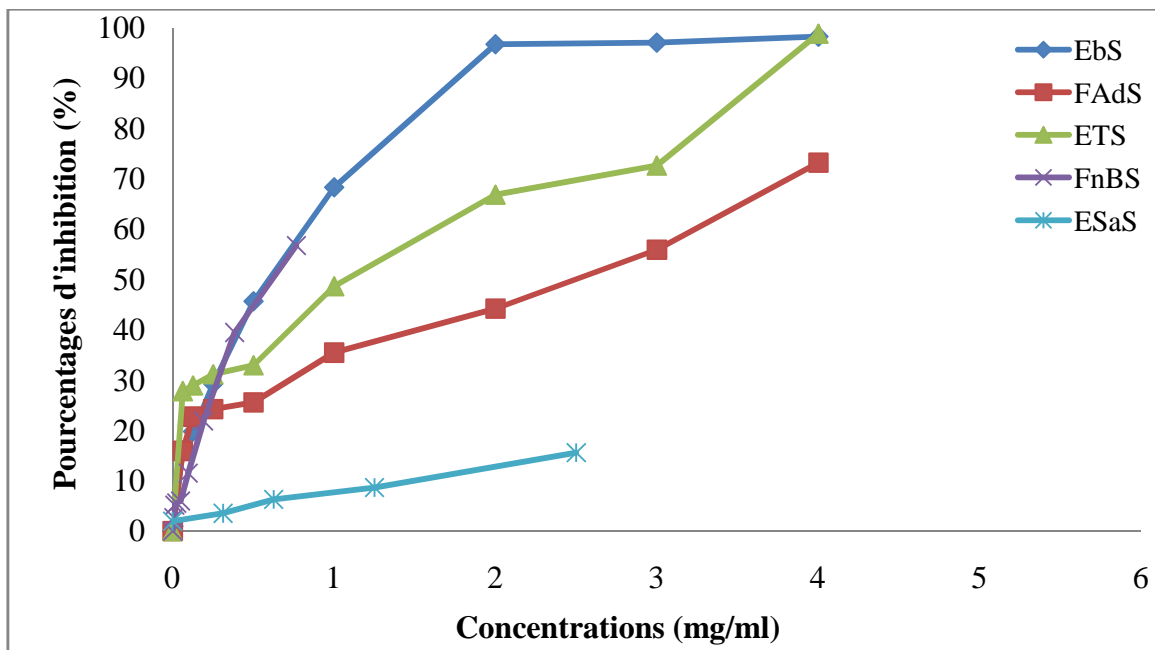


Figure 29 : Pourcentages d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations des extraits de plante *S. villosum*.

EBS : extrait brut de *S.villosum* ; **FnBS** : fraction butanolique de *S. villosum* ; **FAdS** : fraction acétate d'éthyle de *S.villosum*; **ETS** : extrait tanins de *S. villosum* ; **ESaS** : extrait saponosides de *S. villosum*.

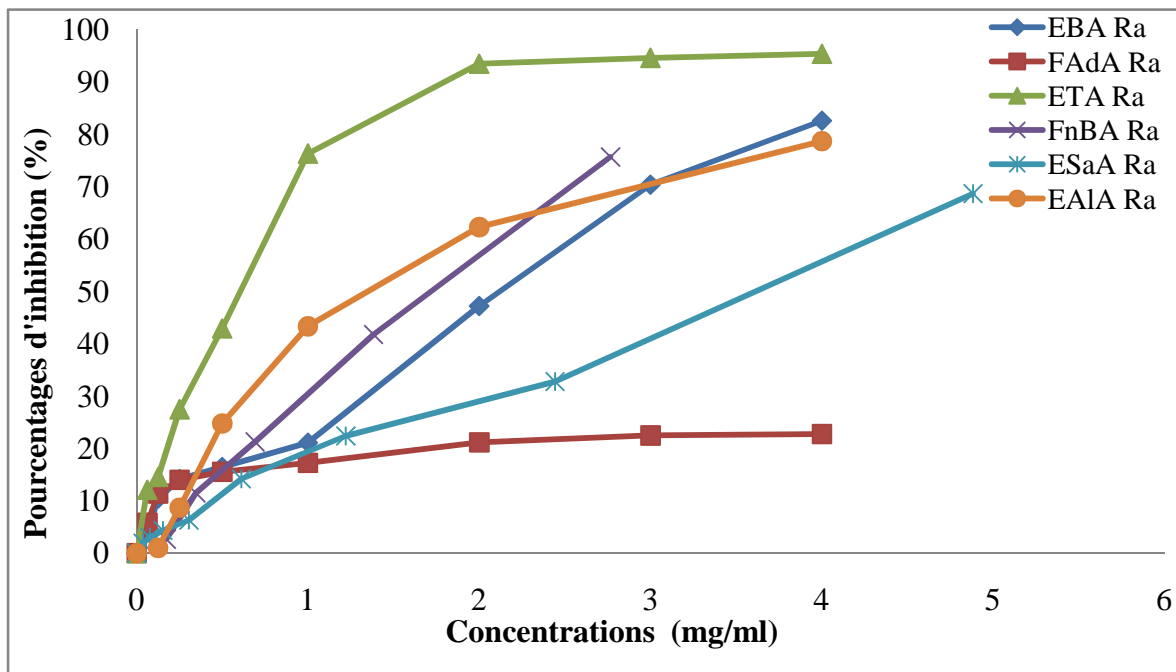


Figure 30 : Pourcentages d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations des extraits de rameaux d'*A. articulata*.

EBARa :extrait brut rameaux d'*A. articulata* ;**FnBARa**: fraction butanolique de rameaux d'*A. articulata* ;**FAdA Ra** : fraction acétate d'éthyle de rameaux d'*A. articulata* ; **ETARa** : extrait tanins de rameaux d'*A. articulata* ; **ESaARA** : extrait saponosides de rameaux d'. *A articulata* ; **EAIARa** : extrait alcaloïdes de rameaux d'*A. articulata* .

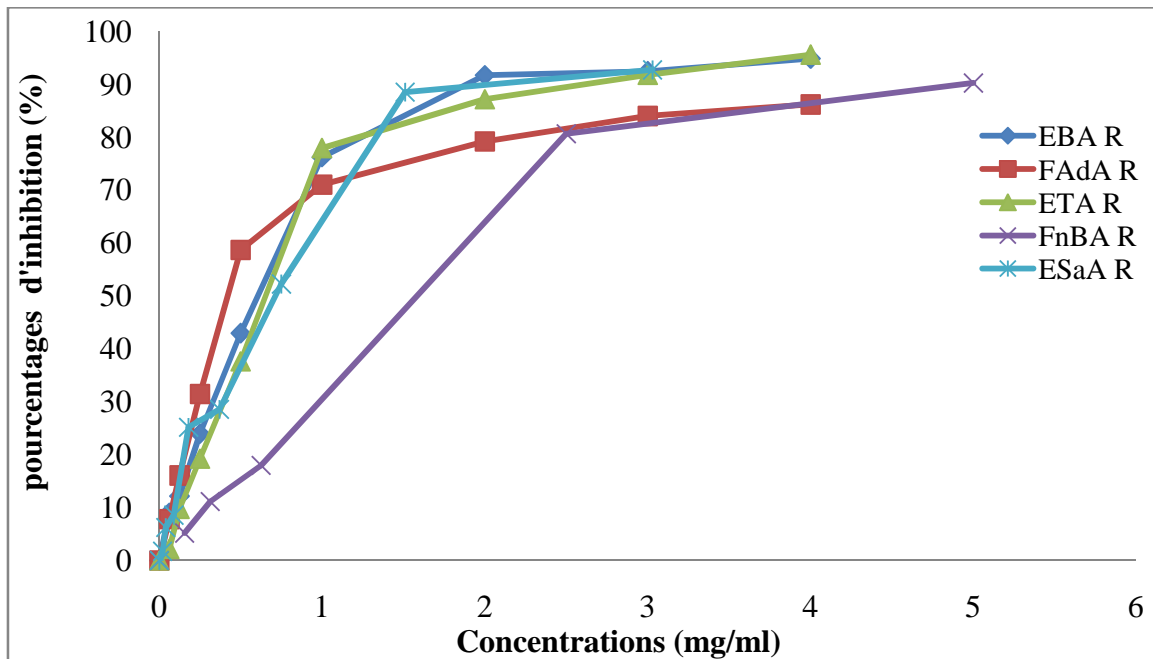


Figure 31 : Pourcentages d'inhibition (%) du DPPH en fonction des concentrations des extraits de racines d'*A. articulata*.

EBAR : extrait brut racines d'*A. articulata* ; **FnBAR** : fraction butanolique de racines d'*A. articulata* ; **AdAR** : fraction acétate d'éthyle de racines d'*A. articulata* ; **ETAR** : extrait tanins de racines d'*A. articulata* ; **ESaAR** : extrait saponosides de racines d'*A. articulata*.

Nous remarquons que les pourcentages d'inhibition augmentent avec l'augmentation des concentrations, ce qui explique que ces extraits possèdent une activité antiradicalaire à différents degrés. A une concentration de 1 mg/ml, les tanins de racines d'*A. articulata* (**ETAR**) enregistrent un pourcentage d'inhibition le plus important de l'ordre de 77.887 % comparativement aux tanins des rameaux (76.287 %) et aux tanins de la partie fleurie de la plante *S. villosum* (48.68 %) (**ETARa, ETS**) (**Figures 29, 30 et 31**). Pour l'extrait brut et la fraction acétate d'éthyle des rameaux d'*A. articulata* (**EBARa, FAdARa**), les pourcentages d'inhibition sont égales à 21.097 et 17.248 % qui sont trop faibles par rapport aux pourcentages présentés pour l'extrait brut (76.242 %) et la fraction d'acétate d'éthyle (71.024 %) des racines de la même plante (**EBAR, AdAR**), ainsi que l'extrait brut (68.319%) et la fraction acétate d'éthyle (35.455%) de la plante *S. villosum* (**EBS, FAdS**) à la même concentration (1 mg/ml) (**Figures 29, 30 et 31**).

Concernant la fraction butanolique de *S. villosum* (**FnBS**), juste à 0.766 mg/ml arrive à piéger presque la moitié de la quantité du DPPH ajouté dans le milieu, elle révèle un pourcentage de 56.716 % (**Figure 29**). Les fractions butanoliques de la plante *A. articulata* ont donné des

activités plus faibles. A l'inverse, les saponosides des racines d'*A. articulata* ont un meilleur pouvoir à piéger le radical DPPH (**ESaAR**) un pourcentage de 88.496 % à une concentration de 1.51 (mg/ ml) par rapport aux autres saponosides (**Figure 31**).

A propos des alcaloïdes des rameaux d'*A. articulata* (**EAlARa**), la capacité à céder un proton afin de neutraliser le DPPH dépasse 50 % à partir de la concentration 2 mg/ml (**Figure 30**).

Pour comparer la capacité antioxydante de nos extraits, nous avons déterminé expérimentalement, le paramètre EC₅₀ (**Tableau 7**). Ce paramètre a été présenté récemment pour l'interprétation des résultats de la méthode du DPPH. Ceci est défini comme la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH[•] (**Pokorny et al., 2001**).

Tableau 7 : Concentrations EC₅₀ des extraits d'*A. articulata* et de *S. villosum* par DPPH.

Extraits de plantes	EC ₅₀ (mg/ml)		
	<i>A. articulata</i>		<i>S. villosum</i>
	Rameaux	Racines	Partie fleurie
Extrait brut méthanolique	1.988 ± 0.153	0.576 ± 0.033	0.537 ± 0.007
Fraction d'acétate d'éthyle	/	0.442 ± 0.011	2.026 ± 0.006
Fraction butanolique	1.696 ± 0.019	1.757 ± 0.014	0.618 ± 0.001
Tanins	0.530 ± 0.006	0.605 ± 0.004	0.916 ± 0.009
Saponosides	3.500 ± 0.044	0.622 ± 0.003	19.884 ± 0.097
Alcaloïdes	1.303 ± 0.216		
Acide ascorbique	0.124 ± 0.000		

Les résultats illustrés dans le **tableau 7**, nous montrent que tous ces extraits participent à céder le proton H⁺ avec différents degrés à l'exception de la fraction acétate d'éthyle des rameaux. En comparant les EC₅₀ des différents extraits testés des deux plantes par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué que la fraction acétate d'éthyle des racines d'*A. articulata* possède une activité antiradicalaire moyenne. Cette fraction enregistre une concentration EC₅₀ égale à 0.442 ± 0.011 mg/ml. Pour les autres extraits des racines, l'extrait brut, les tanins, les saponosides et la fraction butanolique présentent des capacités antioxydantes faibles de l'ordre de 0.576 ± 0.033, 0.605 ± 0.004, 0.622 ± 0.003 et 1.757 ± 0.014 mg/ml, respectivement. Tandis que, les concentrations EC₅₀ des tanins, des alcaloïdes,

de la fraction butanolique, et d'extrait brut des rameaux sont égales à 0.530 ± 0.006 , 1.303 ± 0.216 , 1.696 ± 0.019 et 1.988 ± 0.153 mg/ml, respectivement. Alors que, les saponosides des rameaux d'*A. articulata* sont plus faibles de 3.500 ± 0.044 mg/ml.

Pour l'espèce *S. villosum*, l'extrait brut méthanolique de la partie fleurie présente l'activité la plus importante avec une valeur EC_{50} égale à 0.537 ± 0.007 mg/ml par rapport aux autres extraits de la même plante suivi par la fraction butanolique ($EC_{50}=0.618 \pm 0.001$ mg/ml).

Nous pouvons classer les extraits par ordre de réactivité décroissante : **Acide ascorbique** > FAdAR > ETARa > EBS > EBAR > ETAR > FnBS > ESaAR > ETS > EAlARa > FnBARa > FnBAR > EBARa > FAdS > ESaARa > ESaS.

2.4. Méthode de blanchiment du β -carotène

D'après les **figures 32** et **33**, le pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydante par le système β -carotène/ acide linoléique est proportionnel à la concentration. Tous les extraits des plantes inhibent le blanchiment du β -carotène à différentes valeurs par le piégeage des radicaux libres.

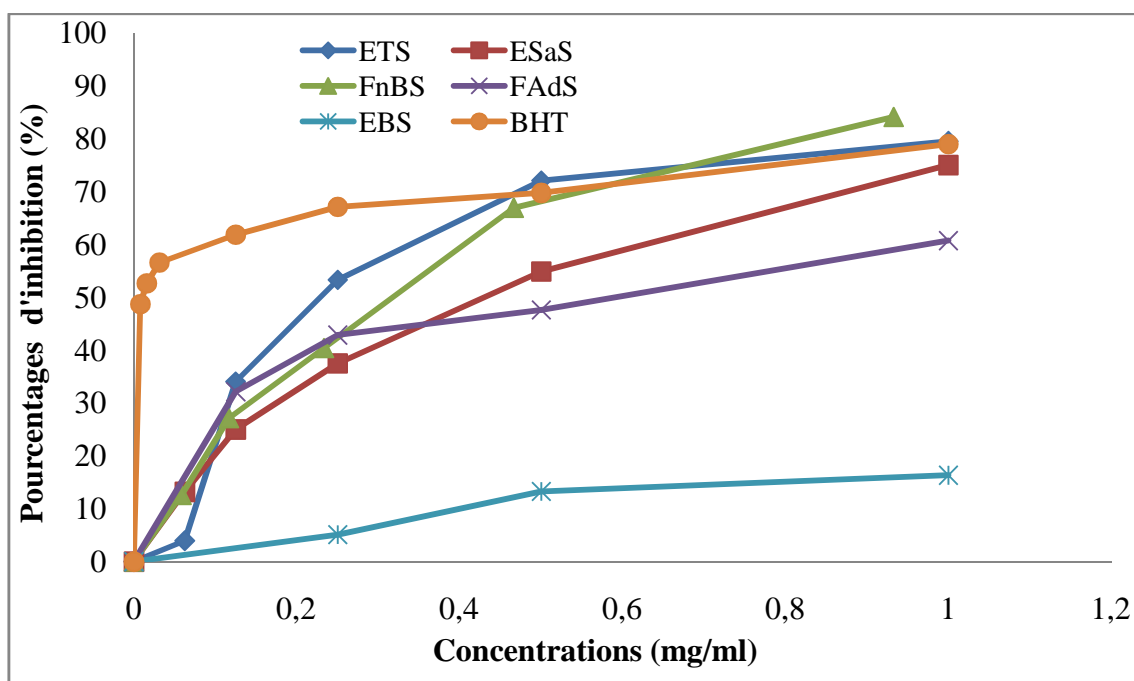


Figure 32 : Pourcentages d'inhibition de blanchiment du β -carotène en fonction des concentrations des extraits de plante *S. villosum*.

EBS : extrait brut de *S. villosum*; **FnBS** : fraction butanolique de *S. villosum*; **FAdS** : fraction acétate d'éthyle de *S. villosum*; **ETS** : extrait tanins de *S. villosum*; **ESaS** : extrait saponosides de *S. villosum*.

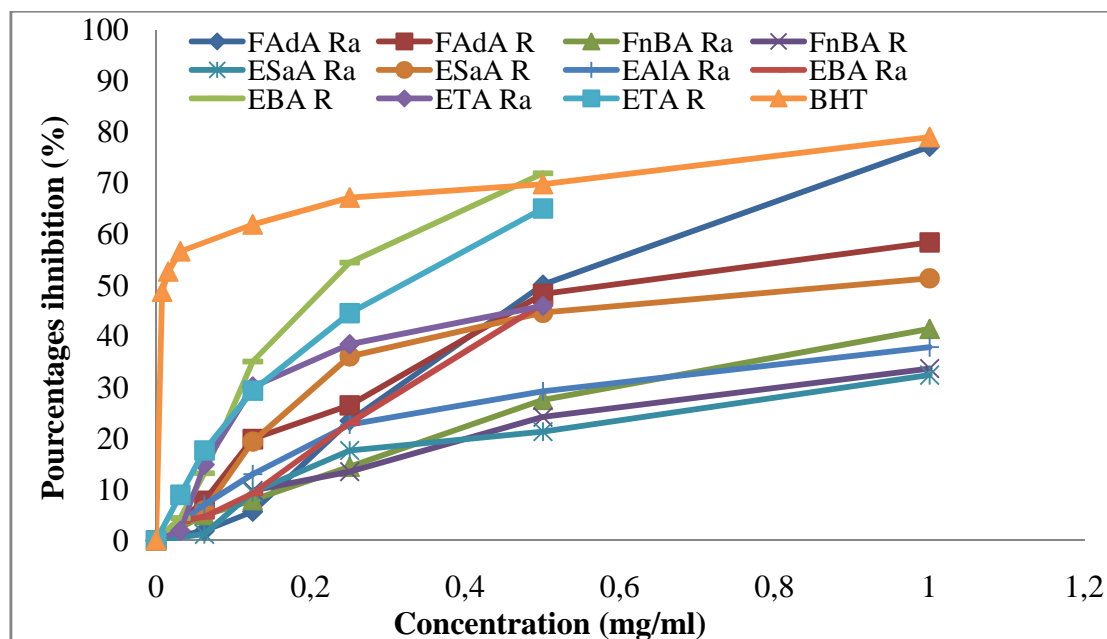


Figure 33 : Pourcentages d'inhibition de blanchiment du β -carotène en fonction des concentrations d'extraits des rameaux et des racines d'*A. articulata*.

EBARa : extrait brut rameaux d'*A. articulata* ; **FnBARa** : fraction butanolique de rameaux d'*A. articulata* ; **EBAR** : extrait brut racines d'*A. articulata* ; **FnBAR** : fraction butanolique de racines d'*A. articulata* ; **FAdARa** : fraction acétate d'éthyle de rameaux d'*A. articulata* ; **ETARa** : extrait tanins de rameaux d'*A. articulata* ; **FAdAR** : fraction acétate d'éthyle de racine d'*A. articulata* ; **ETR** : extrait tanins de racines d'*A. articulata* ; **ESaAR** : extrait saponosides de racines d'*A. articulata* ; **EAlARa** : extrait alcaloïdes de rameaux d'*A. articulata* ; **ESaARa** : extrait saponosides de rameaux d'*A. articulata*

A 0.5 mg/ml, les tanins de la partie fleurie de *S. villosum* et l'extrait brut méthanolique des racines d'*A. articulata* (**ETS**, **EBAR**) présentent une meilleure activité antioxydante de l'ordre de 72.052 et 71.875 %, respectivement. Ces pourcentages sont même supérieurs à celui du BHT (69.736 %) à la même concentration suivi par les tanins de la partie racines d'*A. articulata* (65.005 %) (**ETA R**), les saponosides de la plante *S. villosum* (54.861%) et la fraction acétate d'éthyle des rameaux (50.093 %) d'*A. articulata* (**ESaS**, **FAdARa**). En effet, la fraction butanolique de *S. villosum* (**FnBS**) montre une très bonne activité de 84.105% à une concentration de 0.933 mg/ml (**Figures 32 et 33**).

A l'inverse, les fractions acétate d'éthyle des racines d'*A. articulata* (**FAdAR**) et de *S. villosum* (**FAdS**), l'extrait brut et les tanins des rameaux (**EBARa**, **ETARa**) et les saponosides des racines d'*A. articulata* (**ESaAR**) présentent des activités inhibitrices inférieures à 50 % de l'ordre de 48.249, 48.214, 46.360, 45.929 et 44.594 %, respectivement (**Figure 33**). Pour les autres extraits d'*A. articulata* et de *S. villosum*, les pourcentages varient entre 12.755 et 29.189 % à une concentration de 0.5 mg/ml.

Les valeurs EC_{50} calculées dans le **tableau 8**, nous ont permis d'évaluer et comparer l'efficacité des extraits. Plus la valeur est petite, plus l'activité antioxydante à piéger les radicaux libres formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique est élevée.

Tableau 8 : Concentrations EC_{50} des extraits d'*A. articulata* et de *S. villosum* par le système β -carotène/ acide linoléique.

Extraits de plantes	EC_{50} (mg/ml)		
	<i>A. articulata</i>		<i>S. villosum</i>
	Rameaux	Racines	Partie fleurie
Extrait brut méthanolique	0.533± 0.009	0.226 ± 0.001	2.240 ± 0.076
Fraction d'acétate d'éthyle	0.492± 0.009	0.574 ± 0.009	0.460 ± 0.035
Fraction butanolique	1.259 ± 0.047	1.880 ± 0.068	0.340 ± 0.011
Tanins	0.506 ± 0.004	0.286 ± 0.011	0.242 ± 0.000
Saponosides	2.001 ± 0.194	0.817± 0.231	0.390 ± 0.020
Alcaloïdes	1.673 ± 0.224		
BHT	0.010 ± 0.001		
Acide gallique	3.216 ± 0.021		

L'extrait brut méthanolique et les tanins des racines d'*A. articulata* et les tanins de la partie fleurie de *S. villosum* constituent des bons piègeurs des radicaux libres dont les concentrations EC_{50} sont égales à 0.226 ± 0.001 , 0.286 ± 0.011 et 0.242 ± 0.000 mg/ml respectivement, suivi par la fraction butanolique (0.34 ± 0.011 mg/ml), les saponosides (0.390 ± 0.020 mg/ml) et la fraction acétate d'éthyle (0.46 ± 0.035) de *S. villosum*.

Concernant la fraction acétate d'éthyle, les tanins, l'extrait brut méthanolique des rameaux et la fraction acétate d'éthyle des racines d'*A. articulata*, les EC_{50} obtenues sont de l'ordre de 0.492 ± 0.009 , 0.506 ± 0.004 , 0.533 ± 0.009 et 0.574 ± 0.009 mg/ml respectivement. Les autres extraits restants, leurs valeurs varient entre 0.817 ± 0.231 et 2.24 ± 0.076 mg/ml. Tous ces extraits testés, leurs EC_{50} sont supérieures à la valeur du BHT (0.010 ± 0.001), mais inférieures à la concentration de l'acide gallique (3.216 ± 0.021 mg/ml).

Chapitre 3 : Analyse des composés actifs des extraits bruts méthanoliques des racines d'*A. articulata* et de la partie fleurie de *S. villosum*

1. Séparations chromatographiques

1.1 *Sedum villosum*

Après la séparation sur colonne de l'extrait méthanolique de la partie fleurie, les 24 fractions obtenues ont été testées pour leur capacité à piéger le radical DPPH. Les pourcentages d'inhibition les plus élevés de l'ordre de 94.29 et 94.849 %, respectivement ont été enregistrés dans les fractions **F13** (42.633 mg/ml) et **F16** (42.433 mg/ml). Ces deux fractions ont été analysées par la chromatographie sur couche mince préparatives sur gel de silice (plaques en verre 20 x 20 cm) en utilisant le système suivant : Acétate d'éthyle/Acide formique/ Eau (65/15/20). Huit et dix sous-fractions ont été recueillies des deux fractions **F13** et **F16**, respectivement. Les composés obtenus ont été encore évalués pour leur pouvoir antiradicalaire contre le DPPH (**Tableau 9** et **Figure 34**). Les sous-fractions **F13.7** (16 mg/ml ; 12.74%), **F13.8** (17.6 mg/ml ; 68.461%) et **F16.8** (14mg/ml ; 77.029%) ont été purifiées sur micro colonne Sephadex LH 20 pour l'analyse.

Tableau 9 : La mise en évidence des composés par CCM préparative de la fraction **F13** de *S. villosum* et leurs pourcentages d'inhibition.

Sous-fractions	Concentrations (mg/ml)	Pourcentages d'inhibition (%)	Couleur sous UV (365 nm)	Rf	Mise en évidence des composés phénoliques (Markham, 1982)
F13.1	18.6	8.533	Jaune	0.15	Flavonol
F13.2	40	20.411	Mauve foncé	0.25	/
F13.3	437	8.236	Bleu	0.33	Acide phénol
F13.4	516	9.46	Marron clair	0.40	/
F13.5	/	/	Marron foncé	0.46	/
F13.6	/	/	Bleu	0.66	Acide phénol
F13.7	16	12.74	Jaune marron	0.82	Flavonol
F13.8	17.6	68.461	bleu Violet	0.94	Flavone

(/) : Composés non identifiés.

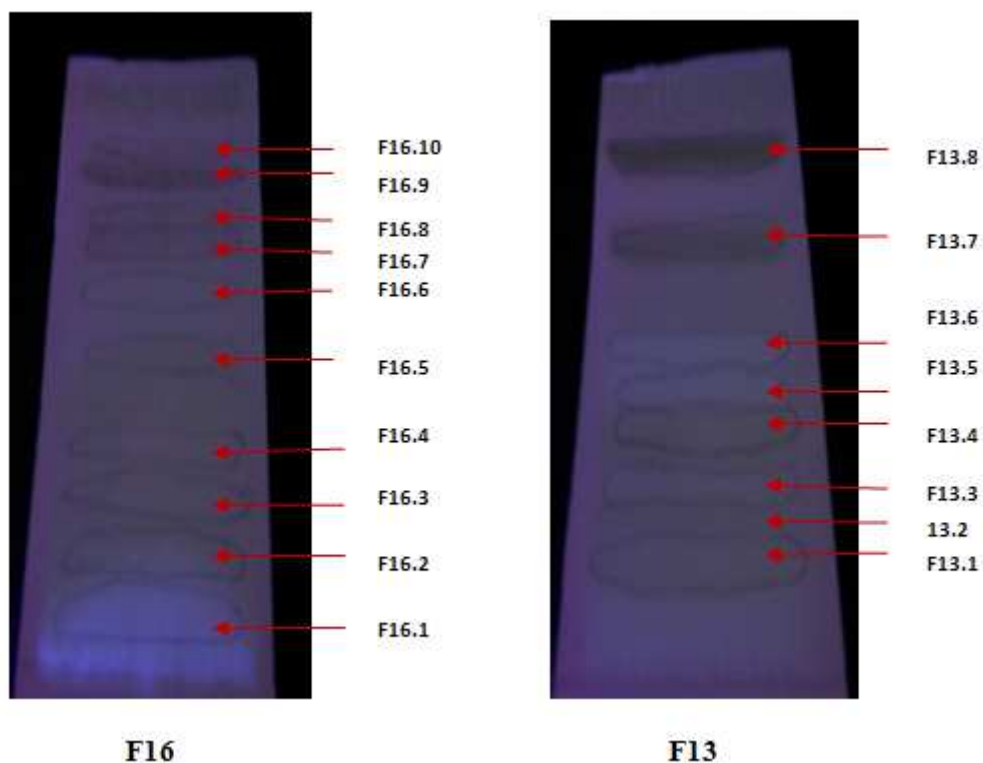


Figure 34 : Photo de la séparation par CCM sur gel de silice des fractions **F13** et **F16** de *S. villosum*.

1.2 *Anabasis articulata*

Le fractionnement de l'extrait méthanolique des racines d'*A. articulata* a donné 17 fractions. Parmi ces dernières, la fraction **F12** (30.8 mg/ml) a été sélectionnée selon sa forte activité antiradicalaire à neutraliser le radical DPPH (95.29%). Cette fraction a été analysée par CCM préparative de gel de silice en utilisant le système : Chloroforme/ Méthanol/ Eau/ Acide acétique (100/15/0.5/0.5). Douze sous fractions ont été récupérées dans le méthanol et testées pour leur pouvoir antiradicalaire par le test du DPPH. La sous fraction choisie **F12.2** (8 mg/ml, 74.93%) a subi une autre chromatographie préparative sur gel de silice éluee avec le système d'Acétate d'éthyle/ Acide acétique/ Eau (65/15/20). Trois composés ont été séparés et purifiés **F12.2a** (7 mg/ml), **F12.2b** (6 mg/ml), **F12.2c** (4 mg/ml) (**Tableaux 10** et **11** ; **Figure 35**).

Tableau 10 : La mise en évidence des composés par CCM préparative de la fraction **F12** d'*A. articulata* et leurs pourcentages d'inhibition.

Composés	Concentrations (mg/ml)	Pourcentages d'inhibition (%)	Couleur sous UV (365 nm)	Rf	Mise en évidences des composés phénoliques (Markham, 1982)
F12.1	12.4	82.880	Marron clair	0.05	/
F12.2	8	74.93	Mauve	0.10	Flavone
F12.3	1.8	51.72	Bleu clair	0.20	Acide phénol
F12.4	6	58.99	Marron foncé	0.25	/
F12.5	6.6	79.882	Jaune	0.38	Flavonol
F12.6	3	73.591	Jaune	0.47	Flavonol
F12.7	2.8	32.204	Jaune verte	0.56	Aurone
F12.8	1.4	56.444	Mauve foncé	0.62	Flavanol
F12.9	3.2	67.393	Marron clair	0.65	/
F12.10	2.1	20.813	Bleu	0.69	Acide phénol
F12.11	6.6	27.667	Jaune marron	0.80	Flavonol
F12.12	3.2	24.267	Jaune verte	0.86	Aurone

(/) : Composés non identifiés.

Tableau 11 : Molécules obtenues par CCM préparative de la sous fraction **F12.2** d'*A. articulata*.

Sous- Fraction		Couleur sous UV (365 nm)	Rf
F12.2	F12.2a	Mauve	0.30
	F12.2b	Bleu	0.48
	F12.2c	Mauve	0.60

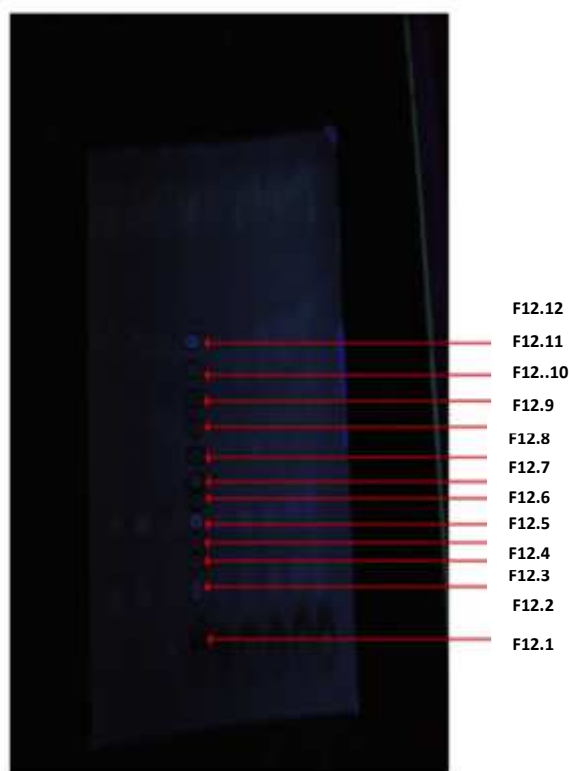


Figure 35 :Photo de la séparation par CCM sur gel de silice des composés de la fraction **F12** d'*A. articulata*.

2. Analyse des composés par CLHP, spectrophotométrie UV-Visible et CLUHP/SM des racines d'*A. articulata* et de la partie fleurie de *S. villosum*

2.1. Analyse par CLHP et spectrophotométrie UV-Visible

Les échantillons suivants : **F13.7**, **F13.8**, **F12.2a**, **F12.2b** et **F12.2c** sont analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et la spectrophotométrie UV-Visible.

Un essai d'identification a été établi en se basant sur les temps de rétention et les spectres UV-visible des témoins de composés phénoliques: catéchine, quercétine, pyrocatechol, phloroglucinol, hydroquinone, acide férulique, acide vanillique, acide tannique, acide gallique et acide p -coumarique (**Annexes 32 et 33 ; Tableau 12**).

Tableau 12 : Essai d'identification des composés phénoliques.

Échantillons et témoins	Temps de rétention (min)	Longueur d'onde (nm)		Classes phénoliques (Markham, 1982 ; Harborne , 1992 ; Xu et al., 2008)
		Bande I	Bande II	
F12.2a (<i>A. articulata</i>)	4.617	224	204	Acides phénols
F12.2b (<i>A. articulata</i>)	3.250	225	202	
F12.2c (<i>A. articulata</i>)	3.317	225	201	
F13.7 (<i>S. villosum</i>)	6.556	344	266	Favonol
F13.8 (<i>S. villosum</i>)	7.451	312	266	Flavone
Catéchine	4.937	/	280	Tanin condensé
Quercétine	30.437	373	256	Flavonol
Pyrocatechol	3.400	288	278	Phénol simple
Phloroglucinol	3.583	273	268	
Hydroquinone	3.267	/	294	
Acide férulique	3.150	320	296	Acide hydroxycinnamique
Acide ρ -coumarique	3.117	310	293	
Acide vanillique	3.183	290	257	Acide hydroxybenzoïque
Acide gallique	2.700	/	272	
Acide tannique	3.017	/	278	Tanin hydrolysable

Ces composés phénoliques utilisés comme témoins n'ont pas été identifiés dans les molécules **F12.2a**, **F12.2b** et **F12.2c** de racines d'*A. articulata* et les sous-fractions **F13.7** et **F13.8** de la partie fleurie de *S. villosum*. Mais les résultats de l'analyse des spectres UV-Visible révèlent que les molécules **F12.2a**, **F12.2b** et **F12.2c** sont probablement de type acide phénol d'après **Harborne (1992)**, et **Xu et al (2008)**. La sous fraction **F13.7** est de type flavonol, la sous fraction **F13.8** est de type flavone d'après **Markham (1982)** (**Figures 36 et 37 ; Tableau 12**).

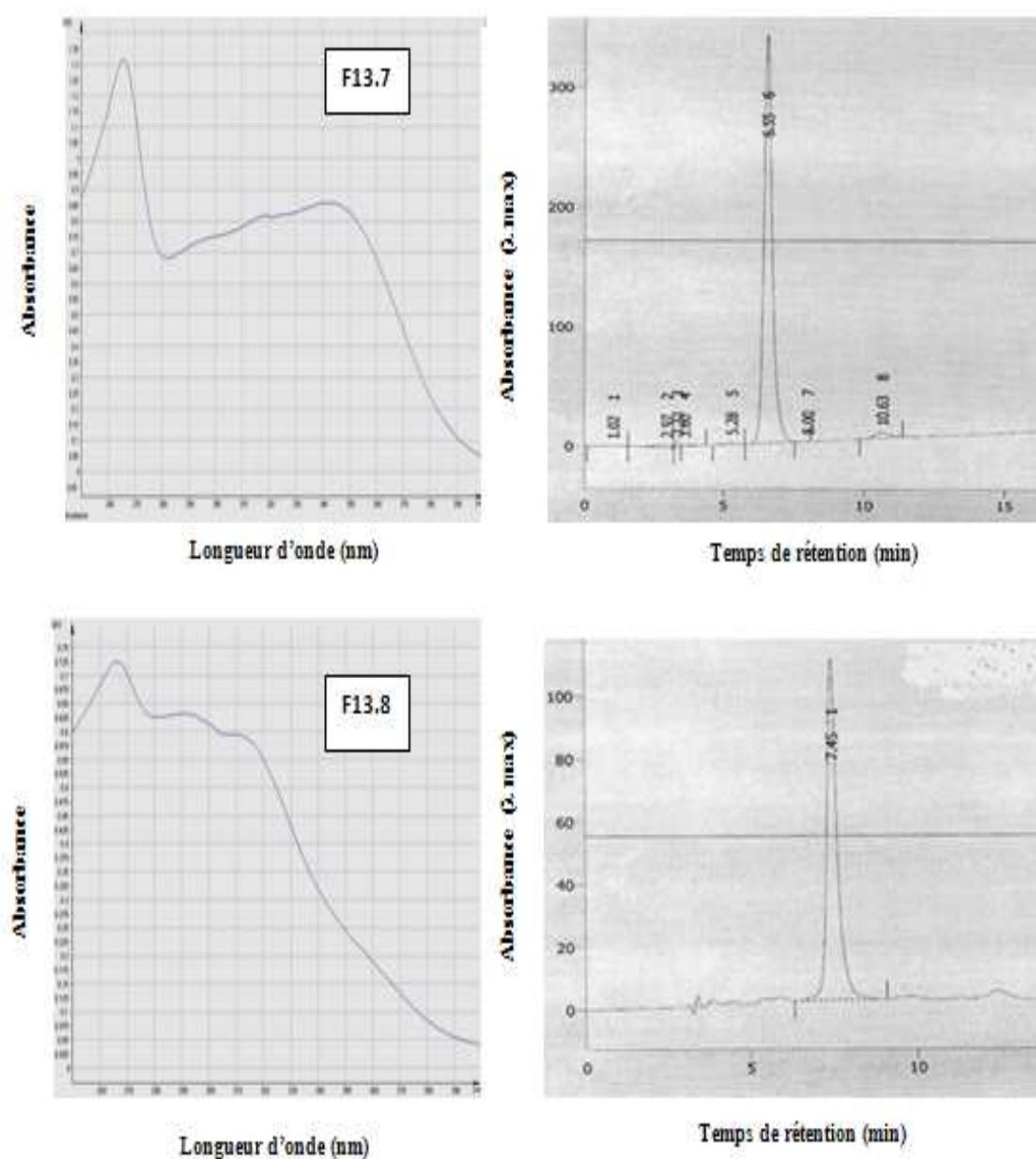


Figure 36 : Spectres et chromatogrammes des sous-fractions F13.7, F13.8 de la partie fleurie de *S. villosum*.

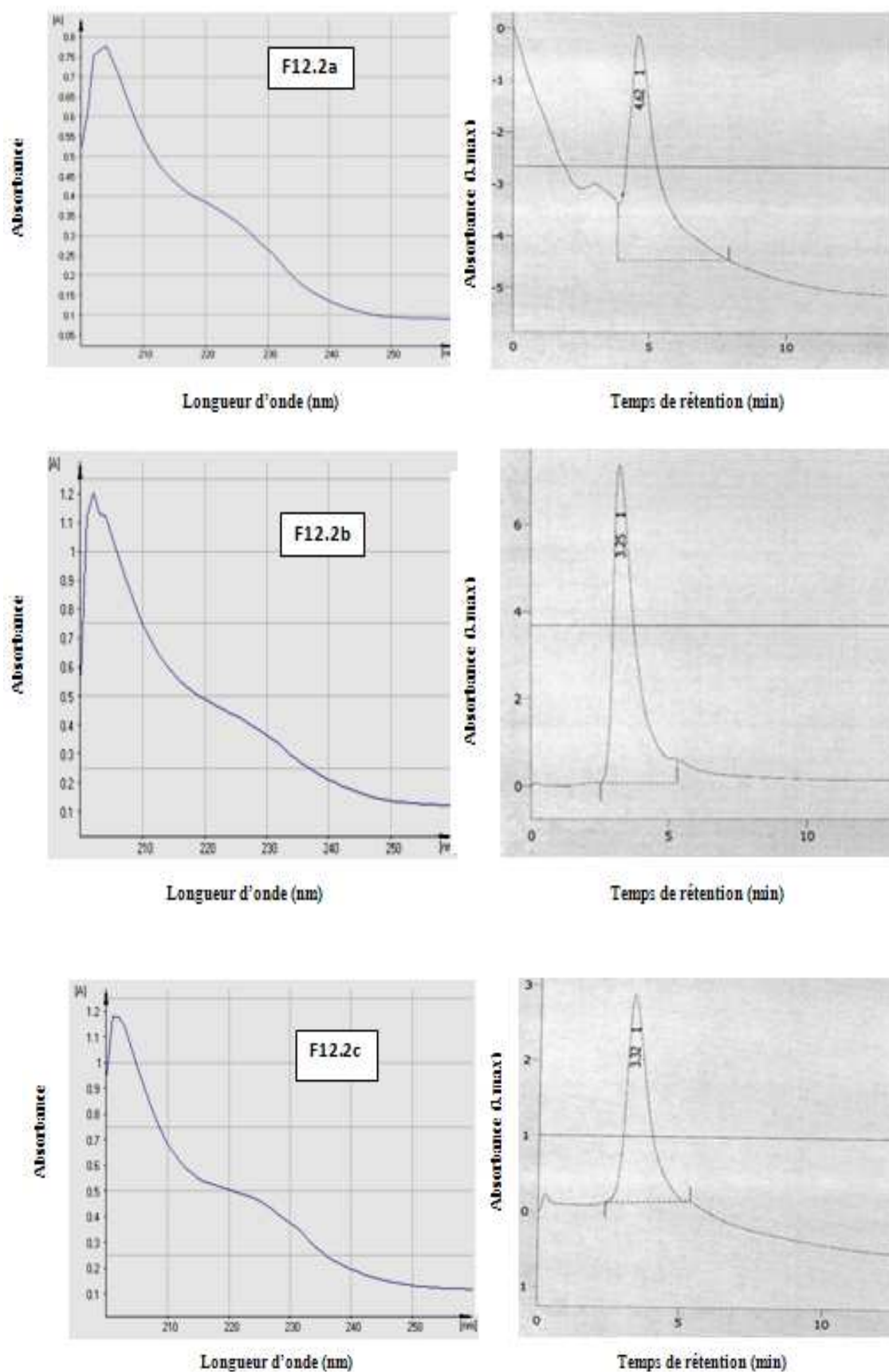


Figure 37 : Spectres et chromatogrammes des molécules **F12.2a**, **F12.2b**, **F12.2c** des racines d'*A. articulata*.

2.2. Analyse de la sous-fraction F16-8 par CLUHP/SM de *S. villosum*

La sous-fraction **F16.8** (77.0291%) obtenue de la partie fleurie de *S. villosum* a été analysée par CLUHP/DAD/SMHR en mode d'ionisation positive et leurs chromatogrammes UV et MS sont présentés sur la **Figure 34**. Deux molécules majoritaires de cette dernière (composé 1 et 2) ont été identifiées.

Les composés 1 et 2 sont élués à 7.275 et 7.544 min et présentent des masses à m/z 757,2196 et 595,1649 respectivement en mode positif $[M+H]^+$ (**Figures 38**). La masse calculée correspond à la formule de $C_{33}H_{40}O_{20}$ pour le composé 1 (**Figure 39**) et de $C_{27}H_{30}O_{15}$ pour le composé 2 (**Figure 40**).

Le composé 1 est identifié comme le 7,3'-dihydroxyflavone-5-*O*-dihexosyl-4'-*O*-désoxyhexose et le composé 2 est le 7, 3'-dihydroxyflavone-5 *O*-hexose 4'-*O*-désoxyhexose. Les positions des sucres étant attribuées sur la base des spectres UV et de la littérature.

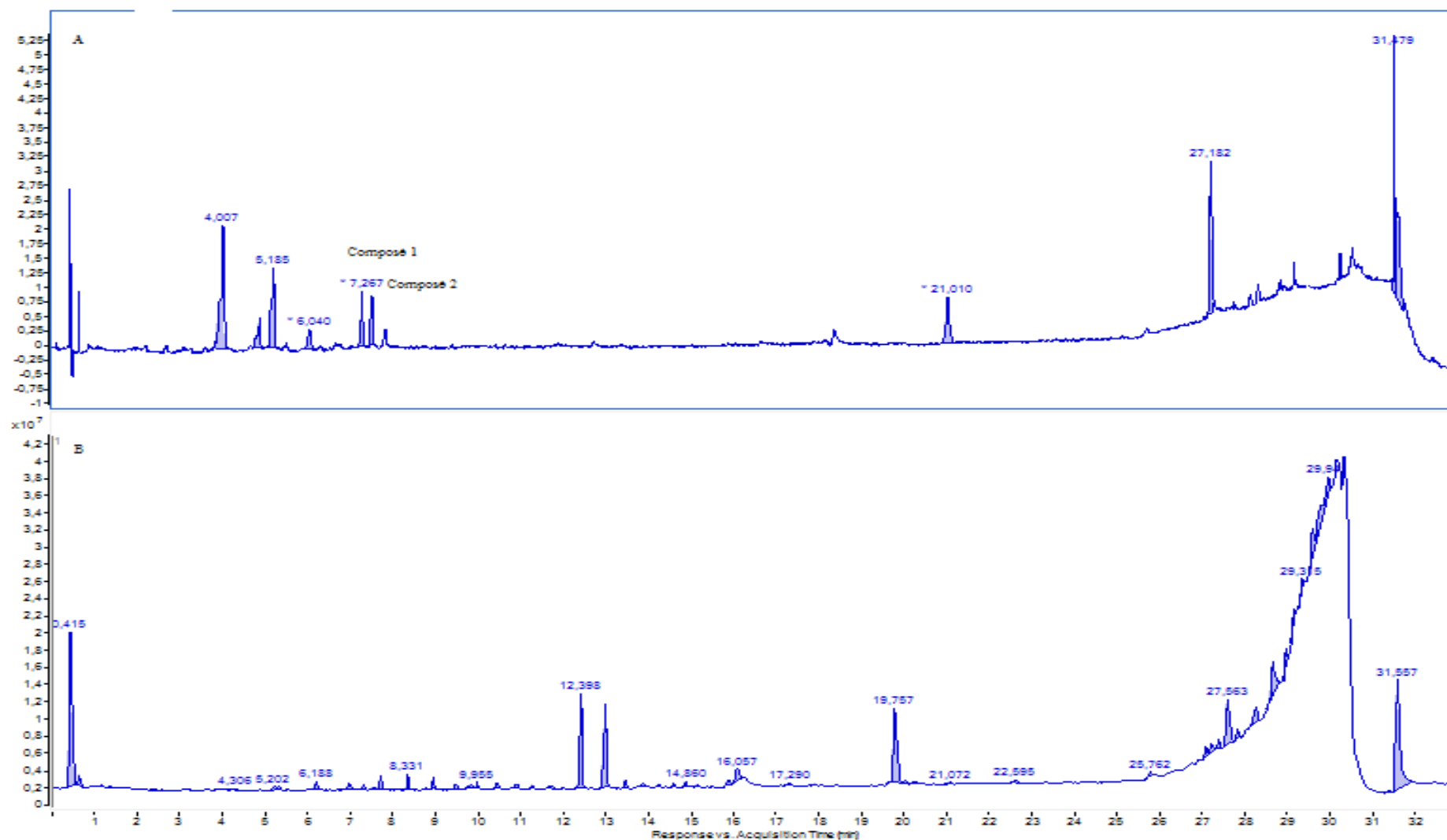


Figure 38 : Chromatogramme de la sous- fraction F16.8 de la partie fleurie de *S. villosum* : UV enregistré à 280 nm (A) et courant d'ions total (TIC) en electrospray mode positif (ESI⁺) (B)

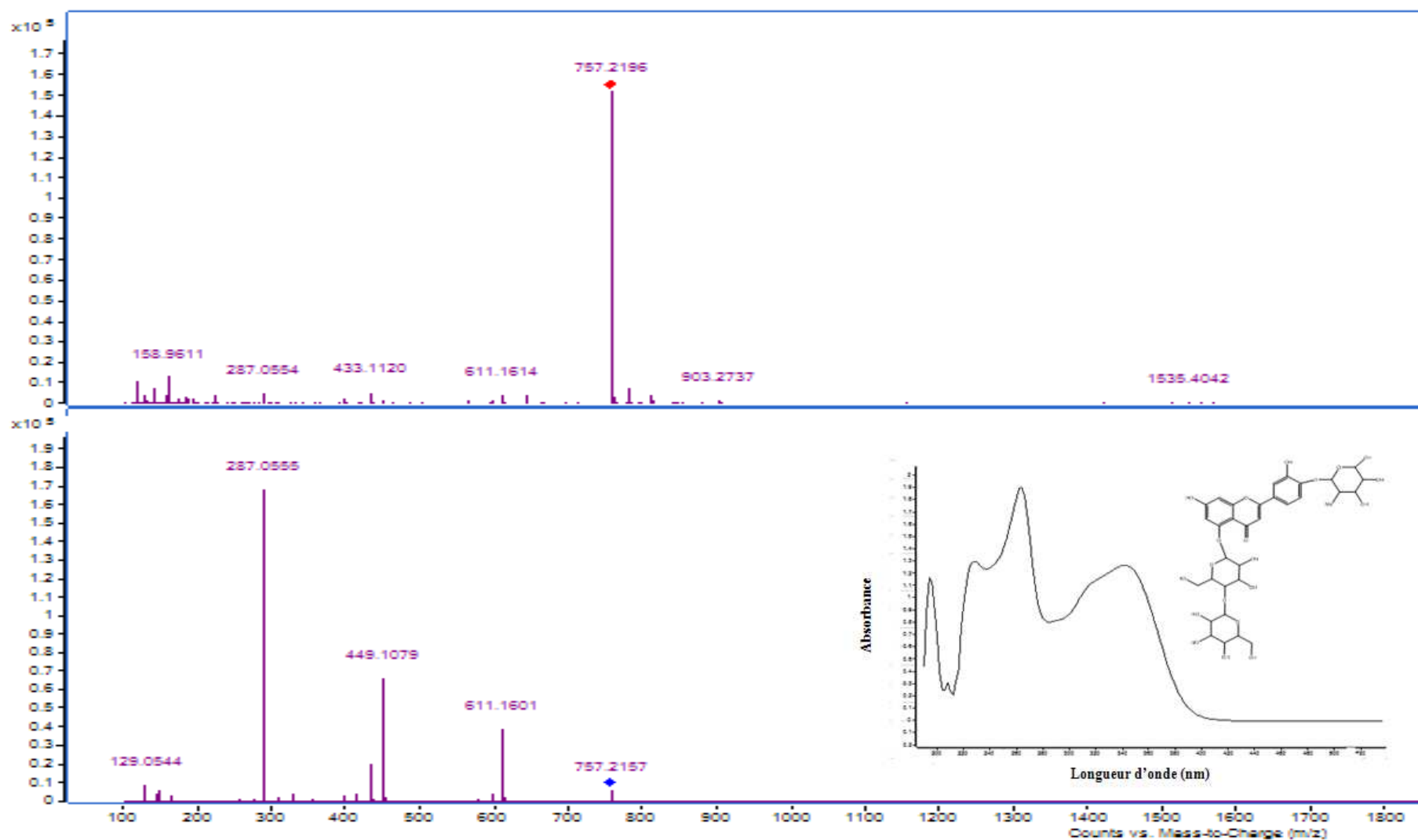


Figure 39 : Spectre UV et spectre de fragmentation en mode positif $[M+H]^+$ du composé 1 (7,3'-dihydroxyflavone-5-O-dihexosyl-4'-O-désoxyhexose).

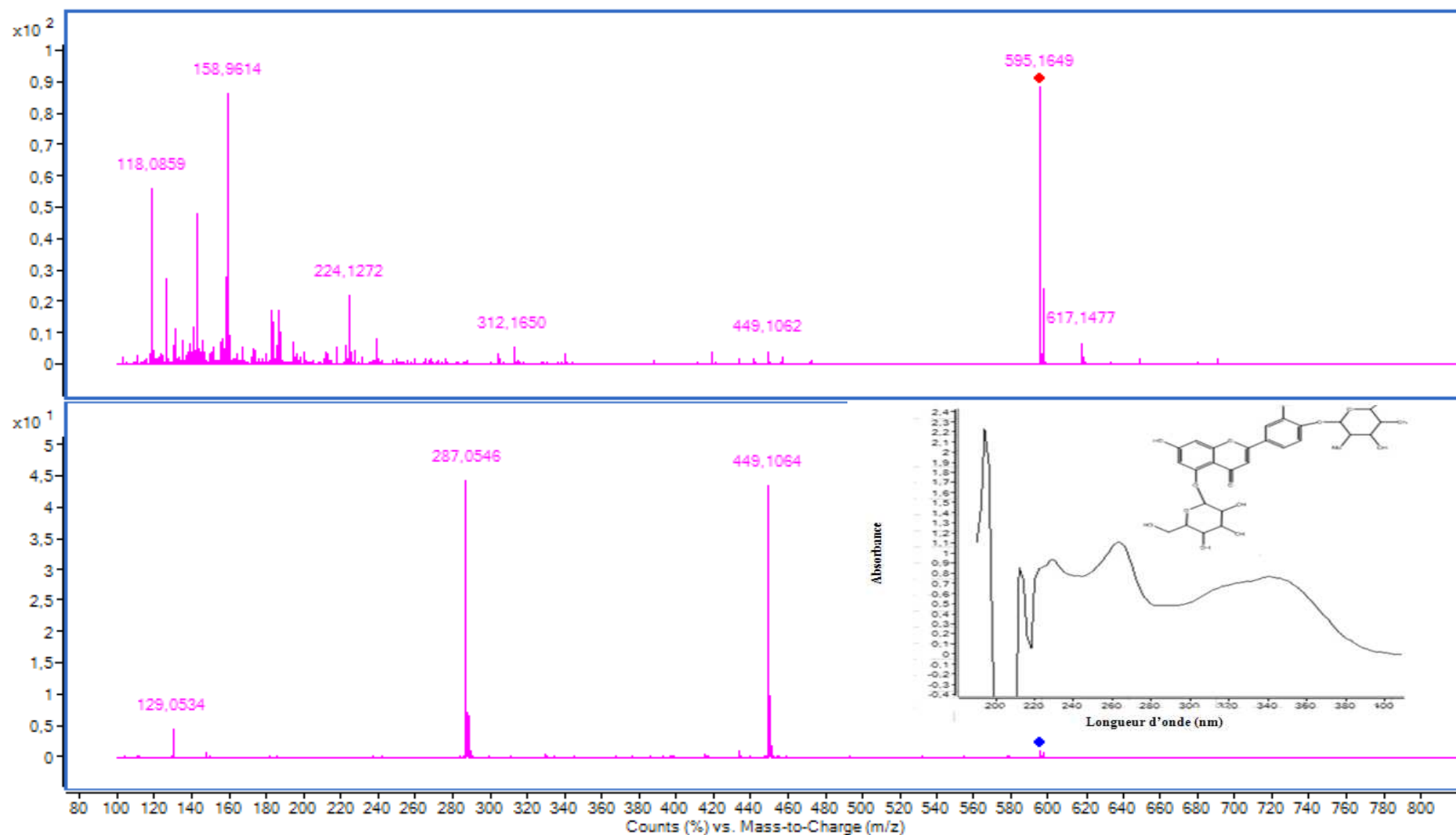


Figure 40 : Spectre UV et spectre de fragmentation en mode positif $[M+H]^+$ du composé 2 (7, 3'-dihydroxyflavone-5 *O*-hexose 4'-*O*-désoxyhexose).



DISCUSSION

A notre propre connaissance, très peu de travaux ont été réalisés sur l'étude phytochimique et l'évaluation des propriétés antioxydantes des plantes choisies. Pour cela, il est nécessaire de comparer nos résultats avec des espèces du même genre. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur la partie fleurie de *S. villosum*, les rameaux et les racines d'*A. articulata* montrent la présence des tanins, des flavonoïdes et des saponosides dans les différentes parties de nos plantes, avec des intensités variables.

Les tanins cathéchiques, les stérols et les triterpènes sont les familles dominantes dans les rameaux d'*A. articulata*. Contrairement aux autres métabolites, les saponosides, les flavonoïdes et les alcaloïdes sont mis aussi en évidence à des quantités faibles. En comparant avec la littérature, les travaux antérieurs trouvés par **Eman et al. (2011)** sur les rameaux d'*A. articulata* d'Égypte ont montré la richesse de la plante en saponosides avec la présence des tanins et des flavonoïdes en quantités considérables. Tandis que les coumarines se trouvent en faible quantité. Concernant d'autres espèces, ces auteurs ont prouvé que les rameaux d'*A. setiferae* sont riches en tanins, ce qui est comparable à nos résultats. D'autres travaux réalisés sur la partie aérienne d'espèce d'Iran d'*A. aphylla* ont dévoilé que cette dernière contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines, des terpénoïdes, des stéroïdes et des stérols (**Shakeri et al., 2012**).

Pour les racines, elles sont très riches en tanins galliques, elles contiennent des quantités considérables en stérols et les triterpènes, en saponosides et en flavonoïdes et l'absence des tanins cathéchiques et des alcaloïdes. Alors que l'amidon, les composés réducteurs et les coumarines sont totalement absents dans les racines et les rameaux d'*A. articulata*.

Concernant la partie fleurie de *S. villosum*, les tanins sont présents avec une intensité importante, alors que les flavonoïdes et les saponosides apparaissent avec des quantités moyennement importantes ainsi la présence en faible quantité d'amidon et l'absence totale des tanins galliques, des composés réducteurs, des alcaloïdes, des coumarine, des stérols et des triterpènes. Nos résultats sont différents à ceux trouvés par **Wolbis (1989)** sur la partie aérienne de l'espèce *S. album*. Ces auteurs ont démontré la présence des alcaloïdes, des coumarines, des sucres, des acides phénoliques, des hydroquinones et des proanthocyanines.

Les extractions des différents métabolites secondaires les plus abondants dans nos plantes nous ont permis de calculer les rendements des extraits bruts méthanoliques, des fractions flavoniques (acétate d'éthyle et butanolique), des tanins, des saponosides et des alcaloïdes.

Les rendements sont élevés dans les extraits bruts méthanoliques des deux plantes, ceci a été prouvé par plusieurs études qui ont suggéré que le méthanol est le solvant le plus utilisé pour extraire les composés phénoliques d'une plante (**Sun et al., 2007** ; **Falleh et al., 2008**).

Notant que les rendements des métabolites secondaires sont d'autant plus élevés dans la partie fleurie de l'espèce *S. villosum* par rapport aux deux autres parties de la plante *A. articulata*. Ces variations dans la répartition des métabolites secondaires peuvent être partiellement dues aux facteurs génotypes qui commandent l'accumulation de ces composés dans la plante, ce qui indique la propriété de l'espèce et par conséquent du genre (**El-Waziry, 2007**).

L'étude quantitative des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux a révélé que l'extrait méthanolique de *S. villosum* possède une teneur plus élevée en phénols totaux de l'ordre de 32.235 ± 1.128 mg EAG/g MS. Cela est en accord avec les travaux menés par **Stanković et al. (2012)** sur la partie aérienne de *S. acre* dont les teneurs en phénols totaux varient entre 18.25 à 181.75 mg EAG/ g MS. Par contre, une étude faite par **Cai et al. (2004)** a montré que la teneur en phénols totaux de la partie aérienne de *S. sarmentosum* est nettement supérieure par rapport à notre plante, elle est de l'ordre de 87 mg EAG/g MS. A l'inverse, **Szewczyk et al. (2012)** ont reporté des teneurs inférieures à nos résultats dans différentes parties de *S. acre* (50.57 µg EAG/g MS) et *S. maximale* (96.68 µg EAG/g MS). Cette variation des teneurs peut être expliquée par la polarité du solvant d'extraction et les parties utilisés des plantes.

La concentration des flavonoïdes (0.531 ± 0.371 mg EC/ g MS) de *S. villosum* trouvée dans notre étude est faible, en comparant avec certains auteurs (**Stanković et al., 2012**) qui ont prouvé une quantité de 8.42 mg ERU/g MS dans l'extrait méthanolique de l'espèce *S. acre*.

Pour *A. articulata*, la teneur en phénols totaux observée dans l'extrait brut méthanolique des rameaux de l'ordre de 25.480 ± 3.829 mg EAG/g MS est importante par rapport à celle trouvée dans les racines (19.855 ± 7.518 mg EAG/g MS). Ces valeurs restent nettement supérieures à celles reportées par **Djeridane et al. (2013)** sur la partie aérienne d'*A. articulata* (1.60 mg EAG/g MS) et inférieures par rapport à l'étude d'**EL-haci et al. (2013)** sur la partie aérienne de l'espèce *A. aretioides* (101.85 EAG/g MS). En ce qui concerne les flavonoïdes, les teneurs obtenues dans les rameaux (3.081 ± 0.205 mg EC/g MS) et les racines (3.800 ± 0.062 mg EC/g MS) sont nettement inférieures par rapport à celle de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*A. aretioides* (46.68 mg EC /g MS), reportée par **EL-haci et al. (2013)**.

A propos des flavonols totaux, la teneur enregistrée dans les rameaux d'*A. articulata* (1 ± 0.036 mg EQ/g MS) est presque le double que celle des racines à raison de 0.570 ± 0.059 mg EQ/g MS. Ces valeurs sont supérieures à 1 mg EQ/100g MS dans la partie aérienne de *A. oropediorum*, reportée par **Bouaziz et al. (2009)**. La partie fleurie de *S. villosum* apparaît riche en tanins condensés (7.424 ± 0.882 mg EC/ g MS) et en flavonols totaux (6.198 ± 0.127 mg EQ/g MS) par rapport aux deux autres parties de la plante *A. articulata*. Pour les caroténoïdes, les teneurs enregistrées sont rapprochées dans les différentes parties de nos plantes.

Cette variation des teneurs en composés phénoliques peut être expliquée par l'origine de la plante et la méthode d'extraction (**Djeridane et al., 2013**), par la polarité des solvants d'extractions (**Gao et Liu, 2005**). Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions du stockage) (**Podsedek, 2007 ; Falleh et al., 2008**).

D'après nos connaissances, il n'y a pas eu des travaux rapportant l'activité antioxydante de la plante *S. villosum*, mais y a eu peu d'études sur la plante *A. articulata* (**Benhammou et al., 2013 ; Hamdoon et al., 2013**).

Les propriétés antioxydantes des extraits de plantes doivent être évaluées dans une variété de systèmes pour assurer l'efficacité de molécules antioxydants car ces propriétés dépendent largement de la composition des extraits et des conditions du système de test (**Ozsoy et al., 2008**). Elles sont influencées par de nombreux facteurs, qui ne peuvent être entièrement décrits avec une seule méthode. Par conséquent, il est nécessaire d'effectuer plus d'un type de modèle et de prendre en compte les différents mécanismes d'action des antioxydants (**Szewczyk et al., 2012**). Pour cette raison, nous avons combiné quatre techniques complémentaires sur la base de deux mécanismes : le transfert d'atomes d'hydrogène et le transfert d'électrons unique.

En effet, les extraits bruts méthanoliques de la partie fleurie de *S. villosum* (CAT= 9.846 ± 0.133 mg EAA/g MS) et des racines d'*A. articulata* (CAT= 9.996 ± 0.037 mg EAA/g MS) révèlent des capacités antioxydantes totales élevées par rapport aux autres extraits. Ces capacités pourraient être attribuées à la présence des composés phénoliques (**Falleh et al., 2008**). Les tanins et les flavonoïdes présentent aussi une bonne activité réductrice pour les deux espèces. Ce résultat affirme que beaucoup de flavonoïdes et de polyphénols contribuent

de manière significative à l'activité antioxydante totale de nombreux fruits comme le raisin rouge (Negro *et al.*, 2003), les légumes (Luo *et al.*, 2002) et les plantes médicinales (Bourgou *et al.*, 2008). En outre, la capacité antioxydante dépend non seulement de la teneur en composés phénoliques, aussi bien la composition chimique, le nombre total de groupes hydroxyles et leur position sur le noyau aromatique (Frankel *et al.*, 1995). Les résultats de l'activité réductrice des différents extraits de chaque partie des plantes étudiées nous ont permis de conclure que les extraits bruts méthanoliques de la partie fleurie de *S. villosum* et d'*A. articulata* présentent les meilleures activités antioxydantes par rapport à tous les extraits étudiés. En plus, tous les métabolites secondaires des racines ont une capacité antioxydante totale supérieure à celle des rameaux, à l'exception de la fraction d'acétate d'éthyle dans les deux parties de la plante, qui présentait le même effet réducteur.

Les résultats d'activité réductrice montrent que la fraction butanolique de la partie fleurie de *S. villosum* ($EC_{50} = 0.332 \pm 0.000$ mg/ml) et l'extrait brut méthanolique des racines d'*A. articulata* ($EC_{50} = 0.364 \pm 0.001$ mg/ml) présentent le pouvoir réducteur du fer le plus intéressant. Les variations de l'activité réductrice sont en général, directement liées aux taux des composés phénoliques présents dans la plante récoltée (Yeşilyurt *et al.*, 2008). Cette activité est dû probablement à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Siddhuraju et Becker, 2007).

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée par le test du DPPH, celui-ci est souvent utilisé pour la rapidité des résultats comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydantes présentes dans les extraits des végétaux (Yi *et al.*, 2008). En comparant les EC_{50} des différents extraits testés des deux plantes par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué que tous nos extraits ont la capacité de piéger le radical DPPH, sauf pour la fraction acétate d'éthyle des rameaux d'*A. articulata*. Des études faites sur la partie aérienne d'*A. aphylla* par Shakeri *et al.* (2012) ont montré aucune activité antioxydante, ceci ne corrèlent pas avec nos travaux.

Au contraire, Bouaziz *et al.* (2009) ont rapporté que les extraits de la partie aérienne d'*A. oropediorum* trouvée dans le sud de la Tunisie, ont montré une meilleure efficacité antiradicalaire contre le DPPH dans l'extrait brut méthanolique (3.72 ± 0.63 µg/ml). En plus, les extraits des feuilles d'*A. aretioides* présentent aussi des activités plus élevées par rapport à

nos extraits testés avec des concentrations EC_{50} qui varient entre 47.71 et 86.73 $\mu\text{g/ml}$ (**EL-haci et al., 2013**).

Concernant *S. villosum*, l'extrait brut méthanolique possède une activité antioxydante intéressante avec une valeur égale à 0.537 ± 0.007 mg/ml, cette dernière reste supérieure à celle trouvée par **Stankovic et al., 2012** dans l'extrait méthanolique de *S. acre* (0.987 mg/ml) et par **Szewczyk et al. (2011)** dans les extraits méthanoliques des différentes parties de *S. acre* et *S. maximale*. Ce résultat peut être expliqué par la présence des molécules antioxydantes telles que les flavonoïdes et les tanins capables de réduire et décolorer le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (**De Pooter et Schamp, 1986**).

Pour le test du blanchiment du β -carotène, tous les extraits des plantes inhibent le blanchiment du β -carotène à différentes valeurs. Leurs activités restent toujours inférieures aux BHT à raison de 0.01 mg/ml et supérieures à l'acide gallique (3.216 ± 0.021 mg/ml). L'extrait brut méthanolique et les tanins des racines d'*A. articulata* et les tanins de la partie fleurie de *S. villosum* constituent des bons piègeurs des radicaux libres dont les concentrations EC_{50} sont égales à 0.226 ± 0.001 , 0.286 ± 0.011 et 0.242 ± 0.000 mg/ml respectivement. Les autres extraits restants, leurs valeurs varient entre 0.34 ± 0.011 et 2.24 ± 0.076 mg/ml. Ces résultats sont en accord avec la littérature qui suggère que l'activité antioxydante des extraits végétaux dépend de type du solvant d'extraction et de sa polarité (**Kang et al., 2003**).

Vu l'efficacité antioxydante des racines d'*A. articulata* et la partie fleurie de *S. villosum*, la séparation et l'analyse des composés actifs des extraits bruts méthanoliques de ces deux parties ont été envisagées. Après fractionnement de nos extraits par chromatographie sur colonne de gel de silice selon un gradient de solvants organiques, les fractions **F13** (42.633 mg/ml ; 94.29%) et **F16** (42.433 mg/ml ; 94.849 %) de *S. villosum* ont été retenus. Huit et dix sous-fractions ont été recueillies des deux fractions respectivement. Parmi les sous-fractions obtenues, **F13.7** (16 mg/ml ; 12.74%), **F13.8** (17.6 mg/ml ; 68.461%) et **F16.8** (14mg/ml ; 77.029%) ont été choisies pour l'analyse.

Pour *A. articulata*, la fraction **F12** (30.8 mg/ml ; 95.29%) a été séparée et analysée sur plaque CCM préparatives sur gel de silice. Douze sous fractions ont été récupérées, et la sous fraction **F12.2** (8 mg/ml ; 74.93 %) a subi une deuxième CCM préparative sur gel de silice pour donner par la suite trois molécules bien séparées **F12.2a**, **F12.2b** et **F12.2c**.

Les sous fractions **F13.7** et **F13.8** de la partie fleurie de *S. villosum* et les molécules **F12.2a**, **F12.2b** et **F12.2c** des racines d'*A. articulata* ont été purifiées sur micro colonne de séphadex LH-20 et elles sont par la suite analysées sur chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et la spectrophotométrie UV-Visible. Un essai d'identification a été établi en comparant les temps de rétention du chromatogramme et les spectres UV-Visible des témoins de composés phénoliques: la catéchine, la quercétine, le pyrocatechol, le phloroglucinol, l'hydroquinone, l'acide férulique, l'acide vanillique, l'acide tannique, l'acide gallique et l'acide p-coumarique.

La comparaison des spectres UV-Visible révèle que les molécules **F12.2a**, **F12.2b** et **F12.2c** d'*A. articulata* sont probablement de type acides phénols (**Xu et al., 2008**), **F13.7** est de type flavonol et **F13.8** est de type flavone pour *S. villosum* (**Markham, 1982**). L'analyse par CLUHP/SM nous a permis d'identifier deux composés majoritaires de type glycosyl de flavones dans la sous-fraction **F16.8** de la partie fleurie *S.villosum* dont le composé **1** est identifié comme le 7,3'-dihydroxyflavone-5-O-dihexosyl-4'-O-désoxyhexose et le composé **2** est le 7, 3'-dihydroxyflavone-5-O-hexose 4'-O-désoxyhexose.

Aucun travail n'a été réalisé sur l'identification des composés phénoliques de la partie fleurie de *S. villosum* et les racines d'*A. articulata*. Certains auteurs ont identifié une saponine β -sitoglucoside à activité antihyperglycémiant dans les rameaux d'*A. articulata* (**Kambouche et al., 2011**), un dérivé de saponine triterpénique oléanane (sophradiol 3-O- α -L-(1) C4-rhamnopyranosyl- (1" \rightarrow 4") -O - β -D -(4) C1-galactopyranosyl (1" \rightarrow 6')-O- β -D-(4)C1-glucopyranoside) à effet anti-inflammatoire chez l'espèce *A. setifera* (**Abdou et al., 2013**) et six composés phénoliques en tant qu'agents antimicrobiens [1 -(2 -hydroxy-4,6-diméthoxy-phényl)-éthanone, l'ester d'acide cinnamique tétracosyle 3,4-dihydroxy, l'acide 4-hydroxy-3-méthoxy, l'acide 2-hydroxy benzoïque, ester méthylique de l'acide 3,4-dihydroxy cinnamique et l'ester de l'acide benzoïque pentadécane 4-hydroxy] chez l'espèce *A. aphylla* (**Du et al., 2009**).

Pour le genre *Sedum*, 14 composés phénoliques ont été isolés à partir de l'espèce *S. takesimense* Nakai dont trois composés ont été identifiés comme : 1-(4-hydroxy-phényl)-2-(3,5-dihydroxyphényl)-2-hydroxyéthanone, gossypetin-8- OBD-xylopyranoside et le 2,6-di-O-galloylarbutin (**Thuong et al., 2007**). Les deux dernières molécules possèdent une forte activité antioxydante contre les radicaux superoxydes et DPPH et un puissant inhibiteur significatif sur la peroxydation lipidique. D'autres auteurs ont pu isoler des flavonoïdes type

glycosides de kaempférol de *S. dendroideum* tel que kaempferol 3-*O*- β -glucopyranoside-7-*O*- α -rhamnopyranoside, kaempferol 3-*O*-neohesperidoside-7-*O*- α -rhamnopyranoside et kaempferitrin (**De Melo et al., 2009**) et trois nouveaux glycosides de flavonols à partir des parties aériennes de *S. album* (isorhamnétine 3-rhamnoside-7'-glucoside, isorhamnétine 3-rhamnoside-7-sophorosides et isorhamnétine 7-sophorosides) **Wolbis (1989)**.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants interviennent de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

Dans ce contexte, nous sommes intéressés à l'étude phytochimique, l'évaluation du pouvoir antioxydant de différents extraits de plantes *Sedum villosum* (partie fleurie) et *Anabasis articulata* (parties rameaux et racines), et la séparation de leurs extraits bruts méthanoliques et l'analyse des composés actifs.

Les résultats obtenus nous ont montré que le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de certains métabolites secondaires tel que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides dans les deux plantes avec des intensités variables ainsi que la présence d'amidon que dans la partie fleurie de *S. villosum*, les stérols et triterpènes dans les deux parties d'*A. articulata* et la présence d'alcaloïdes que dans la partie rameaux de cette dernière.

L'extraction de ces métabolites a permis d'obtenir des rendements considérables dans les extraits bruts méthanoliques des deux plantes de l'ordre de 5.47 % dans les rameaux et 4 % dans les racines d'*A. articulata* et 5.17 % dans la partie fleurie de *S. villosum*. Le rendement des alcaloïdes des rameaux d'*A. articulata* (5.95 %) est le plus élevé par rapport aux composés phénoliques pour les deux plantes. Nous constatons que les rendements de la plus part des métabolites secondaires sont d'autant plus élevés dans la partie fleurie de l'espèce *S. villosum* par rapport aux deux autres parties de la plante *A. articulata*.

La quantification des teneurs des composés phénoliques et des pigments liposolubles par des méthodes spectrophotométriques, nous ont révélé que l'extrait brut de *S. villosum* enregistre la teneur en phénols totaux la plus élevée de l'ordre de 32.235 ± 1.128 mg EAG/g MS suivie par l'extrait brut méthanolique des rameaux (25.480 ± 3.829 mg EAG/g MS) et celui des racines (19.855 ± 7.518 mg EAG/g MS) d'*A. articulata*. Notant aussi que la partie fleurie de *S. villosum* montre sa richesse en tanins condensés et en flavonols dont les teneurs sont de l'ordre de 7.424 ± 0.882 mg EC/ g MS et 6.198 ± 0.127 mg EQ/g MS, respectivement. Pour les flavonoïdes, les teneurs enregistrées dans les rameaux et les racines sont comparables et égales à 3.081 ± 0.205 et 3.800 ± 0.062 mg EC/g de MS, respectivement, elles sont très

élevées par rapport à la partie fleurie de *S. villosum*. La teneur en caroténoïdes totaux est presque comparable pour les deux espèces.

L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* des métabolites secondaires de ces plantes par les quatre techniques complémentaires, nous amène à avancer les conclusions suivantes :

- La capacité antioxydante totale (CAT) est plus importante dans les extraits bruts méthanoliques de la partie fleurie *S. villosum*, des rameaux et des racines d'*A. articulata* de l'ordre de 9.846 ± 0.133 , 9.760 ± 0.128 et 9.996 ± 0.037 mg EAA/g MS, respectivement. Les tanins révèlent aussi des capacités antioxydantes moins excellentes à raison de 6.254 ± 0.035 pour *Sedum*, 2.498 ± 0.000 et 1.451 ± 0.042 mg EAA/g MS pour les racines et les rameaux d'*Anabasis*. Pour les autres extraits, la gamme de cette capacité est limitée entre 0.58 ± 0.009 et 2.855 ± 0.007 mg EAA/g MS.
- Tous les extraits ont révélé des réponses inhibitrices à différents niveaux à piéger le radical DPPH (sauf pour la fraction acétate d'éthyle des rameaux d'*A. articulata*), à réduire le fer et à protéger l'oxydation du β -carotène.
- La fraction butanolique des flavonoïdes de la partie fleurie de *S. villosum* ($EC_{50} = 0.332 \pm 0.000$ mg/ml) et l'extrait brut méthanolique des racines d'*A. articulata* ($EC_{50} = 0.364 \pm 0.001$ mg/ml) présentent les pouvoirs réducteurs de l'ion Fe^{+3} les plus intéressants.
- L'extrait brut méthanolique de la plante *S. villosum* ($EC_{50} = 0.537 \pm 0.007$ mg/ml) et les flavonoïdes des racines d'*A. articulata* ($EC_{50} = 0.442 \pm 0.011$ mg/ml) ont montré une forte activité antiradicalaire contre le radical DPPH par rapport aux autres extraits de plantes.
- Dans le test du blanchiment de β -carotène, l'extrait brut méthanolique, les tanins des racines d'*A. articulata*, et les tanins de la partie fleurie de *S. villosum* constituent des bons piègeurs des radicaux libres en empêchant l'oxydation du β -carotène avec des concentrations EC_{50} égales à 0.226 ± 0.001 , 0.286 ± 0.011 et 0.242 ± 0.000 mg/ml, respectivement. Cette propriété de tous les extraits des plantes reste la meilleure par rapport à l'acide gallique qui est utilisé comme contrôle.

- Les extraits des racines d'*A. articulata* sont actifs par rapport aux extraits des rameaux dans la méthode de la réduction de fer, la technique du piégeage du radical libre DPPH et dans le test du blanchiment de β -carotène.

Les résultats obtenus de la séparation des composés phénoliques des fractions actives des extraits bruts méthanoliques de racines d'*A. articulata* et de la partie fleurie de *S. villosum* par chromatographie sur colonne ouverte (CC), nous ont révélé 24 fractions pour *S. villosum* et 17 fractions pour *A. articulata*.

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) et la spectrophotométrie UV-Visible des fractions actives révèlent que les molécules F12.2a, F12.2b et F12.2c des racines d'*A. articulata* sont de type acides phénols, ainsi que les sous-fractions F13.7 et F13.8 de la partie fleurie de *S. villosum* sont de type flavonol, flavone respectivement. L'analyse de la sous-fraction F16.8 de la partie fleurie de *S. villosum* par CLUHP/SM, nous a permis d'identifier deux glycosyl de flavones dont le composé 1 est identifié comme le 7,3'-dihydroxyflavone-5-*O*-dihexosyl-4'-*O*-désoxyhexose et le composé 2 est le 7, 3'-dihydroxyflavone-5-*O*-hexose 4'-*O*-désoxyhexose.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement actives.

De nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Elargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : antitumoral, anticancéreux et anti-inflammatoire.
- L'identification des molécules actives F12.2a, F12.2b, F12.2c, F13.7 et F13.8 par la CLHP/SM et RMN C_{13} .

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abdou, A.M., Abdallah, H.M., Mohamed, M.A., Fawzy, G.A., Abdel-Naim, A.B. (2013). A new anti-inflammatory triterpene saponin isolated from *Anabasis setifera*. Arch Pharm Res, 36 (6):712–722.
- Applebaum, S.W., Marco, S., Birk, Y. (1969). Saponins as possible factors of resistance of legume seeds to the attack of insects. J Agric Food Chem, 17 (3): 618–622.
- Atawodi, S. E. (2005). Antioxidant potential of African plants. Afr J Biotec, 4 (2): 128–133.

B

- Badarinath, A.V., Mallikarjuna RAO, K., Madhu Sudhana Chetty, C., Ramkanth, S., Rajan, T.V.S., Gnanaprakash, K. (2010). A Review on In-vitro Antioxaethods: Comparisions, Correlations and Considerations. Int J PharmTech Res, 2(2) : 1276–1285.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C. and Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arznei. Forschung, 46 (11): 1086–1089.
- Bamforth, C.W. (2000). Perceptions of beer foam. J. Inst. Brew, 106: 229–238.
- Barlow, S.M. (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Food Antioxidants, Ed. B.J.F. Hudson, Elsevier Applied Science, Londres, 253–307.
- Batanouny, K.H. (1999). Wild medicinal plants in Egypt. Academy of Scientific Research and Technology, Egypt and International Union for Conservation (IUCN), Switzerland.
- Bekkara, F., Jay, M., Viricel, M., R et al. (1998). Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. Plant Soil, 203: 27–36.
- Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. CR Chim, 12: 1259–1266.
- Benhammou, N., Ghembaza, N., Benabdelkader, S., Atik-Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T.(2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*. Inter Food Res J, 20(5): 2057–2063.
- Berger, M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances .Nutrition clinique et métabolisme, 20 : 48–53.

- Bhourri, W., Ben Sghaier, M., Kilani, S., Bouhlel, I., Dijoux-Franca, M-G., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L. (2011). Evaluation of antioxidant and antigenotoxic activity of two flavonoids from *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): Kaempferol 3-O-b-isorhamninoside and rhamnocitrin 3-O-b-isorhamninoside. *Food Chem Toxicol*, 49: 1167–1173.
- Bouaziz, M., Dhouib, A., Loukil, S., Boukhris, M. and Sayadi, S. (2009). Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *Afr J Biotech*, 8 (24): 7017–7027.
- Bougatef, A., Hajji, M., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chem*, 114: 1198–1205.
- Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1): 48–55.
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie et plantes médicinales*. 2^{ème} édition, Lavoisier TEC et DOC, Paris, 268–277.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie : Phytochimie et plantes médicinales*. 3^{ème} édition, Lavoisier TEC et DOC, Paris.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie : Phytochimie et plantes médicinales*. 4^{ème} édition, Lavoisier TEC et DOC, Paris.

C

- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*, 74: 2157–2184.
- Camargo, E.M., Romero, M.B., Zamora, D.R., Carrillo, P.C.A., Maldonado, E.V. (2002). Study of the Anti-Inflammatory Effect of *Sedum praealtum* (Siempreviva) in the Rat: Dose-Dependent Response. *Proc. West. Pharmacol. Soc*, 45:129–130.
- Chen, H., Hajia, A., Yang, Z.D., Li, Y.C. (2005). Isolation and structure identification of chemical constituents from *Anabasis brevifolia*. *Yao Xue Xue Bao*, 40 (3) : 248–251.
- Chu, S.C., Hsieh, Y.S., Lin, J.Y. (1992). Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase activity. *J Nat Prod*, 55(2):179–183.
- Chopra, I.C. (1956). *Glossary of Indian medicinal plants*. Council of Scientific & Industrial Research. New Delhi, 219.

- Cillard, J., Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. OCL, 13 (1) : 24–29.

D

- Dangles, O., Stoeckel, C., Wigand, M.C., Brouillard, R. (1992). Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. Tetrahedron Lett, 33: 5227–30.
- De Melo, G. O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Pires, P. A., Ciortes, W.S., Filho, P.G., Muzitano, M.F. (2005). Phytochemical and pharmacological study of *Sedum dendroideum* leaf juice. J Ethnophar, 102: 217–220.
- De Melo, G. O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., de Matos, L. G., KaiserdSonia, C. R., Costa, S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. J Ethnophar, 124:228–232.
- De Pooter, H.L. et Schamp, N. (1986). Comparaison of the volatils composition of some *Calamintha satureja* species. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin, 139–150.
- Desport, J-C., Couratier, P. (2002). Stress oxydant et maladies neurodégénératives Oxydative stress in neurodegenerative diseases. Nutri clini métabo, 16 : 253–259.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci, 65(4) : 337–353.
- Dewick, P.M. (1995). The biosynthesis of shikimate metabolites. Nat Prod Rep, 12: 579–607.
- Djeridane, A., Hamdi, A., Bensania, W., Cheifa, K., Lakhdari, I., Yousfi, M. (2013). The in vitro evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. Diabetes Metab Syndr: Clinical Research & Reviews in press.
- Druyne, T. (1999). Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. Biochem. Syst. Ecol, 27 (4): 445–459.
- Du, H., Wang, Y., Hao, X., Li, C., Peng, Y., Wang, J., Liu, H., Zhou, L. (2009). Antimicrobial phenolic compounds from *Anabasis aphylla* L, Nat Prod Commun, 4 (3): 385–388.
- Dupont, F., Guignard, J.L. (2007). Abrèges botanique systématique moléculaire. 14^{ème} édition révisée, Masson.

E

- Earnsworth, N.R., Berderka, J.P., Moses, M. (1974). Screening of Medicinal plants. J Pharma Sci, 63: 457–459.

- El-Haci, I-A., Atik Bekkara, F., Mazari, W., Gherib, M. (2013). Phenolics content and antioxidant activity of some organic extracts of endemic medicinal plant *Anabasis aretioides* Coss. & Moq from Algerian Sahara. *Pharma J*, 5 :108–112.
- Elicoh-Middleton, Jr., Chithan, K., Theoharis, C. (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharma Experit herap*, 4(52): 673–751.
- El-Waziry, A.M. (2007). Nutritive value assessment of ensiling or mixing *Acacia* and *Atriplex* using in vitro gas production technique. *Res J Agric Biol Sci*, 3: 605–614.
- Eman, A.A. (2011). Phytochemical screening on different plant parts of some succulent plants of Egypt; Botany Department, National Research Centre, Dokki, Giza, Egypt; *New York Sci J*, 4 (2):15–18.
- Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M., (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites, Review. *Phyto*, 68 : 939– 953.

F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5): 372–379.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108–115.
- Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Teissedre, P.L. (1995). Principal phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J Agrand Food Chem*, 43 (4): 890–894.
- Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J sci food agri*, 80: 1925–1941.
- Frei, B., Higdon, J.V. (2003). Antioxidant activity of tea polyphenols *in vivo*: Evidence from animal studies. *J. Nutr*, 133: 3275–3284.
- Fleeger, J.L., Flipse, I.J. (1964). Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *J Dairy Sci*, 47 (5): 535–538.
- Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., Hirai, Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol*, 48 (4): 251–261.

G

- Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. L'actualité chimique, novembre-décembre 2003.
- Gao M, Liu CZ. (2005). Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. World J Microb Biot, 21: 1461–1463.
- Gerber, M., Berta-Vanrullen, I. (2006). Soja et phytoestrogènes. Arch Pédiatrie, 13 (6): 534–536.
- Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana, E.C.S., Fonseca Maria, J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. AAPS Pharm Sci, 5 (2):5.
- Gómez-Caravaca, A.M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. J Pharma Biome Analy, 41:1220–1234.
- Goodarzi1, M. T., Zal, F., Malakooti, M., Safari, M. R., Sadeghian, S. (2006). Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats RATS .Acta medica Iranica, 44 (1):41– 45.
- Gutteridge, J.M.C (1993). Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Invited review. Free Radic Res Commun, 19:141–58.

H

- Hadj Salem, J., Chevalot, I., Harscoat-Schiavo, Ch., Paris, C., Fick, M., Humeau, C. (2011). Biological activities of flavonoids from *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch and their acylated derivatives .Food Chem, 124:486 – 494.
- Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., Richel, T.L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. J Agric Food Chem, 46: 1887–92.
- Halliwell, B. (1995). Antioxydant characterisation .Methodology and mechanism, 49: 1341–1348.
- Hammiche, V., Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. J Ethnophya, 105 : 358–367.

- Hamdoon, A., Mohammed-Salmin, K., Alshalmani, Awad Gium, A. (2013). Antioxidant and Quantitative Estimation of Phenolic anFlavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. *J Pharma Phyto*, 2 (3): 89–94.
- Harborne, J.B. (1992). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. Thomson science, Ed. Chapman & Hall, London, 45–78.
- Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis..* Thomson science, Ed. Chapman & Hall, London, ISBN: 0-412-57270-2, 302.
- Harborne, J.B., Baxter, H. (1999). *The handbook of natural flavonoids*, 2 Vols. Chichester, UK: John Wiley and Sons.
- Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, .Review. *Phyto*, 68: 2831–2846.
- Haslam, E. (1994). Natural polyphenols (vegatable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod*, 11: 41–66.
- Heller, W., Forkmann, G. (1993).The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB.Secondary Plant Products. *Encyclopedia of plant physiology*. Ed. Chapman & Hall, London, 399 – 425.
- Hertog, MGL. Feskens, EJ. Hollman, PC. Katan, MB. Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *Lancet* ,342 : 1007–11.
- Heimeur, N., Idrissi Hassani, L.M ., Amine Serghini, M. (2004).Les polyphenols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *Reviews in Biol and Biote*, 3(1):37–42.
- Huang, D., OU, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agri and Food Chem*, 53(6): 1841–1856.

I

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

J

- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Ahn, D.U., Lee, S.C. (2004) .Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. J Agric Food Chem, 52(11), 3389–3393.
- Julkunen-Titto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern Willows methods for the analysis of certain phenolics. J Agric Food Chem, 33: 213–217.
- Jung, H-J., Kangb, H-J ., Song, Y -S., Park, E-H ., Kimc, Y-M., Lim, C-J. (2008). Anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-nociceptive activities of *Sedum sarmentosum* extract. J Ethnoph ,116 :138–143.
- Jurd, L., Horowitz, R. (1962). Spectral properties of flavonoid compounds, pergamon press, Oxford, 107–2055.

K

- Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A., Bellahouel, S., Benziane, M. M., Younos, C., Firkioui, M., Bedouhene, S., Soulimani, R. (2009). Étude de l’effet antidiabétique des saponines extraites d’*Anabasis articulata* (Forssk) Moq, plante utilisée traditionnellement en Algérie. Phyto, 7(4): 197–201.
- Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A. S., Bellahouel, S., Younos, C., Soulimani, R. (2011). Activité antihyperglycémiant d’un stérol β -sitoglycoside isolé de la plante *Anabasis articulata* (Forssk) Moq. Phyto, 9: 2–6.
- Kang, T.H., Pae, H.O., Yoo, J.C., Kim, N.Y., Kim, Y.C., Ko, G.I., Chung, H.T. (2000). Antiproliferative effects of alkaloids from *Sedum sarmentosum* on murine and human hepatoma cell lines. J Ethnoph ,70 :177–182.
- Kang, D.G., Yun, C.K., Lee, H.S. (2003). Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. J Ethnoph , 87:231–236.
- Kanoun, K., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N., Atik Bekkara, F. (2014). Comparative studies on antioxidant activities of extracts from the leaf stem and berry of *Myrtus communis* L. Inter Food Rese J, 21(5): 1957–1962.
- Kenny, T.P., Keen, C.L., Schmitz, H.H., Gershwin, M.E. (2007). Immune effects of cocoa procyanidinoligomers on peripheral blood mononuclear cells. Exp Biol Med, 232:293–300.
- Kim, D- W., Son, K-H., Chang, H-W., Bae, K., Kang, S-S., Kim, H- P. (2004). Anti-inflammatory activity of *Sedum kamtschaticum*. J Ethnoph ,90 : 409–414.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. (2011) .A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food biopro proces ,89: 217–233.

- Kumaran, S.P, Kutty, B.C, Chatterji, A., Subrayan, P.P., Mishra, K.P. (2007). Radioprotection against DNA damage by an extract of Indian green mussel, *Perna viridis* (L). *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 26 (4): 263–272.

L

- Luo, X.D., Basile, M.J., Kennelly, E.J. (2002). Polyphenolic antioxidants from the fruits of *Chrysophyllum cainito* L. (star apple). *J Agri Food Chem*, 50 (6): 1379–1382.

M

- Mabile, L., Meilhac, O., Escargueil-Blanc, I., Troly, M., Pieraggi, M.T., Salvayre, R., Nègre-Sa Mabile Ivayre, A.(1997). Mitochondrial function is involved in LDL oxidation mediated by human cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17(8):1575–1582.
- Markham, K.R. (1982). Techniques of flavonoids identification. Academic Press, London.pp, 36-51; 135–189.
- Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann Cardiol Angéiol*, 51 (6): 304–15.
- Medie-Sarie, M., Jasprica, I., Smolcie-Bubalo, A., Mornar, A. (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica chemica acta*, 77 (1–2) 361–366.
- Matkowski, A. (2008). Plant *in vitro* culture for the production of antioxidants .Review. *Biotechnol Adv*, 26(6): 548–560.
- Miller, N.J., Castelluccio, C., Tijburg, L., Rice-Evans, C. (1996).The antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters-radical scavengers or metal chelators. *FEBS Letters*, 392: 40–44.
- Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J., Lema, J. M. (2000). Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *J Agri Food Chem*, 48: 3890–3897.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H., et al. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*, 72(2) : 145–171.

N

- Navarro Garcia, V.M., Gonzalez , A., Fuentes , M., Aviles , M., Rios , M.Y., Zepeda , G., Rojas, M.G.(2003). Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. *J Ethnopharma*, 87: 85–88.
- Negro, C., Tommasi, L., Miceli, A. (2003). Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bior Tech* 87 (1): 41–44.
- Niu, X-F., Liu, X., Pan, L ., Qi ,L. (2011). Oleanene triterpenes from *Sedum lineare* Thunb. *Fitoterapia*, 82 :960–963.
- Norman, I. K (2001). Carotenoids as antioxidants. *Nutr*, 17(10) :815–817.

O

- Olchowik, E., Sciepek, A., Mavlyanov, S., Abdullajanova, N., Zamaraeva, M. (2012). Antioxidant capacities of polyphenols from Sumac (*Rhus typhina* L.) leaves in protection of erythrocytes against oxidative damage. *Bio-med Prev Nutr*, 2 :99–105.
- Ong, K.C., Khoo, H.E.(1997). Biological effects of myricetin. *Gen Pharmacol*, 29(2):121–126.
- Ong, K.C., Khoo, H.E., (2000). Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sci* , 67(14) : 1695–1705.
- Oszmianski ,J., Wojdylo, A., Lamer-Zarawska, E., Swiader, K.(2007). Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chem*, 100 (2): 579–583.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr*, 44: 307–315.
- Ozenda, P. (2004). Flore et végétation du Sahara. 3^{ème} édition, CNRS Editions, Paris.
- Ozsoy , N., Can , A. ., Yanardag , R., Akev, N.(2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chem*, 110 :571–583.

P

- Paris, R., Moyse, H. (1969). Précis de matière médicinale (Tome 3). Paris: Masson et Cie.
- Pawlowska, A.M., De-Leo, M., Braca, A.(2006). Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J Agric Food Chem*, 54 (26): 10234–38.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*, 63 (7) :1035–1042.

- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, 269: 337–341.
- Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables. A review. *LWT-Food sci Tech*, 40:1–11.

Q

- Quezel, P., Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, Ed. CNRS, Paris.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.

R

- Rajnerayanama, K., Reddy, M., Charluvadi, M.R., Krishna, D.R. (2001). Bioflavonoids: classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. *Indian J Pharma*, 33: 2–16.
- Rizk, A.M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*, 52(2) : 35–42.
- Richter, G. (1993). Métabolisme des végétaux. *Physiologie et Biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes, 322–323.
- Roberts, M.F., Wink. M. (1999). Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. *Book Reviews / Phytochem*, 52 : 1177–1180.
- Ruggiero, P., Tombola, F., Rossi, G., Pancotto, L., Lauretti, L., Del- Giudice, G., Zoratti, M. (2006). Polyphenols reduce gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection or Vac A toxin administration in mice. *Antimicrob. Agents Chemother*, 50 (7): 2550–2552.

S

- Salvayre, R., Auge, N., Nègre-Salvayre, A. (2003). Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose : physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques*. J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, 14 : 269–290.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food. Agric*, 76: 270–276.
- Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec &Doc), Paris, 300–398.

- Sasaki, K., Takahashi, T. (2002). A flavonoid from *Brassica rapa* flower as the UV-absorbing nectary guide. *Phytochem*, 61 (3): 339–343.
- Schiestl, F.P., Ayasse, M., Paulus, H.F., Löfstedt, C., Hansson, B.S., Ibarra, F., Francke, W. (2000). Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys sphegodes*): patterns of hydrocarbons as the key mechanism for pollination by sexual deception. *J Comp Physiol*, 186 (6): 567–574.
- Sendl, A., Mulinacci, N., Vincierit, F., Wagner, H. (1993). Antiinflammatory and immunologically active polysaccharides of *Sedum telephium*. *Phytochemistry*, 34(5):1357–1362.
- Shakeri, A., Hazeri, N., Vlizadaeh, J., Ghasemi, A., Tavallaei, F.Z. (2012). Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 34 (34): 71–78.
- Silva-Torres, R., Montellano-Rosales, H., Ramos-Zamora, D., Eugenia Castro-Mussot, M., Cerda-Garcia-Rojas, C-M. (2003). Spermicidal activity of the crude ethanol extract of *Sedum praealtum* in mice. *J Ethnopharmacol*, 85 : 15–17.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16: 144–158.
- Siddhuraju, P., Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea *Vigna unguiculata* (L) Walp. seed extracts. *Food Chem*. 101(1) : 10–19.
- Speroni, E., Scartezzini, P. (2000), Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol*, 71: 23–43.
- Srivastava, R.C., Husain, M.M., Hasan, S.K., Athar, M. (2000). Green tea polyphenols and tannic acid act as potent inhibitors of phorbol ester-induced nitric oxide generation in rat hepatocytes independent of their antioxidant properties. *Cancer Lett*, 153 (1-2): 1–5.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Review. J. Sep. Sci*, 30 : 3268–3295.
- Stanković M, Radojević I, Ćurčić M, VASIĆ S, Topuzović M, Čomić L, Marković S. (2012). Evaluation of biological activities of goldmoss stonecrop (*Sedum acre* L.). *Turk J Biol* 36: 580–588.
- Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., Stöckigt, D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Review J Chromatogr A*, 967 :85–113.

- Sun, T., Powers, J.R., Tang, J. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of asparagus broccoli and their juices. *Food Chem*, 105: 101–106.
- Szewczyk, K., Smolarz, H.D., Gawlik-Dziki, U. (2012). Antioxidant properties of three species from crassulaceae family. *Inter Pharm Scie*, 4 (3) :107–108.

T

- Talcott, S.T., Howard, L.R. (1999). Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *J Agri Food Chem*, 47 (5): 2109–2115.
- Thuong, Ph -Th., Kang, H- J., Na, M-K., Jin, W-Y., Youn, U- J., Seong, Y- H., Song, K-S., Min, B-S., Bae, K. (2007). Anti-oxidant constituents from *Sedum takesimensense*. *Phytochem*, 68 : 2432–2438.
- Tilyabaev, Z., Abduvakhabov, A.A. (1998). Alkaloids of *Anabasis aphylla* and their cholinergic activities. *Chem Nat compd*, 34 (3) : 295–297.
- Trease, E., Evans, W.C. (1987). *Pharmacognosiy*, 13th edition, Balliere Tindall, London; 61–62.
- Tsao, R., Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J Chromato B*, 812 :85–99.

U

- Unten, L., Koketsu, M., Kim, M. (1997). Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on β -carotene. *J Agr Food Chem*, 45: 2009–2019.

V

- Vincken, J.P., Heng, L., De Groot, A., Gruppen, H. (2007) .Review Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochem*, 68 : 275–297.

W

- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., Kowalska T. (2008). *Thin layer chromatography in phytochemistry*, CRC Press, 348.
- Wang, Q., Luo, A., Fan, Y., Luo, A., Liu, J. (2011). *In vitro* antioxidant activity of Polysaccharide from *Sedum aizoon* L. extracts. *J Medi Pla Rese*, 5(30) : 6604–6608.

- Winston, J.C. (1999). Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr*, 70: 491–499.
- Wolbis, M. (1989). Flavonol glycosides from *Sedum album*. *Phytochem*, 28(8) :2187–2189.
- Wu, X.N. (1996). Update therapy of chronic hepatitis B in China: recent progress. *China Nat J New Gastro*, 2 :65–68.

X

- Xu, J.ZH. Shen, J., Cheng, Y.Y., Qu, H.B. (2008). Simultaneous detection of seven phenolic acids in Danshen injection using HPLC with ultraviolet detector. *J Zhejiang Uni Sci B*, 9(9):728–733.

Y

- Yamanaka, N., Samu, O., Nagao, S. (1996). Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu^{+2} induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett*, 401: 230–234.
- Yang, Y., Li, W.L., Gong, T., Wang, H.Q., Chen, R.Y. (2010). Studies on the chemical constituents of *Anabasis aphylla* L. *Yao Xue Xue Bao*, 45(12): 1523–1526.
- Yeşilyurt, V., Halfon, B., Öwtürk, M., Topçu, G. (2008). Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*. *Food chem*, 108 : 31–39.
- Yi-Cai, F.U., Xi-Peng, J.I.N., Shao-Min, W.E.I., Hui-Feng, L.I.N., Sam, K. (2000). Ultraviolet radiation anreactive oxygen generation as inducers of keratinocyte apoptosis : Protective role of tea polyphenols. *J Toxicol Environ Health*, 61 (3): 177–188.
- Yi, Z., Yan, Y., Liang, Y., and Zeng, B. (2008). In vitro antioxidant and antimicrobial of Pericarpium Citri Reticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*, 41:597–603.
- Yoon, C-H., Chung, S-J., Lee, S-W., Park, Y-B., Lee, S-K., Park, M-C. (2013). L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. *Revue du rhumatisme*, 80 (3):193–326.
- 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.

Z

- Zenk, M.H., Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry nitrogenous compounds. *Phytochem Review* ,68 : 2757–2772.
- Zhang, S.Y., Zheng, C.G., Yan, X.Y., Tian, W.X. (2008) .Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells. *Biochem Bioph Res*, 371: 654–658.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64 (4): 555–559.



ANNEXES

Annexe 1 : Réactifs de caractérisation

☞ Amidon

L'amidon est caractérisé par un réactif spécifique connu sous le nom de réactif d'amidon. Ce dernier a été préparé comme suit :

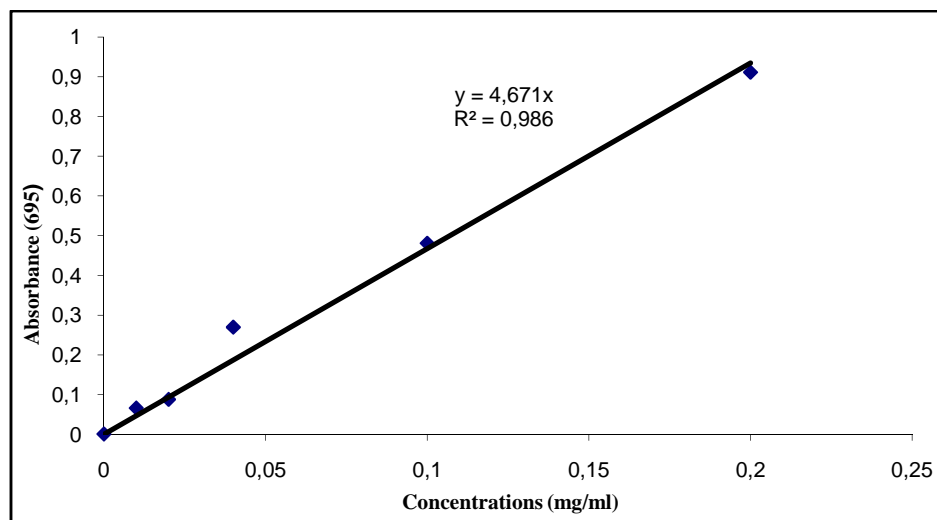
- Dissoudre 1.2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2.5 g d'iodure de potassium ;
- Chauffer pendant 5 min ;
- diluer jusqu'à 500 ml.

☞ Alcaloïdes

Deux réactifs sont utilisés :

- **Réactif de Mayer** : la préparation de ce réactif s'effectue comme suit :
 - ✓ Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau ;
 - ✓ Dissoudre 1.358 g de HgCl_2 solubilisés dans 60ml d'eau ;
 - ✓ Mélanger les deux solutions puis ajouter le volume total à 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Wagner** :
 - ✓ Dissoudre 2g de KI et 1.27g d' I_2 solubilisées dans 75 ml d'eau distillée ;
 - ✓ Ajouter le volume total à 100 ml d'eau.

Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la capacité antioxydante totale.



Annexe 3 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour l'extrait brut de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait brut	0.1	0.033±0.0014
	0.2	0.1105±0.0007
	0.3	0.164±0.0000
	0.4	0.2645±0.0007
	0.5	0.3255±0.0007

Annexe 4 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour les extraits bruts de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk.).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique	
		Rameaux	Racines
Extrait brut	0.1	0.1125±0.0007	0.213±0.0042
	0.2	0.168±0.0014	0.2865±0.0021
	0.3	0.2235±0.0077	0.423±0.0042
	0.4	0.2985±0.0035	0.488±0.0014
	0.5	0.403±0.0056	0.707±0.0042

Annexe 5 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour les fractions acétate d'éthyle et butanolique de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait acétate d'éthyle	0.1	0.003±0.0000
	0.2	0.0195±0.0007
	0.3	0.054±0.0014
	0.4	0.0855±0.0007
	0.5	0.1395±0.0007
Extrait butanolique	0.1	0.117±0.0014
	0.2	0.2695±0.0007
	0.3	0.4895±0.0007
	0.4	0.509±0.0014
	0.5	0.839±0.0014

Annexe 6 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour les fractions acétate d'éthyle et butanolique de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk.).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique	
		Rameaux	Racines
Extrait acétate d'éthyle	0.1	0.0425±0.0007	0.0735±0.0021
	0.2	0.0745±0.0021	0.1065±0.0106
	0.3	0.105±0.0084	0.1385±0.0021
	0.4	0.151±0.0042	0.1805±0.0021
	0.5	0.1845±0.0021	0.2225±0.0049
Extrait butanolique	0.1	0.0795±0.0007	0.156±0.0014
	0.2	0.1425±0.0007	0.2115±0.0077
	0.3	0.202±0.0042	0.2905±0.0134
	0.4	0.258±0.0000	0.3645±0.0021
	0.5	0.3395±0.0007	0.4495±0.0007

Annexe 7 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour la fraction de tanins de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait tanins	0.1	0.0035±0.0007
	0.2	0.0135±0.0007
	0.3	0.064±0.0000
	0.4	0.113±0.0014
	0.5	0.1635±0.0007

Annexe 8 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour les fractions des tanins des différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk.).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique	
		Rameaux	Racines
Extrait tanins	0.1	0.0335±0.0007	0.106±0.0113
	0.2	0.078±0.0028	0.2045±0.0077
	0.3	0.124±0.0000	0.27±0.0056
	0.4	0.1645±0.0007	0.3145±0.0007
	0.5	0.202±0.0042	0.4195±0.0007

Annexe 9 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour la fraction saponosides de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait saponosides	0.1	0.0095±0.0007
	0.2	0.0455±0.0007
	0.3	0.0485±0.0007
	0.4	0.056±0.0000
	0.5	0.066±0.0000

Annexe 10 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour les fractions des saponosides des différents parties d' *Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique	
		Rameaux	Racines
	0.2	0.0955±0.0007	0.035±0.0000
	0.3	0.106±0.0056	0.1055±0.0091
	0.4	0.161±0.0014	0.1315±0.0021
	0.5	0.213±0.0042	0.254±0.0028

Annexe 11 : Résultats de l'analyse FRAP trouvés pour la fraction alcaloïdes de la partie rameaux d' *Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait alcaloïdes	0.1	0.1925±0.0091
	0.2	0.278±0.0000
	0.3	0.3335±0.0049
	0.4	0.3995±0.0077
	0.5	0.451±0.0098

Annexe 12 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour l'extrait brut de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait brut	4	0.0105
	3	0.0195
	2	0.0215
	1	0.2065
	0.5	0.3685
	0.25	0.4765
	0.125	0.5445
	0.0625	0.569

Annexe 13 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les extraits bruts de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait brut Rameaux	4	0.1125
	3	0.1915
	2	0.3415
	1	0.5105
	0.5	0.5405
	0.25	0.5555
	0.125	0.5795
	0.0625	0.6195
Extrait brut Racines	4	0.0405
	3	0.0595
	2	0.065
	1	0.1865
	0.5	0.448
	0.25	0.597
	0.125	0.6895
	0.0625	0.714

Annexe 14 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les fractions acétate d'éthyle et butanolique de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Fraction acétate d'éthyle	4	0.3605
	3	0.591
	2	0.7575
	1	0.8745
	0.5	1.0095
	0.25	1.024
	0.125	1.043
	0.0625	1.1385
Fraction butanolique	0.766	0.4065
	0.383	0.569
	0.1915	0.731
	0.09575	0.8295
	0.047875	0.8805
	0.0239375	0.8845
	0.01196875	0.8885
	0.00598438	0.91

Annexe 15 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les fractions acétate d'éthyle de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Fraction acétate d'éthyle Rameaux	4	0.5605
	3	0.5625
	2	0.572
	1	0.6005
	0.5	0.613
	0.25	0.624
	0.125	0.643
	0.0625	0.6835
Fraction acétate d'éthyle Racines	4	0.3335
	3	0.395
	2	0.4865
	1	0.5445
	0.5	0.585
	0.25	0.595
	0.125	0.614
	0.0625	0.6285

Annexe 16 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les fractions butanolique de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Fraction butanolique Rameaux	2.766	0.1595
	1.383	0.382
	0.6915	0.5165
	0.34575	0.5805
	0.172875	0.6385
	0.0864375	0.66
	0.04321875	0.662
	0.021609375	0.668
Fraction butanolique Racines	10	0.0145
	5	0.0655
	2.5	0.131
	1.25	0.496
	0.625	0.5415
	0.3125	0.585
	0.15625	0.625
	0.078125	0.689

Annexe 17 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour la fraction de tanins de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait tanins	4	0.009
	3	0.1825
	2	0.225
	1	0.35
	0.5	0.4505
	0.25	0.462
	0.125	0.479
	0.0625	0.487

Annexe 18 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les fractions de tanins de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait tanins Rameaux	4	0.034
	2	0.04
	1	0.048
	0.5	0.175
	0.25	0.421
	0.125	0.5355
	0.0625	0.6305
	0.03125	0.6485
Extrait tanins Racines	4	0.033
	2	0.061
	1	0.095
	0.5	0.164
	0.25	0.4625
	0.125	0.599
	0.0625	0.6695
	0.03125	0.7255

Annexe 19 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour la fraction saponosides de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait saponosides	20	0.44
	15	0.621
	10	0.694
	5	0.7915
	2.5	0.855
	1.25	0.8805
	0.625	0.9035
	0.3125	0.919

Annexe 20 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les fractions saponosides de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait saponoside Rameaux	4.883	0.225
	2.4415	0.4835
	1.22075	0.577
	0.610375	0.62
	0.3051875	0.675
	0.15259375	0.694
	0.076296875	0.6995
	0.038148437	0.708
Extrait saponoside Racines	3.03	0.0485
	1.51	0.0765
	0.75	0.3175
	0.37	0.475
	0.18	0.4975
	0.09	0.608
	0.04	0.6235
	0.02	0.6535

Annexe 21 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour la fraction alcaloïdes de la partie rameaux d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait alcaloïdes	4	0.104
	2	0.184
	1	0.2765
	0.5	0.367
	0.25	0.4455
	0.125	0.483
	0.0625	0.508
	0.03125	0.5245

Annexe 22 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour l'extrait brut de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait brut	4	0.143
	2	0.1095
	1	0.0825
	0.5	0.0755
	0.25	0.068

Annexe 23 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour les extraits bruts des différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait brut Rameaux	0.5	0.1325
	0.25	0.102
	0.125	0.084
	0.0625	0.078
	0.03125	0.077
Extrait brut Racines	0.5	0.1635
	0.25	0.1495
	0.125	0.134
	0.0625	0.1165
	0.03125	0.1095

Annexe 24 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour les fractions acétate d'éthyle et butanolique de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Fraction acétate d'éthyle	3	0.1405
	1	0.1115
	0.5	0.0985
	0.25	0.094
	0.125	0.0855
fraction butanolique	0.933	0.099
	0.4665	0.085
	0.23325	0.065
	0.116625	0.056
	0.0583125	0.045

Annexe 25 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour les fractions acétates d'éthyles des différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Fraction acétate d'éthyle Rameaux	1	0.2235
	0.5	0.1515
	0.25	0.0805
	0.125	0.033
	0.0625	0.023
Fraction acétate d'éthyle Racines	1	0.177
	0.5	0.151
	0.25	0.095
	0.125	0.078
	0.0625	0.047

Annexe 26 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour les fractions butanolique des différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Fraction butanolique Rameaux	1	0.111
	0.5	0.08
	0.25	0.051
	0.125	0.0365
	0.0625	0.03
Fraction butanolique Racines	1	0.128
	0.5	0.1125
	0.25	0.095
	0.125	0.089
	0.0625	0.066

Annexe 27 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour la fraction tanins de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait tanins	1	0.107
	0.5	0.0985
	0.25	0.077
	0.125	0.055
	0.0625	0.0205

Annexe 28 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour la fraction tanins des différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait tanins Rameaux	0.5	0.182
	0.25	0.164
	0.125	0.144
	0.0625	0.1075
	0.03125	0.0765
Extrait tanins Racines	0.5	0.3515
	0.25	0.263
	0.125	0.1975
	0.0625	0.147
	0.03125	0.1095

Annexe 29 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour la fraction saponosides de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait saponosides	1	0.0965
	0.5	0.082
	0.25	0.0695
	0.125	0.0605
	0.0625	0.052

Annexe 30 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour les fractions saponosides des différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait tanins Rameaux	1	0.0905
	0.5	0.077
	0.25	0.0725
	0.125	0.0625
	0.0625	0.0525
Extrait tanins Racines	1	0.109
	0.5	0.1015
	0.25	0.092
	0.125	0.0735
	0.0625	0.0585

Annexe 31 : Résultats du blanchiment du β -carotène trouvés pour la fraction alcaloïdes de différentes parties d'*Anabasis articulata* (Forsk).

Extrait étudié	Concentrations (mg/ml)	Densité optique
Extrait alcaloïdes	1	0.0995
	0.5	0.0915
	0.25	0.0855
	0.125	0.0765
	0.0625	0.071

Annexe 32 : Fractions séparées par la colonne chromatographique de l'extrait brut méthanolique des racines d'*A. articulata*.

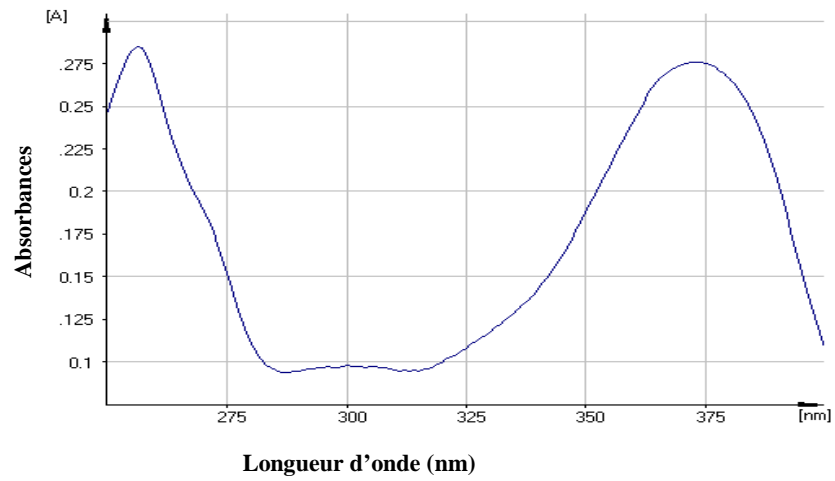
Eluant	Nom de la fraction	Volume des fractions récupérées dans le MeOH (ml)
Dichlorométhane (100 %)	F1	1ml
	F2	1ml
Dichlorométhane / Méthanol (90 / 10 : V/V)	F3	1ml
	F4	1ml
	F5	2ml
	F6	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (80 / 20 : V/V)	F7	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (70 / 30 : V/V)	F8	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (60 / 40 : V/V)	F9	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (50 / 50 : V/V)	F10	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (40 / 60 : V/V)	F11	2ml
	F12	3ml
	F13	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (30 / 70 : V/V)	F14	3ml
Dichlorométhane / Méthanol (20 / 80 : V/V)	F15	3ml
Dichlorométhane / Méthanol (10 / 90 : V/V)	F16	3ml
Méthanol (100 %)	F17	5ml

Annexe 33 : Fractions séparées par la colonne chromatographique de l'extrait brut méthanolique de la partie fleurie de *Sedum villosum* L.

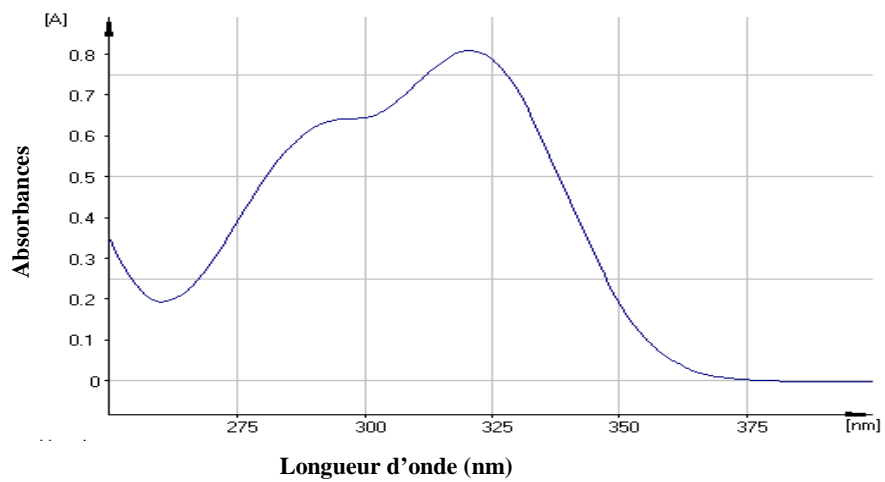
Eluant	Nom de la fraction	Volume des fractions récupérées dans le MeOH (ml)
Dichlorométhane (100 %)	F1	5ml
	F2	4ml
	F3	3ml
Dichlorométhane / Méthanol (90 / 10 : V/V)	F4	2ml
	F5	1ml
	F6	4ml
Dichlorométhane / Méthanol (80 / 20 : V/V)	F7	3ml
	F8	3ml
	F9	3ml
	F10	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (70 / 30 : V/V)	F11	2ml
	F12	3ml
	F13	3ml
Dichlorométhane / Méthanol (50 / 50 : V/V)	F14	3ml
	F15	3ml
	F16	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (40 / 60 : V/V)	F17	3ml
	F18	3ml
	F19	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (30 / 70 : V/V)	F20	3ml
	F21	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (20 / 80 : V/V)	F22	2ml
Dichlorométhane / Méthanol (10 / 90 : V/V)	F23	2ml
Méthanol (100 %)	F24	2ml

Annexe 34 : Spectres UV-Visible des différents témoins de composés phénoliques.

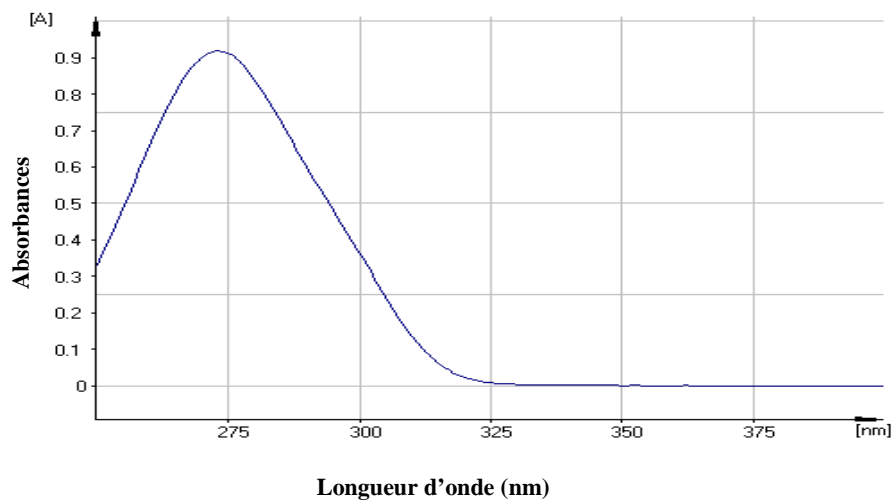
Quercétine :



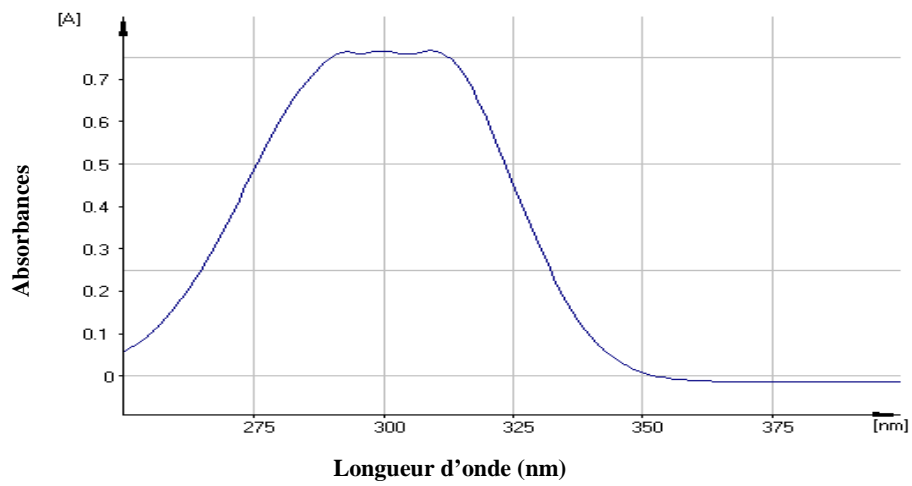
Acide férulique :



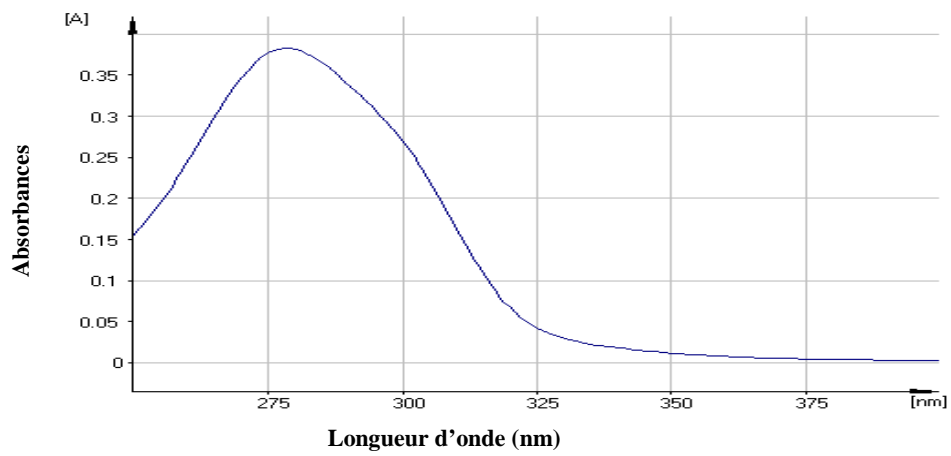
Acide gallique :



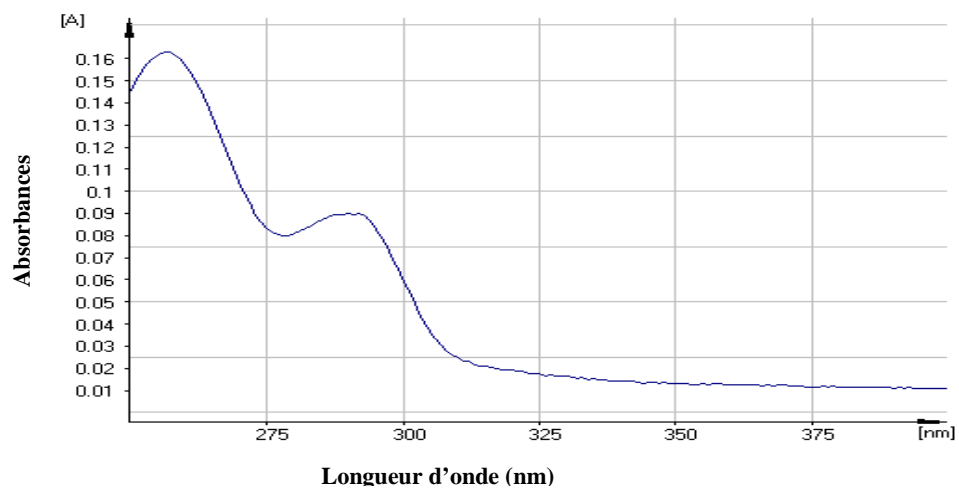
Acide p-coumarique :



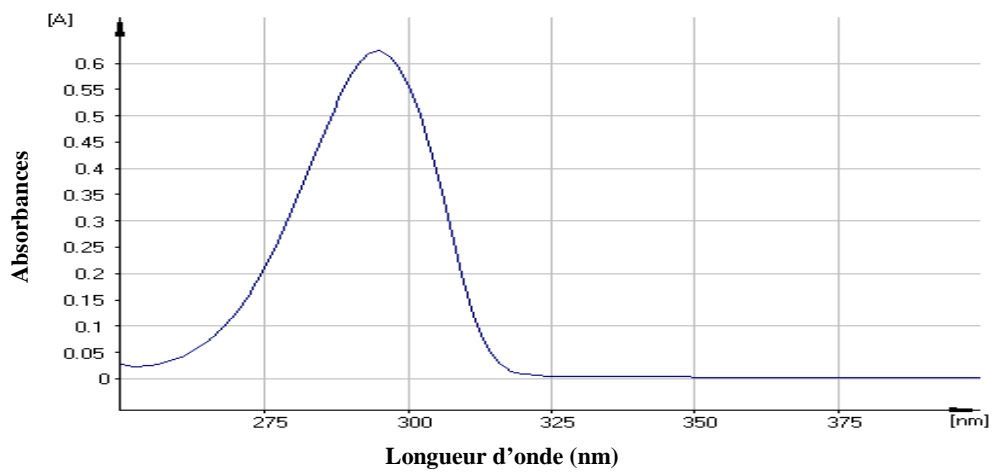
Acide tannique :



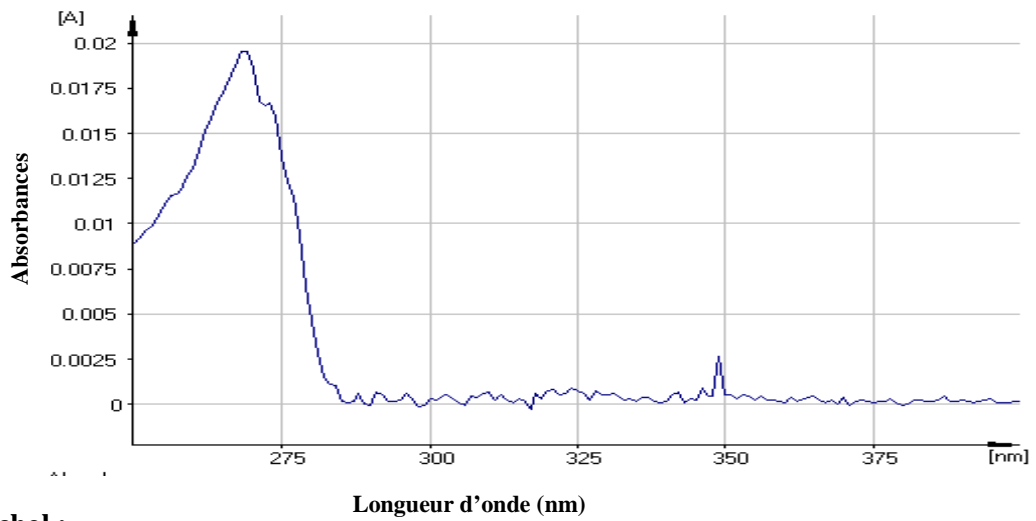
Acide vanillique :



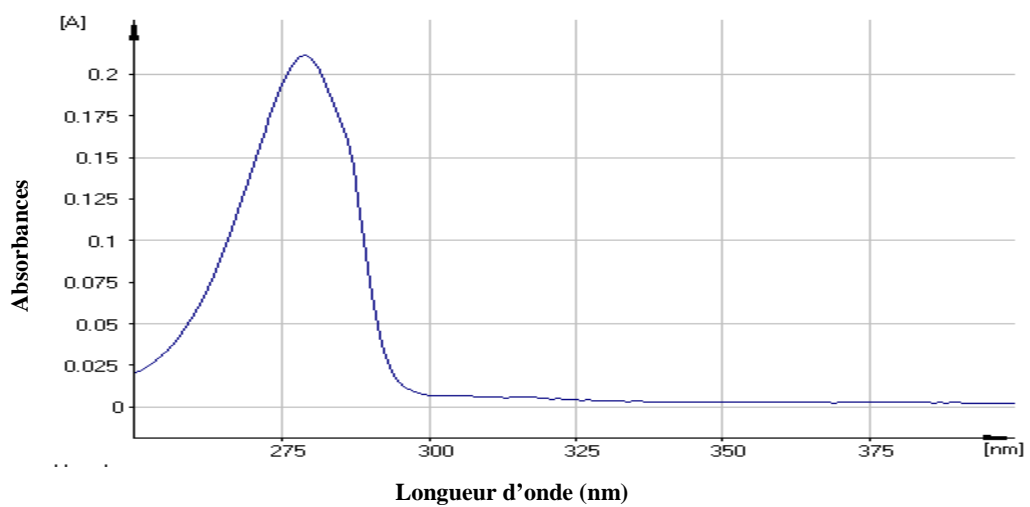
Hydroquinone :



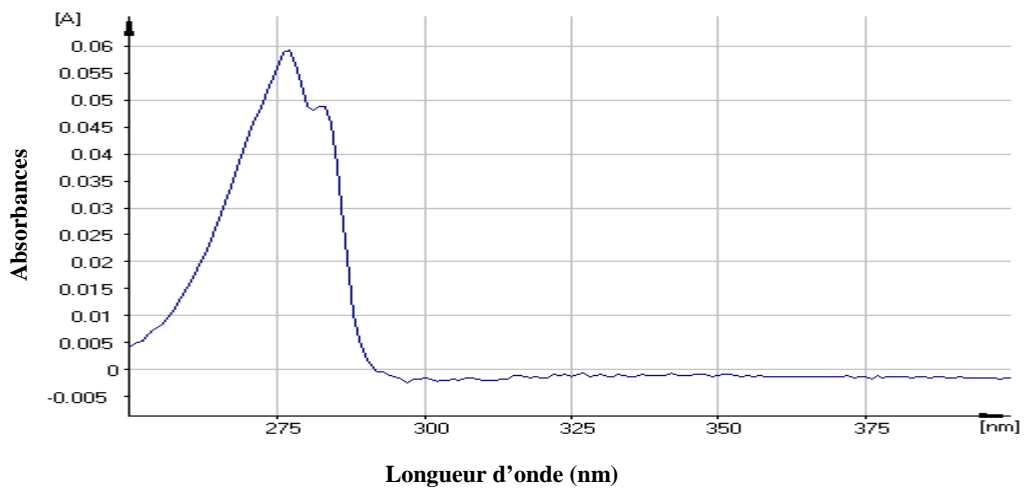
phloroglucinol :



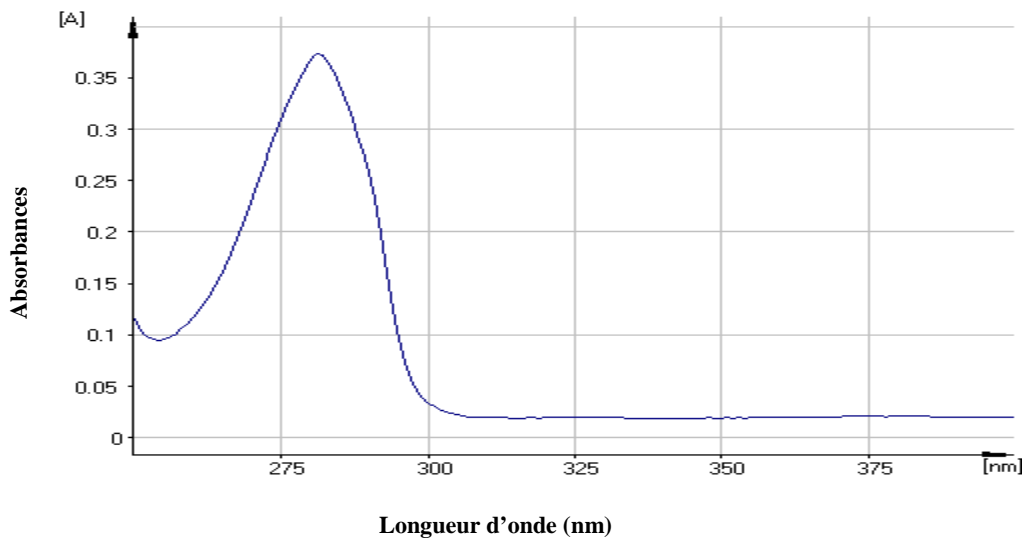
Pirocatéchol :



Résorcinoles

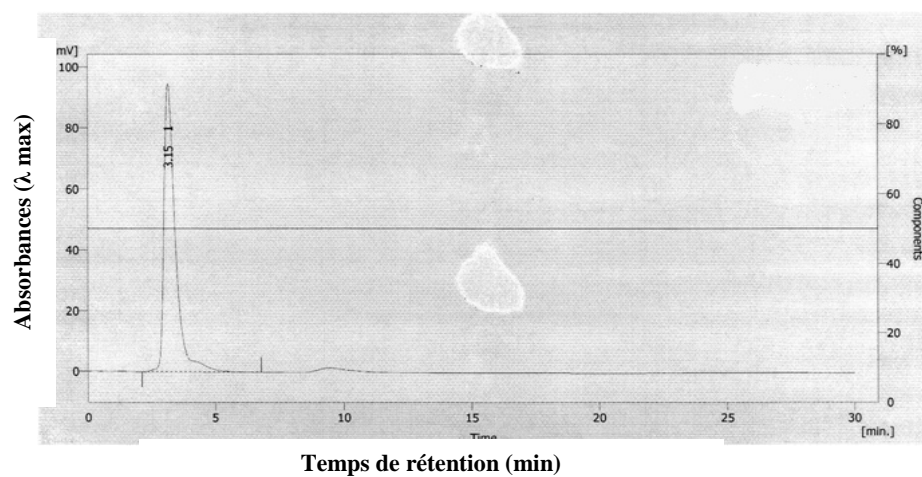


Catéchine

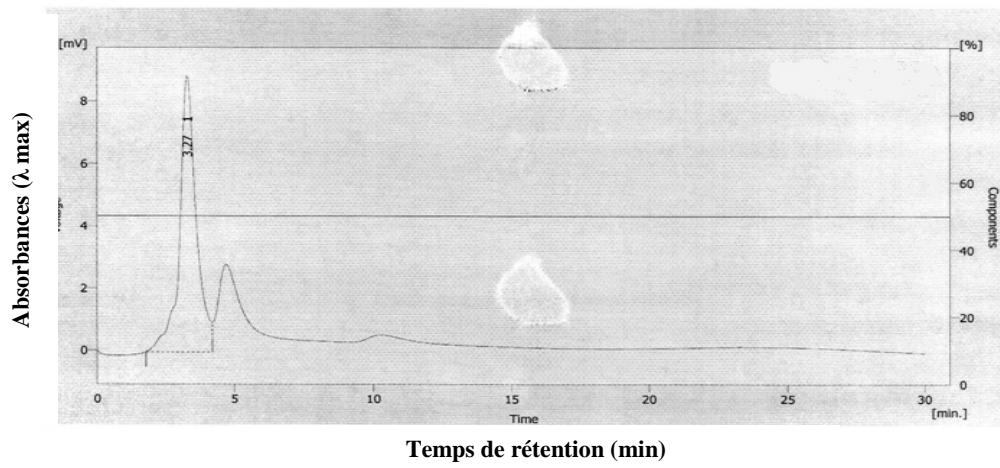


Annexe 35 : chromatogrammes des différents témoins de composés phénoliques.

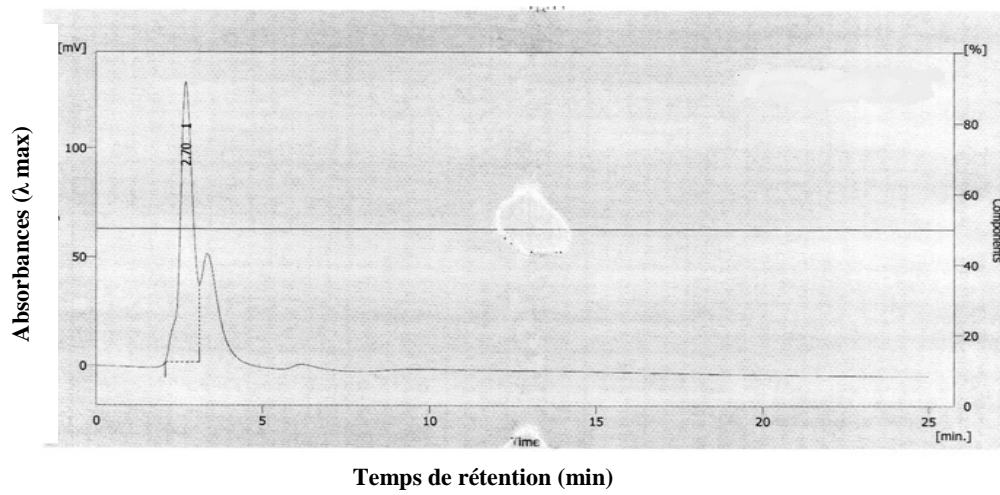
Acide férulique :



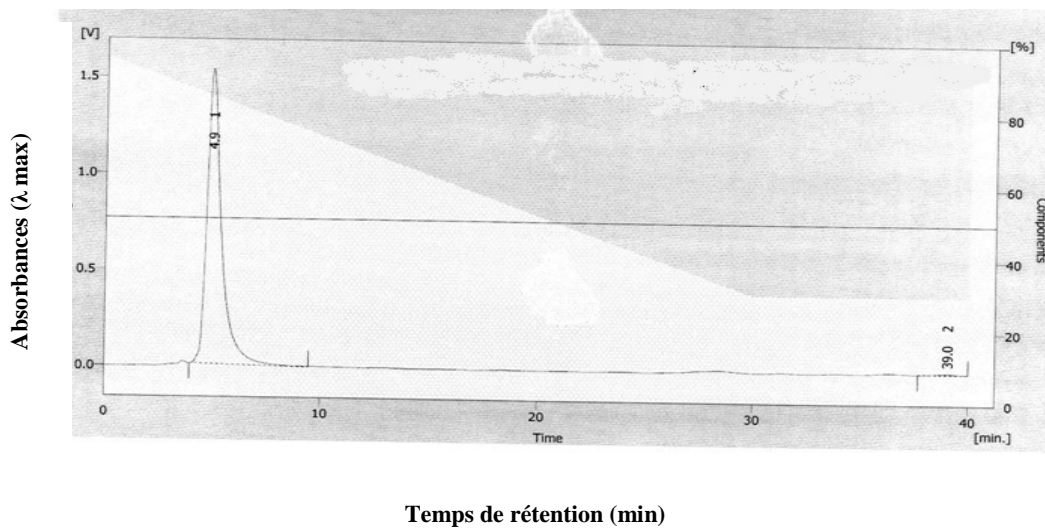
Hydroquinone :



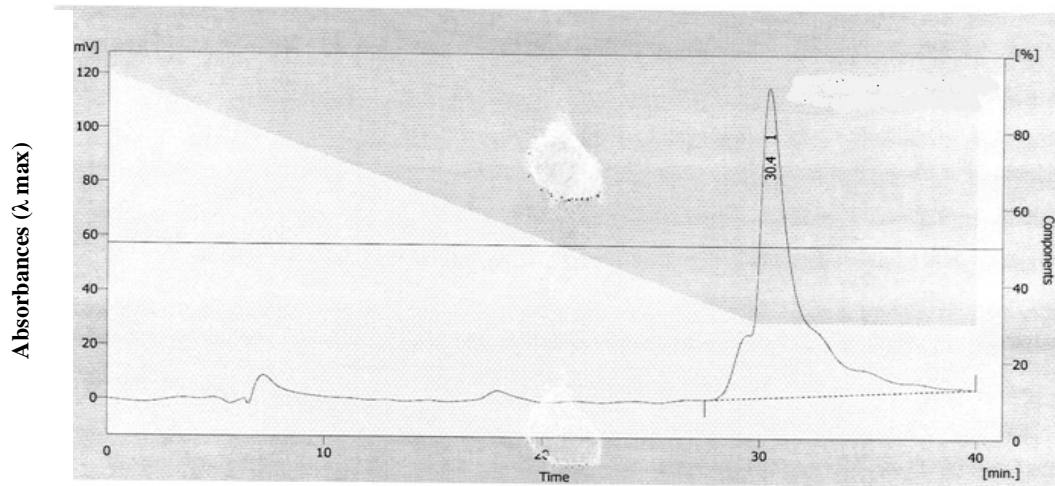
Acide gallique :



Cathéchine :

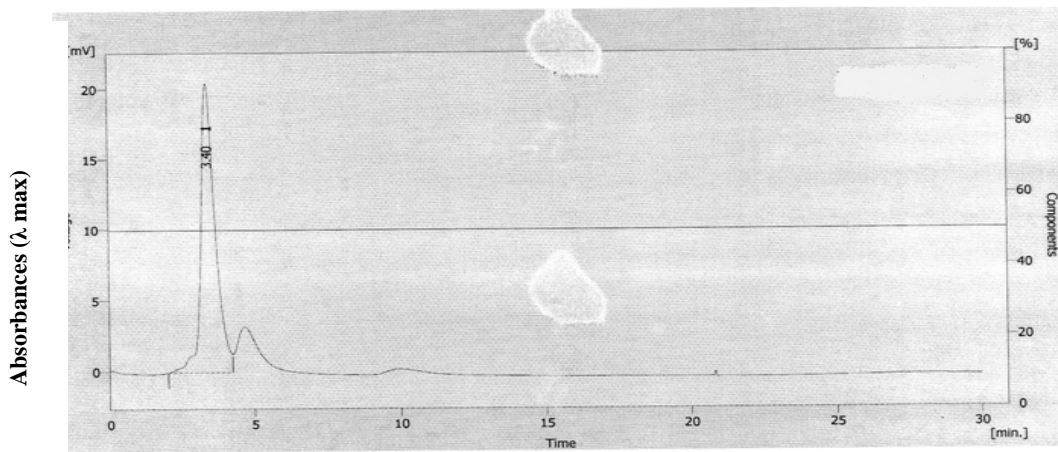


Quercétine :



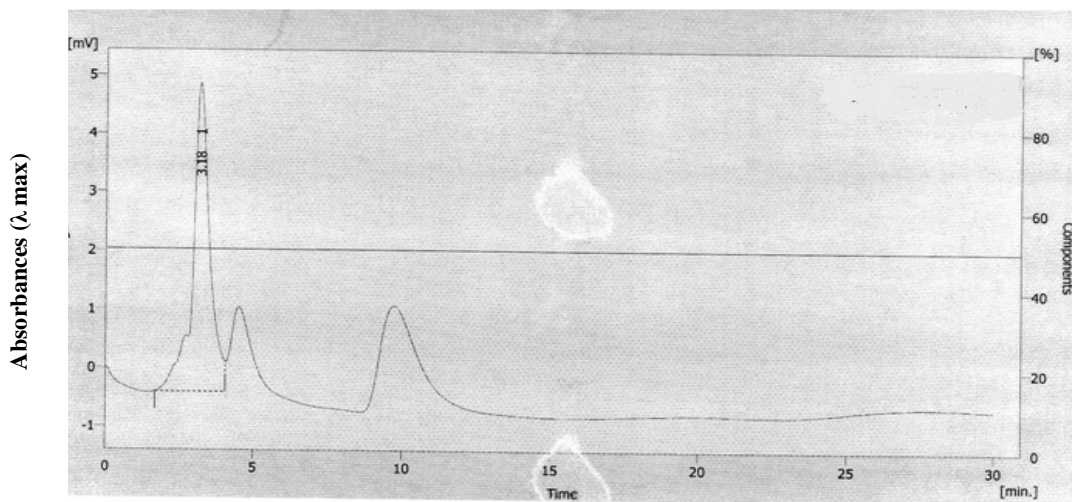
Temps de rétention (min)

Pyrocatecholé :



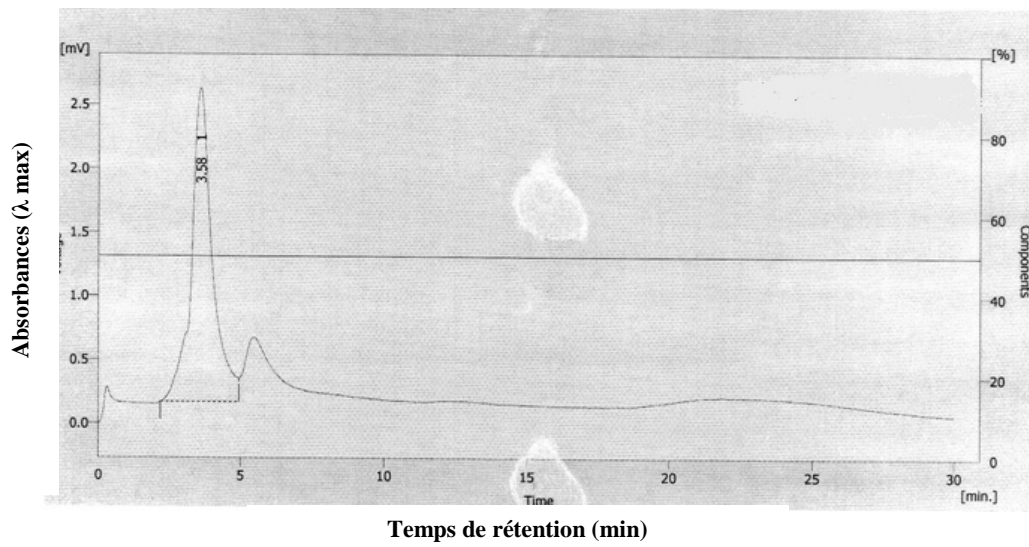
Temps de rétention (min)

Acide vanillique :

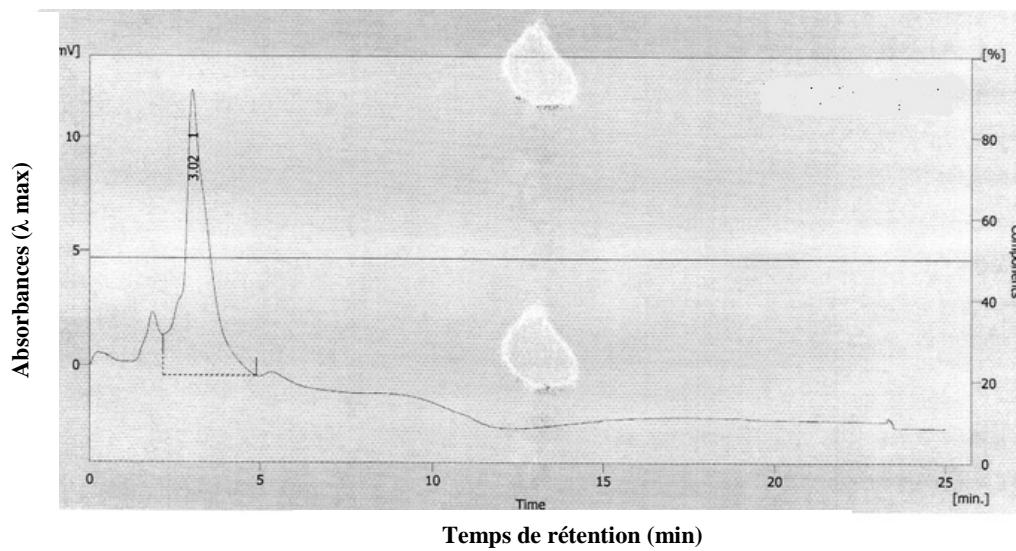


Temps de rétention (min)

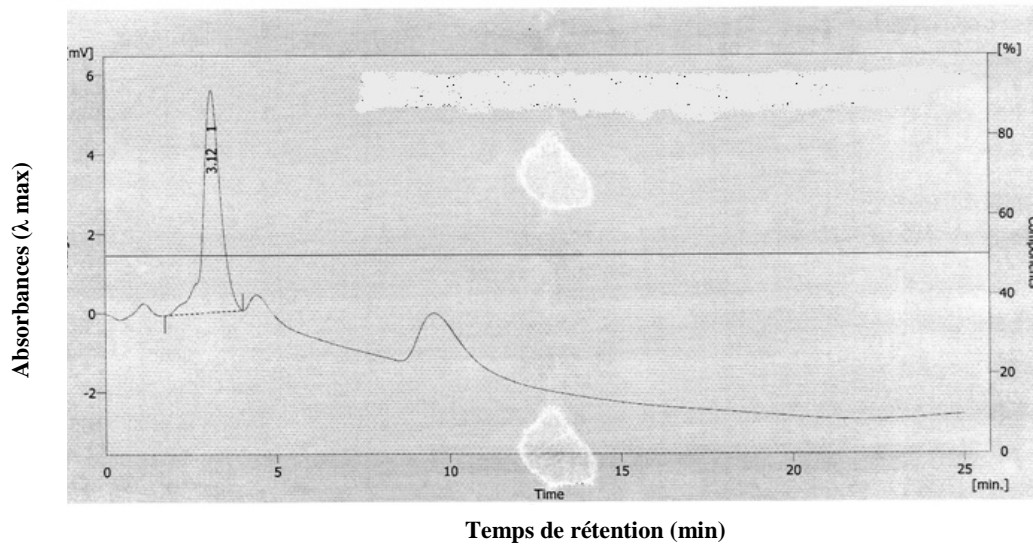
Phloroglucinol :



Acide tannique :



Acide para-coumarique :



PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS:

Hadri- Ghembaza, N., Belyagoubi-Benhammou,N., Kanoun, K and Atik Bekkara, F (2014). Phytochemical determination and in vitro antioxidant activities of *Sedum villosum*.

Advances in Food Science 36(3):93-99.

Benhammou,N.,**Ghembaza,N.,**Benabdelkader, S., Atik-Bekkara, F. and Kadifkova Panovska, T (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*.

International Food Research Journal 20(5): 2057-2063.

Kanoun,K ., Belyagoubi-Benhammou,N., **Ghembaza, N** and Atik Bekkara, F (2014). Comparative studies on antioxidant activities of extracts from the leaf, stem and berry of *Myrtus communis* L.

International Food Research Journal 21(5): 1957-1962.

Ghembaza, N., Belyagoubi-Benhammou,N and Atik Bekkara, F (2015). Separation and identification of bioactive compounds in *Anabasis articulata* (Forsk) Moq. Roots.

Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters

COMMUNICATIONS INTERNATIONNALES

14-16/11/2013	5^{ème} Symposium International des Plantes aromatiques et Medicinales SIPM5
Marrakech - Maroc	Capacité antioxydante de l'extrait méthanolique et des fractions <i>Sedum villosum</i> . Ghembaza N., Toul F, Zitouni A., Belyagoubi-Benhammou N., Atik –Bekkara F.
10-11/04/2013	4th International Workshop on Industrial Biotechnology
Tlemcen –Algerie	Polyphenols content and in vitro antioxidant activity of <i>Anabasis articulata</i> . Ghembaza N., Zitouni A, Toul F., Benabdelkader S., Belyagoubi-Benhammou N., Atik -Bekkara F.
05-06/12/2012	1^{er} Congrès International de la Société Algérienne de la Nutrition
Oran- Algerie	Valorisation d'une plante médicinale saharienne Ghembaza N .,Toul F., Zitouni A., Benabdelkader S., Belyagoubi-Benhammou N., Atik -Bekkara F.

COMMUNICATIONS NATIONALES

16/10/2014	La 1^{ère} Journée Scientifique des Sciences de la Société Algérienne de la Nutrition
Oran–Algerie	Evaluation de l'activité antioxydante de quelques métabolites secondaires de <i>Sedum villosum</i> Ghembaza N., Toul F., Zitouni A., Belyagoubi-Benhammou N., Atik -Bekkara F.
03/06/2014	La 1^{ère} Journée Nationale de Sciences de L'agriculture Environnement et Santé
Tlemcen –Algerie	Capacité antioxydante des extraits bruts et des tanins des rameaux et des racines d' <i>Anabasis articulata</i> Ghembaza N., Belyagoubi-Benhammou N., Zitouni A, Toul F., Atik -Bekkara
14-15/2013	Forum sur le Développement des sciences de La vie et de L'univers
Tlemcen –Algerie	Etude phytochimique et dosage des composés polyphénoliques de <i>Sedum villosum</i> Ghembaza N., Toul F, Zitouni A., Belyagoubi-Benhammou N., Atik -Bekkara F.
