

FHQ République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أبو بكر بلقايد تلمسان  
UNIVERSITE de TLEMCEEN  
كلية علوم الطبيعة و الحياة و علوم الأرض و الكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de  
l'Univers

## Département de Biologie

Laboratoire de produits naturels LAPRONA

# MEMOIRE

Présenté par

M<sup>elle</sup> MILOUD ABID Sarraet M<sup>elle</sup> BERRABAH Omayma

*En vue de l'obtention du*

**Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master**

**Domaine: Science de la nature et de la vie**

**Spécialité: En Bioactivité, contrôle et analyse des huiles essentielles et  
huiles végétales.**

## Thème

**Fractionnement bio guidé des métabolites secondaires  
d'*Anabasis articulata* et évaluation de quelques activités  
biologiques**

Soutenu le 28 juin 2026 devant le jury composé de :

Président      Mme CHAOUCH Farah      Professeur      Université de Tlemcen

Encadreur      Mme BEN-MENNI Dounya MCA      Université de Tlemcen

Examineur      Mme SELADJI Meryem MAB      Université de Tlemcen

**Année universitaire 2025-2026**



## Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes et institutions qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire. En premier lieu, je remercie **Mme BEN MENNI Dounya**, MCB à l'université de Tlemcen mon encadrante de mémoire, pour son encadrement précieux, ses conseils avisés et son soutien tout au long de ce projet. Son expertise et sa disponibilité ont été déterminants pour l'aboutissement de ce travail.

Mes très vifs remerciements vont à **Mme CHAOUCH Farah**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Mes chaleureux remerciements vont à **Mme SELADJI MERYEM**, MCA à l'Université de Tlemcen, pour avoir examiné le contenu de ce mémoire.

Je remercie également ma famille pour leur soutien inconditionnel, leur patience et leurs sacrifices tout au long de mon parcours académique. Leur amour et leurs encouragements m'ont permis de surmonter les défis et de persévérer jusqu'à la fin de ce projet.

Je souhaite exprimer ma gratitude à mes collègues et amis pour leur soutien moral, leurs encouragements constants et les précieux moments de partage et de collaboration. Leur aide a été précieuse, tant sur le plan académique que personnel.

Je remercie tous ceux qui m'ont aidée de près et de loin à la réalisation de ce mémoire



## **Dédicace**

Je dédie ce travail de mémoire à toutes les personnes qui ont joué un rôle déterminant dans la réalisation de ce projet

### **À mes parents**

Pour leur soutien inébranlable et leur amour inconditionnel tout au long de mon parcours académique. Leur encouragement constant et leurs sacrifices ont été une source d'inspiration et de motivation inestimable.

### **À mon encadrante**

Pour sa patience, ses conseils précieux et son accompagnement tout au long de ce projet. Son expertise et ses remarques constructives ont grandement contribué à la qualité de ce travail.

**À mes sœurs À mes frères a tout ma famille a mes très chères amies a tout personne qui me connais**

Leur collaboration et leur soutien moral. Les discussions enrichissantes et les moments de partage ont rendu cette expérience académique mémorable et stimulante.

À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, je vous exprime ma profonde gratitude. Votre aide et vos encouragements ont été une source précieuse de motivation.

**Sarra**



## **Dédicace**

Je dédie ce travail de mémoire à toutes les personnes qui ont joué un rôle déterminant dans la réalisation de ce projet

### **À mes parents**

Pour leur soutien inébranlable et leur amour inconditionnel tout au long de mon parcours académique. Leur encouragement constant et leurs sacrifices ont été une source d'inspiration et de motivation inestimable.

### **À mon encadrante**

Pour sa patience, ses conseils précieux et son accompagnement tout au long de ce projet. Son expertise et ses remarques constructives ont grandement contribué à la qualité de ce travail.

**À mes sœurs À mes frères a tout ma famille a mes très chères amies a tout personne qui me connais**

Leur collaboration et leur soutien moral. Les discussions enrichissantes et les moments de partage ont rendu cette expérience académique mémorable et stimulante.

À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, je vous exprime ma profonde gratitude. Votre aide et vos encouragements ont été une source précieuse de motivation.

**Omayma**

## ملخص :

يُعدّ هذا العمل جزءاً من جهدٍ أوسع نطاقاً لتعزيز استخدام نبات الأناباسيس المفصلي (*A. articulata*)، وهو نبات طبي جزائري معروف بخصائصه البيولوجية الواعدة. وكان الهدف الرئيسي لهذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة، والنشاط المُحلّل للدم، والنشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات مختلفة من هذا النبات.

في البداية، تم تجزئة المستخلصات باستخدام كروماتوغرافيا العمود، ثم كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، مما أسفر عن تسعة مستخلصات متميزة. بعد ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات باستخدام اختبار DPPH، معبراً عنه كنسبة مئوية للتنشيط. أظهرت النتائج أن المستخلصين 3 و7 أظهرأ أعلى نشاط، مما أدى إلى اختيارهما لمزيد من التحليل.

ثم دُرِسَ هذان المستخلصان من حيث نشاطهما المُحلّل للدم لتقييم سميتهما المحتملة لأغشية كريات الدم الحمراء. وأخيراً، أُجريَ تصوير حيوي باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) لإثبات النشاط المضاد للميكروبات ضد سلالات ميكروبية معينة.

تُبرز النتائج المُتحصّل عليها الإمكانيات البيولوجية الواعدة لنبات *A. articulata* ، ولا سيما نشاطه المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات، كما تُوفّر معلومات لتقييم سلامته الحيوية.

## الكلمات المفتاحية:

"نبات الرمث، السابونينات، كروماتوغرافيا العمود(CC) ، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة(CCM) ، التصوير الحيوي الذاتي".

**Résumé :**

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la plante médicinale algérienne *Anabasis articulata*, connue pour ses propriétés biologiques potentielles. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les activités antioxydante, hémolytique et antimicrobienne de différentes fractions issues de cette plante.

Dans un premier temps, un fractionnement des extraits a été réalisé par chromatographie sur colonne, suivi d'une chromatographie sur couche mince (CCM), permettant d'obtenir neuf fractions distinctes. L'activité antioxydante de ces fractions a ensuite été évaluée par le test au DPPH, exprimé en pourcentage d'inhibition. Les résultats ont montré que les fractions 3 et 7 présentent les activités les plus importantes, ce qui a conduit à leur sélection pour des analyses complémentaires.

Ces deux fractions ont ensuite fait l'objet d'une étude de leur activité hémolytique afin d'évaluer leur éventuelle toxicité sur les membranes érythrocytaires. Enfin, une bioautographie sur CCM a été réalisée afin de mettre en évidence une activité antimicrobienne vis-à-vis de certaines souches microbiennes.

Les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel biologique intéressant de *A. articulata*, notamment son activité antioxydante et antimicrobienne, tout en apportant des éléments d'appréciation de sa sécurité biologique.

**Mots clés :**

*A. articulata*, saponine, CC, CCM, Bioautographie

**Abstract :**

This work is part of a broader effort to promote the use of the Algerian medicinal plant *A. articulata*, known for its potential biological properties. The main objective of this study was to evaluate the antioxidant, hemolytic, and antimicrobial activities of different fractions derived from this plant.

Initially, the extracts were fractionated by column chromatography, followed by thin-layer chromatography (CCM), yielding nine distinct fractions. The antioxidant activity of these fractions was then assessed using the DPPH assay, expressed as a percentage of inhibition. The results showed that fractions 3 and 7 exhibited the highest activity, leading to their selection for further analysis.

These two fractions were then studied for their hemolytic activity to evaluate their potential toxicity to erythrocyte membranes. Finally, a CCM bioautograph was performed to demonstrate antimicrobial activity against certain microbial strains.

The results obtained highlight the interesting biological potential of *A. articulata*, particularly its antioxidant and antimicrobial activity, while also providing information to assess its biosafety.

**Keywords :**

*A. articulata*, saponins, CC, CCM, bioautography.

## Liste des figures

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1:Schéma de la composition des saponines .....                                                    | 11 |
| Figure 2:Formation des radicaux libre .....                                                              | 13 |
| Figure 3:Représentation schématique du stress oxydative.....                                             | 14 |
| Figure 4:Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante.....                            | 20 |
| Figure 5:Forme libre et réduite du DPPH. ....                                                            | 28 |
| Figure 6: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les différentes fractions.....                    | 43 |
| Figure 7: Variation du pourcentage d'hémolyse de la fraction F3 en fonction.....                         | 44 |
| Figure 8: Variation du pourcentage d'hémolyse de la fraction F7 en fonction de la<br>concentration. .... | 46 |

## Liste des Photos

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Photo 1: Photo originale prise à Mecheria le 23 02 2026.....                                    | 5  |
| Photo 2:Etapes de préparation de la poudre des parties aériennes de plante.....                 | 21 |
| Photo 3: Première décantation de l'extrait. ....                                                | 23 |
| Photo 4: Deuxième décantation de l'extrait .....                                                | 23 |
| Photo 5: Evaporation de solvant.....                                                            | 24 |
| Photo 6: Séparation des fractions par chromatographie sur colonne. ....                         | 27 |
| Photo 7: principale étape de l'activité antimicrobienne. ....                                   | 34 |
| Photo 8: Tubes collectés après séparation chromatographique Sur colonne de l'extrait brut. .... | 37 |
| Photo 9: Dépôt de différentes fractions obtenues sur la plaque de CCM.....                      | 38 |
| Photo 10: Les fractions présente les mêmes taches en CCM. ....                                  | 38 |
| Photo 11:Observation les plaque CCM sous lampe UV (365).....                                    | 39 |
| Photo 12: Photographie des 9 fractions. ....                                                    | 40 |
| Photo 13: Observation sous lampe UV 254nm. ....                                                 | 41 |
| Photo 14: Observation sous lampe 365nm. ....                                                    | 41 |
| Photo 15: Photographie de la plaque CCM révélée au DPPH.....                                    | 42 |
| Photo 16: Observation de la culture <i>Escherichia colis</i> .....                              | 47 |
| Photo 17: Observation de la culture <i>Candida albicans</i> .....                               | 48 |
| Photo 18: Observation de la culture <i>Staphylococcus aureu</i> . ....                          | 49 |
| Photo 19:Observation de la culture <i>Klebsiella Pneumoniae</i> . ....                          | 50 |
| Photo 20: Observation de la culture <i>Bacillus cereus</i> . ....                               | 51 |
| Photo 21: Observation de la culture <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . ....                        | 52 |

## Listes des tableaux

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1 : Liste des bactéries et levures utilisées dans les essais microbiologiques..... | 32 |
| Tableau 2: Rendement d'extraction des saponines d' <i>A.articulata</i> . ....              | 36 |
| Tableau 3: Regroupement des fractions après analyse CCM.....                               | 40 |
| Tableau 4: Pourcentage d'hémolyse de la fraction F3. ....                                  | 44 |
| Tableau 5: Pourcentage d'hémolyse de la fraction F7. ....                                  | 45 |
| Tableau 6: Activité des fractions contre <i>Escherichia coli</i> .....                     | 48 |
| Tableau 7: Activité des fractions contre <i>Candida albicans</i> . ....                    | 49 |
| Tableau 8: Activité des fractions contre <i>Staphylococcus aureus</i> .....                | 50 |
| Tableau 9:Activité des fractions contre <i>Klebsiella pneumoniae</i> . ....                | 51 |
| Tableau 10: Activité des fractions contre <i>Bacillus cereus</i> . ....                    | 52 |
| Tableau 11: Activité des fractions contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....              | 53 |
| Tableau 12: Activité des fractions contre <i>Micrococcus luteus</i> . ....                 | 53 |

## Liste des abreviations

**AA** : *Anabasis Articulata*.

**BMH** : Bouillon Mueller-Hinton.

**CC** : Chromatographie sur Colonne.

**CC50** : Concentration Cytotoxique 50 %.

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène.

**GR** : Globules Rouges.

**HeLa** : Lignée cellulaire de carcinome du col de l'utérus humain.

**HPLC-DAD** : Chromatographie Liquide Haute Performance couplée à un Détecteur à Barrette de Diodes.

**HR50** : Concentration Hémolytique induisant 50 % d'hémolyse.

**IC50** : Concentration Inhibitrice 50 %.

**MCF-7** : Lignée cellulaire de cancer du sein humain.

**MT** : Médecin traditionnelle

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé.

**PBS** : Tampon Phosphate Salin (*Phosphate Buffered Saline*).

**RF** : Rapport frontal, utilisé en chromatographie sur couche mince (CCM).

**Vero** : Lignée cellulaire rénale de singe vert africain.

**UV** : ultra-violet.

**BS** : Bouillon Sabouraud.

**BMH** : Bouillon Mueller-Hinton.



## Table des matières

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| Remerciements .....                                      |    |
| Dédicace .....                                           |    |
| Résumé : .....                                           |    |
| Liste des figures.....                                   |    |
| Liste des tableaux .....                                 |    |
| Liste des abreviations .....                             |    |
| Introduction .....                                       | 1  |
| Synthèse bibliographique .....                           | 3  |
| 1.Présentation de la plante <i>A. articulata</i> : ..... | 4  |
| 2.Les Travaux antérieurs d' <i>A. articulata</i> : ..... | 6  |
| 2.1Les Alcaloïdes : .....                                | 6  |
| 2.2 Les polyphénols : .....                              | 7  |
| 2.3Les flavonoïdes : .....                               | 7  |
| 2.4Les tanins : .....                                    | 8  |
| 2.5Les saponines : .....                                 | 8  |
| 2.6Extrait méthanolique brut : .....                     | 9  |
| 2.7Extrait aqueux : .....                                | 9  |
| 3.Généralités sur les saponines : .....                  | 10 |
| 3.1Définition.....                                       | 10 |
| 3.2Composition des saponosides : .....                   | 10 |
| 4.Activité antioxydant : .....                           | 13 |
| 4.1Les radicaux libres : .....                           | 13 |
| 4.2 Le stress oxydant : .....                            | 13 |
| 4.3 Antioxydants : .....                                 | 14 |
| 4.5 Mécanisme d'action : .....                           | 14 |
| 5.Pouvoir hémolytique : .....                            | 15 |
| 5.1 Composition de sang : .....                          | 15 |
| 5.2 Les globules rouges (GR) ou érythrocytes : .....     | 15 |
| 5.3 Les globules blancs ou leucocytes : .....            | 15 |
| 5.4 Les plaquettes : .....                               | 15 |
| 5.5Hémolyse : .....                                      | 16 |
| 6.Généralité sur les bactéries .....                     | 16 |
| 6.1 Activité antimicrobienne .....                       | 17 |
| 6.2 Agent antimicrobienne : .....                        | 18 |
| Matériel et méthodes .....                               | 19 |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Matérielle et méthode :.....                                               | 20 |
| 1.1 Récolte du matériel végétal :.....                                        | 20 |
| 1.2 Site d'échantillonnage :.....                                             | 20 |
| 1.3 Préparation du matériel végétal :.....                                    | 20 |
| 1.4Extraction des saponines : (Kambouch et al., 2011) .....                   | 22 |
| 1.5 Méthodes de séparations chromatographiques :.....                         | 25 |
| 1.6 La chromatographie sur colonne :.....                                     | 25 |
| 1.7 Chromatographie sur couche mince (C.C.M) :.....                           | 27 |
| 1.8Evaluation de l'activité anti-oxydante d'extrait de plantes : .....        | 28 |
| 1.9 Étude de l'Activité Anti-hémolytique :.....                               | 29 |
| 1.10 Evaluation de l'activité antimicrobienne :.....                          | 31 |
| 1.Résultats et discussion :.....                                              | 36 |
| 1.1. Extraction des saponines : .....                                         | 36 |
| 1.2. Séparation chromatographique sur colonne : .....                         | 37 |
| 1.3. Analyse des fractions par chromatographie sur couche mince (CCM) :.....  | 39 |
| 1.4. Évaluation de l'activité antioxydant par la méthode DPPH sur CCM : ..... | 41 |
| 1.5. Mesure spectrophotométrie de l'activité antioxydant : .....              | 42 |
| 1.6. Activité anti-hémolytique :.....                                         | 43 |
| 1.6.1. Activité anti-hémolytique de la fraction F3 :.....                     | 43 |
| 1.6.2. Activité anti-hémolytique de la fraction F7 :.....                     | 45 |
| 1.6.3. Comparaison entre les fractions F3 et F7 :.....                        | 47 |
| 1.7. Activité antimicrobienne des fractions d' <i>A.articulata</i> .....      | 47 |
| Conclusion.....                                                               | 48 |
| Références bibliographiques .....                                             | 51 |

---

# Introduction

---

Durant des siècles, les communautés humaines utilisent les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures, de génération en génération, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences simples en s'efforçant quand ils le pouvaient de les consigner par écrit (**Mounkaila et al., 2017**). Le règne végétal a toujours représenté une source importante de molécules bioactives à l'exemple des composés phytochimiques, ce qui permet aujourd'hui d'affirmer qu'environ 25 % des médicaments modernes sont des métabolites dérivés de plantes ou des composés synthétisés à partir de la structure chimique de ces dernières et qu'environ 60 % des médicaments anticancéreux sont des substances phytochimiques (**Newman et Cragg; 2020**).

Malgré les progrès de la pharmacologie moderne, les plantes médicinales continuent d'occuper une place importante dans la thérapeutique grâce à leur richesse en principes actifs naturels et à leur rôle comme source inépuisable de remèdes traditionnels. Cette activité biologique est principalement liée à la production d'une grande diversité de métabolites secondaires, qui assurent chez les plantes des fonctions de défense contre les herbivores, les agents pathogènes et les plantes concurrentes, tout en participant aux mécanismes de signalisation., ces composés constituent la base scientifique de l'utilisation traditionnelle et contemporaine de nombreuses espèces végétales et de leurs dérivés dans la prévention et le traitement de diverses affections, notamment les maladie (**Wink, 2015**)qui sont susceptibles d'attirer l'attention des pharmacologues et des chercheurs en lutte biologique pour une confirmation critique et scientifique plus approfondie (**Hammami et al., 2023**).

D'après une estimation de l'OMS, sur la population du globe, il y en a peut-être 80 % qui ont essentiellement recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire leurs besoins en soins de santé primaires et l'on peut présumer sans grand risque d'erreur en utilisant des extraits de plantes ou leurs principes actifs (**Ekor, 2014 ; OMS, 2019**).

Notre étude porte sur une plante très fréquente en Algérie, « *Anabasis articulata* », appartenant à la famille des Amaranthaceae (anciennement classée parmi les Chenopodiaceae). Cette famille regroupe plusieurs genres et de nombreuses espèces adaptées aux milieux arides et sahariens, largement réparties dans les régions désertiques et semi-désertiques du monde (**Trabelsi et Kherraze, 2020**)

L'objectif de ce travail consiste à isoler les saponines à partir de la plante par chromatographie sur colonne, en vue de séparer les molécules. Les fractions les plus actives

seront retenues pour une évaluation de l'activités anti-hémolytique, dans le but d'apprécier leur potentiel biologique.

Dans la première partie, nous aborderons une synthèse bibliographique sur la plante *A. articulata*.

La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale qui décrit les techniques d'extraction et les méthodes d'évaluation des activités.

La troisième partie consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion soulignant leur importance.

Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives.

---

## **Synthèse bibliographique**

---

### 1. Présentation de la plante *A. articulata* :

Le genre *Anabasis* suscite un intérêt croissant au sein de la communauté scientifique en raison de ses particularités biologiques et de la diversité de ses métabolites secondaires à activité biologique.

*A. articulata* appelée « Remet » en arabe, est une plante sauvage qui occupe une place importante en médecine traditionnelle. La population locale l'utilise principalement contre le diabète, la fièvre, les céphalées et des affections cutanées comme l'eczéma (**Ndem et al., 2014**).

Dans plusieurs pays (Algérie, Syrie, Égypte et Irak), elle est couramment employée en médecine occidentale pour traiter l'asthme, la fièvre, l'eczéma et les infections rénales (**Khamees et al., 2020**), ainsi que sous forme de plâtre contre la gale (**Nouidjem et al., 2021**). Ses rameaux contiennent de nombreuses molécules actives susceptibles d'avoir plusieurs effets pharmacologiques (**Khamees et al., 2019**). Cette espèce est également reconnue comme remède antidiabétique (**Kambouche et al., 2011**) et possède des propriétés cholinergiques (**Tilyabaev et Abduvakhabov, 1998**). Les parties aériennes, utilisées en décoction ou en cataplasme, servent à soigner les dermatoses, l'eczéma, les maux de tête et la fièvre et les maladies de la peau, comme les démangeaisons, (**Hammiche et Maiza, 2006**). Selon des renseignements recueillis auprès de la population de Hassi rmel, il s'est avéré qu'*A. Articulata* est utilisée contre le cancer du sein, en la mélangeant avec d'autres plantes, la consommation de ce mélange avec un produit laitier comme le yaourt donne un meilleur résultat que sa consommation avec du miel pour atténuer son amertume. (**BEN MENNI, 2022**), Ainsi que la plante entière a été utilisée pour traiter l'hypertension (**El-Shabasy, 2016**).

#### a. Description botanique de la plante :

*A. Articulata* est une plante endémique saharienne (**Ozenda, 2004**), halophile, c'est un arbuste, elle mesure 20 à 40cm (**Al-Shalmani et Abdellatif, 2013**).

Les rameaux articulés vert-pâle presque blanchâtre surtout sur le sec, à articles épais à peine dilatés vers le haut en deux feuilles très courtes. Les fleurs blanches sont isolées à l'aisselle de chaque feuille. Le fruit est entouré par trois ailes dues à la dilatation de trois des cinq sépales. Elle est commune dans les sols pierreux de tout le Sahara, jusqu'au Sahara méridional (**Ozenda, 2004**).



**Photo1: Photo originale prise à Mecheria le 23/02/2026**

**b.Position systématique de la plante :**

La classification d'*A. Articulata* a été faite par (Quezel et Santa, 1963 ; Dupont et Guignard, 2007).

- Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes.
- Sous embranchement : Angiospermes.
- Classe : Eudicots.
- Sous classe : Pré-astéridées.
- Ordre : Caryophyllales.
- Familles : Amarantacées.
- Genre : *Anabasis*.
- Espèce : *A. articulata* Moq .(Forsk).

- Noms vernaculaires : Belbel, Djell (**Quezel et Santa, 1963**), Ajrem et Baguel (**Kherraze et al., 2010**) et Remt en arabe.

## 2. Les Travaux antérieurs d'*A. articulata* :

### 2.1 Les Alcaloïdes :

Les **alcaloïdes** sont des métabolites secondaires végétaux azotés, basiques, regroupant plus de 12 000 composés et classés selon leur biosynthèse ou leur structure (**Croteau et al., 2000 ; Pillet, 2011**). Leur rôle est surtout défensif contre herbivores et pathogènes, représentant moins de 10 % du poids sec. (**Mann, 1994 ; Harborne & Herbert, 1995 ; Kutchan, 1995 ; Bhat et al, 2005**) Ils ont une grande importance pharmacologique (anticancéreux, analgésiques, antipaludiques, etc.), constituant une source majeure de médicaments. (**Muniz, 2006 ; Koné, 2009**)

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *A. articulata* contient différents alcaloïdes biologiquement actifs. Une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) réalisée sur les parties aériennes de la plante a permis d'identifier plusieurs alcaloïdes appartenant à différentes familles chimiques, notamment les tétrahydroisoquinolines, les phényléthylamines et les alcaloïdes indoliques. Ces composés ont montré des activités antioxydants et anti-inflammatoires significatives dans des essais in vitro et in vivo, suggérant leur potentiel pharmacologique dans la prévention de certaines maladies liées au stress oxydatif et à l'inflammation (**Boutrif et al., 2024**).

D'autres travaux consacrés au genre *Anabasis* indiquent également la présence d'alcaloïdes caractéristiques tels que l'anabasine, l'anabasamine, la lupinine et la jaxartinine. Ces molécules sont connues pour leurs activités biologiques variées, notamment antimicrobiennes et cytotoxiques, ce qui explique l'utilisation traditionnelle de cette plante dans la médecine populaire dans les régions arides d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient (**Gismondi et al., 2019**).

D'autres travaux consacrés, une quantification des alcaloïdes a également été rapportée, avec une teneur estimée à  $2,86 \pm 0,00$  mg EAA/g de matière sèche (milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche) (**Benhammou et al., 2013**).

### 2.2 Les polyphénols :

Les **polyphénols** sont des métabolites secondaires végétaux (plus de 8000 composés) caractérisés par au moins un noyau aromatique hydroxylé, incluant flavonoïdes, tanins et acides phénoliques. (Bruneton, 1993 ; Harborne, 1993 ; Mompont et al., 1998 ; Hannebelle et al., 2004). Ils jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes contre stress, pathogènes et herbivores (Marchix et al., 2005 ; Lattanzio & Day, 2009). Chez l'homme, ils possèdent des propriétés antioxydantes impliquées dans la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers.

D'autres études ont également confirmé que les extraits de *A. articulata* contiennent des concentrations importantes de polyphénols et présentent une activité antioxydante notable ainsi que des effets anti-inflammatoires dans différents modèles expérimentaux, soutenant l'utilisation traditionnelle de la plante dans le traitement de diverses affections inflammatoires et métaboliques.

### 2.3 Les flavonoïdes :

Les **flavonoïdes** sont une classe majeure de polyphénols présents dans divers organes des plantes (feuilles, fleurs, fruits, etc.) sous forme aglycone ou glycosides, et responsables de nombreuses colorations (Middleton & Kandaswami, 1993 ; Bouttis, 2004). Ils assurent chez les plantes une protection contre les UV, les pathogènes et participent à l'attraction des pollinisateurs. Chez l'homme, ils présentent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

Les flavonoïdes constituent un groupe important de polyphénols présents dans *A. articulata*. Des analyses phytochimiques ont montré que les extraits de cette plante renferment une quantité notable de flavonoïdes, qui participent aux propriétés antioxydantes observées et jouent un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres et dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs (Benzineb et al., 2019).

Plusieurs études ont démontré que la richesse en flavonoïdes de *A. articulata* contribue également à ses effets biologiques, notamment ses activités anti-inflammatoires et neuroprotectrices potentielles, ce qui pourrait expliquer certaines de ses applications en médecine traditionnelle dans les régions sahariennes (Benhamou, 2012 ; Benzineb et al., 2019).

### 2.4 Les tanins :

Les **tanins** sont des composés phénoliques hydrosolubles (500–3000 Da) capables de précipiter les protéines et alcaloïdes, présents notamment dans les fruits, le thé et le vin (**Bate-Smith & Swain, 1962**). Ils jouent un rôle important dans la **défense des plantes** contre herbivores et pathogènes. Ils se divisent en **tanins hydrolysables** et **tanins condensés (proanthocyanidines)**, utilisés historiquement pour le tannage du cuir (**Canon, 2010**).

Les tanins font également partie des composés phénoliques identifiés dans *A. articulata*. Les analyses phytochimiques ont révélé que les extraits de la plante contiennent des quantités appréciables de tanins, qui contribuent aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la plante. Ces composés sont connus pour leur capacité à précipiter les protéines et à inhiber la croissance de certains micro-organismes pathogènes (**Benzineb et al., 2020**).

La présence de tanins dans *A. articulata* pourrait également jouer un rôle dans les mécanismes de défense de la plante contre les herbivores et les infections microbiennes, ce qui explique en partie ses propriétés pharmacologiques observées dans plusieurs études expérimentales (**El Hacı et al., 2024**).

### 2.5 Les saponines :

Les saponosides (saponines) sont des hétérosides naturels à forte masse moléculaire, de nature stéroïdique ou triterpénique, caractérisés par leurs propriétés tensioactives et moussantes (**González-Cas trén et al., 2012**). Ils possèdent souvent une activité hémolytique et sont utilisés comme précurseurs dans la synthèse de médicaments stéroïdiens. On distingue les saponosides stéroïdiques (monocotylédones, C27) et triterpéniques (dicotylédones, C30) (**Yarnell, 2007 ; Bruneton, 2009 ; Osbourn, 2010**).

Les saponosides constituent une classe importante de métabolites secondaires identifiés chez *A. articulata*. Des travaux phytochimiques ont mis en évidence la présence de glycosides saponiques dans cette plante depuis les années 1960. L'extraction hydroalcoolique des parties aériennes a révélé une teneur de  $2,8 \pm 0,3\%$  en saponines totales, avec identification de saponines triterpéniques de type oleanane par CCM et HPLC. Ces composés sont connus pour leurs propriétés biologiques variées, notamment leurs effets antimicrobiens (MIC = 32-64 µg/ml contre *Staphylococcus aureus*), anti-inflammatoires et cytotoxiques (**Maatalah et al., 2012**).

Ces composés sont reconnus pour leurs diverses activités biologiques, notamment leurs effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et cytotoxiques, ce qui contribue aux propriétés pharmacologiques de l'espèce. Ainsi, la présence de saponines pourrait expliquer en partie les activités thérapeutiques attribuées à *A. articulata* dans la médecine traditionnelle saharienne. Les saponines purifiées ont montré une activité hémolytique significative (HR50 = 45 µg/ml sur érythrocytes humains) et une cytotoxicité sélective contre les lignées cancéreuses HeLa (IC50 = 28,6 µg/mL) et MCF-7 (IC50 = 35,2 µg/mL), tout en préservant les cellules saines Vero (CC50 > 100 µg/mL). Ces résultats valident l'usage traditionnel contre infections cutanées et tumeurs bénignes (**Abdelmoumene et al., 2025**).

### 2.6 Extrait méthanolique brut :

L'extrait méthanolique brut d'*A. articulata* présente une richesse importante en métabolites secondaires, notamment en composés phénoliques, flavonoïdes et alcaloïdes. Une forte teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes a été mise en évidence par spectrophotométrie UV-visible (**Benzineb, 2020**).

Sur le plan qualitatif, cet extrait contient plusieurs alcaloïdes de type tétrahydroxyisoquinoléine, incluant la salsolidine, la N-méthylisosalsoline, l'isosalsoline et la carnégine, ainsi que des indoles tels que la tryptamine et la méthyltryptamine. Il renferme également des O-glycosides, diglycosides et triglycosides dérivés de l'isorhamnetine (**Benzineb, 2020**).

### 2.7 Extrait aqueux :

Les extraits aqueux d'*A. Articulata* montrent généralement une teneur plus faible en polyphénols et en flavonoïdes par rapport aux extraits méthanoliques. Cependant, ils contiennent d'autres familles de composés bioactifs, notamment des saponines ( $2,1 \pm 0,4\%$ ), polysaccharides et acides phénoliques très polaires.

L'analyse HPLC-DAD a identifié 14 acides phénoliques (acide gallique 12,3 µg/g, acide caféique 8,7 µg/g) et 7 flavonoïdes (quercétine 5,2 µg/g, rutine 9,1 µg/g), avec une activité antioxydante DPPH de 65% à 1 mg/ml (**Ben Menni, 2022**).

### 3. Généralités sur les saponines :

#### 3.1 Définition

Le nom saponine ou saponoside dérive du mot latin *sapo* qui veut dire « savon ». Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques, fréquemment rencontrés chez les végétaux supérieurs en particulier chez les Dicotylédones (racines, fruits, écorces, tiges, feuilles ou graines), mais sont synthétisés également par certains animaux marins tels que les étoiles de mer (**Boutaghane, 2013**)

Ces composés ont la particularité de former, par agitation avec de l'eau, des mousses stables tout comme les savons qui évoque le caractère moussant de leur solution aqueuse. Ce pouvoir tensio-actif est dû au caractère amphiphile des molécules, à la fois lipophile (la partie aglycone ou génine) et hydrophile (la partie osidique) (**Hopkins, 2003**).

Les saponosides sont des composés, pour la plupart, très polaires et sont souvent retrouvés sous forme de mélanges complexes dans la plante. Ils possèdent en outre un large spectre de propriétés biologiques et pharmacologiques (**Boutaghane, 2013**)

Doués de propriétés mouillantes, détergentes, solubilisantes, dispersantes, émulsionnantes et généralement moussantes, ces « tensioactifs naturels » représentent les constituants principaux de plusieurs produits pharmaceutiques et cosmétiques. (**Khenaka, 2011**)

#### 3.2 Composition des saponosides :

Les saponosides sont des glycosides à poids moléculaire élevé (600 à 2000 Daltons), elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe communément appelée génine liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Khenaka, 2011**) Les différents hydroxyles de ces molécules, que ce soit au niveau de la génine ou de la partie osidique peuvent aussi être estérifiés par les acides organiques. (**Arrif, 2009**)

Le grand nombre de structures décrites dérive d'un nombre réduit de génines. La variabilité des structures est essentiellement due aux nombreuses combinaisons possibles des unités osidiques, acylées ou non.

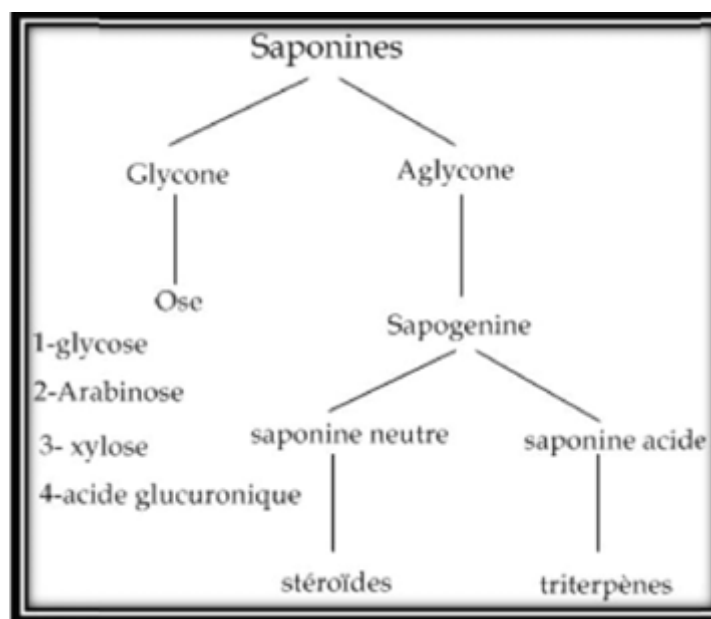


**Figure 1:Schéma de la composition des saponines**

#### **a. Partie aglycone :**

Les génines (ou sapogénines) forment la partie aglycone des saponines, molécules amphiphiles bien connues pour leurs propriétés détergentes, cette partie peut être un triterpène ou un stérol. Certains auteurs distinguent une troisième catégorie, les génines aminées stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques. **(Leray, 2012).**

##### ✓ **-Les génines triterpéniques :**

Les triterpènes, 4000 composés construits sur plus de 40 squelettes différents, sont une classe de métabolites secondaires, des composés en C<sub>30</sub> issus de la cyclisation du dihydrosqualène ou, plus rarement du squalène lui-même. Presque toujours hydroxylés en 3, les triterpènes présentent une très forte unité structurale.

Les sapogénines triterpéniques sont de loin les plus nombreuses des molécules

pentacycliques, les oléananes et les ursanes étant les deux squelettes les plus communs.**(Bruneton, 2009)**

##### ✓ **. Les génines stéroïdiques :**

Les génines stéroïdiques sont des composés neutres et possèdent toutes un squelette à 27 atomes de carbone qui comportent habituellement six cycles. Compte tenu de la nature spiro du carbone C-22, on désigne couramment ce squelette hexacyclique par le terme de spirostane (figure C). Dans les plantes fraîches, il n'est pas rare que l'hydroxyle en C-26 soit

engagé dans une liaison avec un ose, la structure restant alors pentacyclique : on parle dans ce cas de furostane. **(Bruneton, 2009)**

Leur structure chimique est similaire à celle de nombreuses hormones humaines et dérive exclusivement de la structure du stérane. Ces sapogénines possèdent toujours une fonction alcool secondaire en 3, susceptible de former une liaison hémiacétalique avec un ose ou un oside. **(Bruneton, 2009)**

### **b. Partie osidique :**

Les unités saccharides qui constituent les saponines sont communes, parmi elles on distingue ; le D-glucose, D-galactose, L-arabinose, L-rhamnose, D-xylose, D-fucose et acide D-glucuronique chez les saponines triterpéniques. Les chaînes oligosaccharidiques, linéaires ou ramifiées, comportent jusqu'à une dizaine d'oses qui constituent la partie sucrée de l'hétéroside. Elles peuvent être liées à la génine par une liaison de type O-hétéroside ou par une liaison de type ester. **(Sofowora, 2010).**

#### 4. Activité antioxydant :

##### 4.1 Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont par définition des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (**Migdal et Serres, 2011**). Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de radicaux libres, les radicaux primaires et les radicaux secondaires (**Favier, 2003**). Les ERO lorsqu'elles sont à faible concentration ont des effets bénéfiques pour la cellule (la phosphorylation des protéines, l'apoptose, etc.). Quand leur production augmente elles deviennent nocives pour les structures cellulaires comme les protéines et les lipides, et génèrent ainsi le stress oxydant (**Togliatto et al., 2017**).

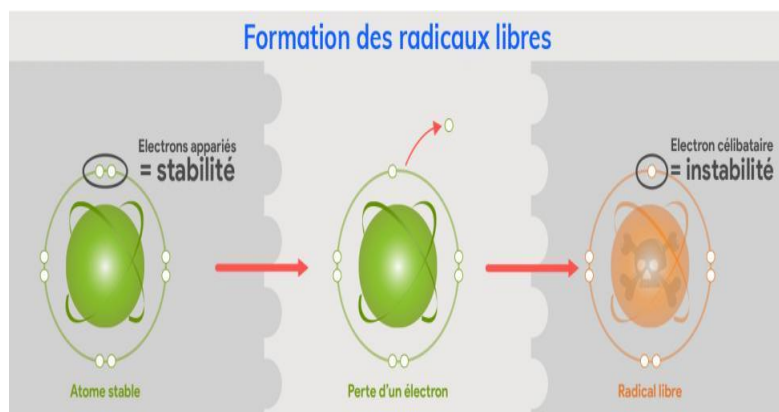


**Figure 2: Formation des radicaux libre (Ghouti et Halbigue, 2019).**

##### 4.2 Le stress oxydant :

Le stress oxydatif ; c'est un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydant de l'organisme. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. Donc c'est ce que l'on appelle le stress oxydatif, celui-ci peut faire la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives), un vieillissement prématuré ainsi que la mort cellulaire programmée ou apoptose (**Belaich et Boujraf, 2016**).

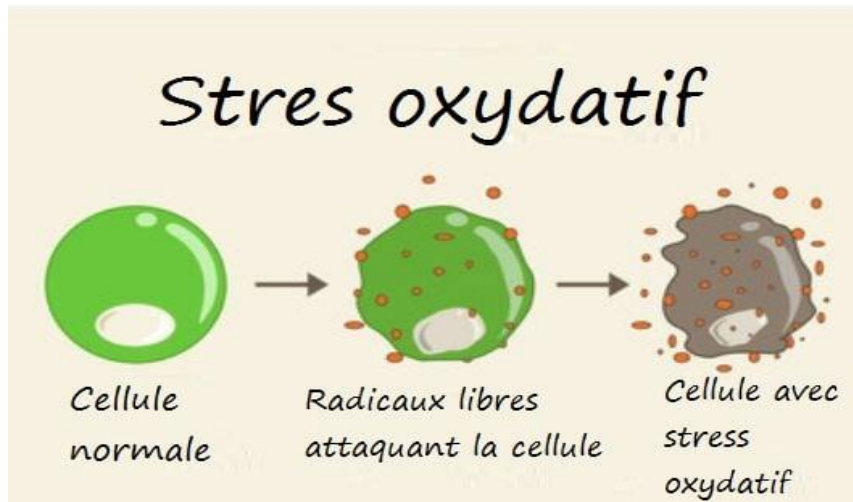


**Figure 3: Représentation schématique du stress oxydative.**

#### 4.3 Antioxydants :

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation. C'est une molécule suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et le neutraliser, réduisant ainsi sa capacité d'endommager. Les antioxydants jouent un rôle dans la prévention des maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, le cancer, le diabète, l'hypertension et la maladie d'Alzheimer (Nimse et Pal, 2015).

#### 4.5 Mécanisme d'action :

Le mécanisme d'action des antioxydants contre les effets néfastes des espèces réactives

Peuvent être comme suit :

- Inhibition de la formation des radicaux libres
- Neutralisation des radicaux libres
- Augmentation du système de défense du corps
- Réparation des dommages résultants de radicaux libres (Liochev, 2013).

### 5. Pouvoir hémolytique :

#### 5.1 Composition de sang :

C'est un fluide corporel dont la fonction principale est de transporter l'oxygène vers les tissus vivants. Il joue également un rôle important dans le système immunitaire. Les cellules sanguines, produites par la moelle osseuse, se divisent en trois types principaux : les globules rouges (érythrocytes) qui représentent environ 99 % des cellules circulantes, les globules blancs (leucocytes) qui n'en constituent qu'environ 1 %, et les plaquettes (thrombocytes). Les globules rouges assurent le transport des gaz grâce à l'hémoglobine ; les globules blancs, qui incluent les granulocytes, lymphocytes et monocytes, sont les acteurs clés de la défense immunitaire ; et les plaquettes sont essentielles pour l'hémostase et la coagulation sanguine (Yiallourous, 2026).

#### 5.2 Les globules rouges (GR) ou érythrocytes :

Il y a environ 4,5 à 5,9 millions de cellules par microlitre de sang chez l'adulte. Ces cellules anucléées ont une forme de disque biconcave, d'un diamètre d'environ 7,5 à 8,5  $\mu\text{m}$  et une épaisseur d'environ 2,5  $\mu\text{m}$ . Leur fonction principale est le transport de l'oxygène des poumons vers les tissus et du dioxyde de carbone des tissus vers les poumons, grâce à l'hémoglobine. Des études récentes montrent également que les globules rouges jouent un rôle dans la réponse immunitaire et la régulation de la vasodilatation (Pretini et al., 2019 ; Kuhn et al., 2021).

#### 5.3 Les globules blancs ou leucocytes :

Les globules blancs sont des cellules du système immunitaire et jouent principalement un rôle dans la défense de l'organisme contre les agents agresseurs, qu'ils soient endogènes ou exogènes (Nichols et al., 2020). Ce sont de véritables cellules mémoires qui assurent la surveillance immunitaire au niveau des organes (Paul et Ohashi, 2020). Il existe trois grandes classes de globules blancs : les granulocytes (polynucléaires), les monocytes et les lymphocytes (Boccuni et Ley, 2022).

#### 5.4 Les plaquettes :

Les plaquettes sanguines au repos présentent une morphologie discoïde avec un volume moyen compris entre 8 et 10 fL. Environ deux tiers de la population plaquettaire circulent dans le sang périphérique à une concentration variant de 150 à 400  $\times 10^9$  /L, tandis qu'une fraction est stockée au niveau splénique. Leur renouvellement est rapide, avec une

durée de vie moyenne estimée entre 7 et 10 jours, après laquelle elles sont éliminées principalement par les macrophages du foie et de la rate (**George & Aster, 2024**).

Les plaquettes jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de la coagulation : en cas de lésion de l'endothélium vasculaire, elles sont capables d'adhérer au collagène exposé (**Theml et al, 2006**), des travaux récents ont également mis en évidence leur participation à des processus immunitaires et inflammatoires à travers la libération de médiateurs biologiques et leurs interactions avec les cellules immunitaires (**Mack et al., 2024**)

### 5.5 Hémolyse :

L'hémolyse vient des mots grecs : haema : sang et lyse : perturbation (**Beris et Picard, 2015**).

L'hémolyse, consistant en la destruction des globules rouges, est un phénomène irréversible lié au vieillissement de ces cellules, constituant ainsi une forme de mort physiologique appelée sénescence (**Vieira et al., 2012**). Ce processus de vieillissement entraîne

Une diminution progressive de l'équipement enzymatique des globules rouges, car ils ne se renouvellent pas. Cette diminution conduit à une moindre protection de la membrane cellulaire et de l'hémoglobine contre l'oxydation, ainsi qu'à la présence d'hémoglobine oxydée (**Kato et al., 2017**).

Dans un état d'équilibre, l'hémolyse physiologique assure l'élimination quotidienne des globules rouges les plus âgés, tandis que la moelle osseuse libère une quantité équivalente de nouveaux globules rouges dans la circulation sanguine (**Lippi et Plebani, 2019**).

## 6. Généralité sur les bactéries

Ce sont des micro-organismes procaryotes qui ne possèdent pas de vrai noyau mais un appareil nucléaire simplifié, d'une taille de l'ordre de un à quelques dizaines de microns, constituant d'un système nucléaire rudimentaire et d'une paroi contenant des mucopolysaccharides originaux, cette fonctionnalité les distingue des autres organismes supérieurs tels que : champignons, algues, protozoaires. Elles ont été découvertes à la fin du XVII<sup>ème</sup> siècle par le naturaliste hollandais Anthony Van Leeuwenhoek, qui a inventé la microscopie. Certaines sont inoffensives, d'autres sont très pathogènes. Elles ont des propriétés antigéniques. (**Delarras, 2014**)

Les différentes espèces microbiennes croissent dans des conditions physico-chimiques et en fonction de la nourriture. Elles sont ubiquistes et peuvent-être mobiles ou immobiles (des sphères, des bâtonnets, des spirilles), vues seulement sous un microscope optique, à l'état frais ou après coloration tandis que les détails de leur structure ne sont visibles que sous un microscope électronique. Il existe deux type selon la structure biochimique qui sont établis par coloration de gram : les bactéries gram positif (+) et les bactéries gram négative (-).**(Gourreau & Bendali, 2008)**

### 6.1 Activité antimicrobienne :

Autours des dernières années, l'augmentation des infections qui concerne un large Éventail des microorganismes (levure, bactérie, champignons) constitue une sérieuse menace pour la santé publique et capable d'engendrer les différentes maladies les plus fatales et les épidémies les plus Répandues et observées dans le milieu hospitalier qu'en milieu communautaire. Près d'un Quart des morts dans le monde résultent de ces infections bactériennes, qui sont devenues le Sujet du débat national et international.**(WHO, 2016)** .Cependant, le remède de ces infections sebase principalement sur l'usage des antibiotiques qui combattent d'une manière sélective, certaines voies métaboliques des bactéries **(veyssiere,2019)** .Hélas, la prescription à grande Échelle et la surconsommation de ces médicaments entraînent l'apparition des bactéries résistantes et multi résistantes, **(Bourrillon et al., 2004)** .notamment les bactéries à Gram négatif, en raison de leur enveloppe cellulaire complexe et sophistiquée à deux membranes. **(Zgurskaya et al., 2015)**.

Cela indique l'importance du développement de nouvelles substances bioactives sûres, efficaces et plus fiables que les médicaments existants, des alternatives puissantes qui n'ont aucun effet Secondaire. **(Boucher et al., 2013)**.

Compte tenu de ce qui précède, la MT a la possibilité de lutter contre la résistance des médicaments, surtout à base des végétaux puisqu'ils constituent des substances qui à faible concentration inhibent et empêchent le développement des microorganismes ou les tue. Ils sont toujours constitués d'une source d'inspiration dans les recherches médicales. C'est l'un des défis les plus importants pour la santé populaire. **(Gupta & Birdi, 2017)**.

### 6.2 Agent antimicrobienne :

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections. Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides ; lorsque la substance détruit totalement les bactéries (CUE,2002)

---

---

## **Matériel et méthode**

---

---

### 1. Matériel et méthode :

#### 1.1 Récolte du matériel végétal :

Ce modeste travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche des Produits Naturels LAPRONA de l'Université de Tlemcen.

La plante a été récoltée le 23 Mars 2026 dans un secteur de la région de Macheria (wilaya de Naâma) en Algérie, La plante a été identifiée par le laboratoire d'écologie végétale, de l'Université de Tlemcen, par le Pr Hassani.

#### 1.2 Site d'échantillonnage :

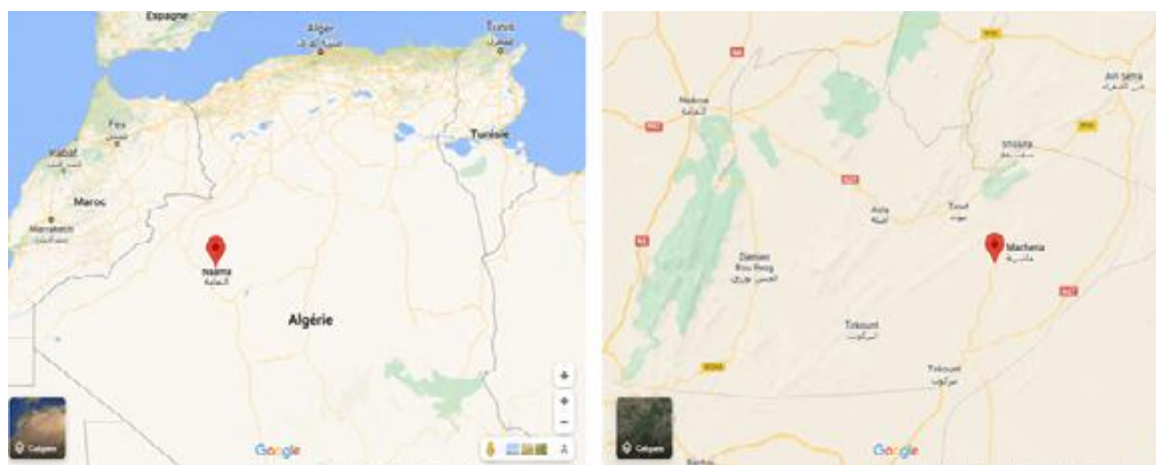


**Figure 4: Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante.**  
(Macheria, Wilaya de Naâma, Algérie)

#### 1.3 Préparation du matériel végétal :

Au laboratoire c'est la partie aérienne d'*A. articulata* qui a servi aux différentes analyses. La plante a été lavée, séchée à l'abri de la lumière pendant quinze jours avant utilisation. Cette opération du séchage est suivie par le broyage qui a été fait par un mortier pour éviter la dégradation des composés chimiques par la chaleur du broyeur.



Figure 5: Etapes de préparation de la poudre des parties aériennes de plante.

### **1.4Extraction des saponines : (Kambouch et al., 2011)**

#### **a. Dégraissage à l'hexane :**

L'extraction a été effectuée par macération, en laissant 50 g de poudre de la plante en contact avec 100 ml d'hexane pendant 24 heures à l'abri de la lumière, afin d'extraire et d'éliminer les composés lipophiles (matières grasses, pigments, etc.) susceptibles d'interférer avec l'extraction des saponines. Après la période de macération, le mélange a été filtré afin de récupérer le résidu végétal.

#### **b. Extraction au méthanol**

Le résidu végétal obtenu a ensuite été soumis à une seconde macération en présence de 100 ml de méthanol. Après filtration, l'extrait méthanolique a été conservé dans un récipient hermétiquement fermé et à l'abri de la lumière afin de préserver les composés bioactifs.

#### **c.Evaporation de l'extrait :**

L'extrait méthanolique a été concentré par évaporation pendant 30 minutes afin d'éliminer le solvant organique. Le résidu obtenu a ensuite été repris dans 25 ml d'eau distillée chaude, permettant la solubilisation des composés extraits.

#### **d.Extraction liquide-liquide :**

L'extrait brut obtenu précédemment est introduit dans une ampoule à décanter, puis soumis à une extraction liquide-liquide par addition de 10 ml de *n-butanol*. Le mélange est agité vigoureusement afin d'assurer une bonne interaction entre les phases, puis laissé au repos jusqu'à séparation complète. La phase organique (butanolique) est soigneusement récupérée. Cette opération a été répétée 2 fois afin d'extraire le maximum de saponines.



**Photo2: Première décantation de l'extrait.**



**Photo3: Deuxième décantation de l'extrait**

### **e.Évaporation du solvant :**

La phase butanolique récupérée est transférée dans un ballon adapté, La masse du ballon vide est déterminée au préalable, Le solvant est ensuite éliminé par évaporation sous pression réduite (évaporateur rotatif), Après évaporation complète, le ballon est à nouveau pesé afin de déterminer la masse de l'extrait sec.



**Photo 4: Evaporation de solvant.**

Le résidu sec obtenu après évaporation est dissous dans 4 ml de méthanol afin d'obtenir une solution homogène, cette étape permettant de solubiliser et de récupérer la plus grande quantité possible de saponines. La solution méthanolique est ensuite soigneusement transférée dans des tubes d'hémolyse.

Enfin, les échantillons sont conservés au réfrigérateur ( $\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) jusqu'à leur utilisation.

### f. Calcul du rendement :

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction (Cheurfa et al., 2013).

Le rendement d'extraction est estimé par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = (P / P_0) \times 100$$

R : le rendement en %.

P : poids en gramme de l'extrait sec résultant (g).

P<sub>0</sub> : poids en gramme du matériel végétal de départ (g).

### 1.5 Méthodes de séparations chromatographiques :

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et leur désorption sur la phase stationnaire, soit de leur différente solubilité dans chaque phase.

Afin de séparer, purifier et identifier les saponines présentes dans l'extrait végétal, deux techniques chromatographiques ont été utilisées : chromatographie sur colonne (CC) et la chromatographie sur couche mince (CCM).

### 1.6 La chromatographie sur colonne :

#### Principe :

Cette technique a été réalisée en 1906 par le botaniste **Mikhail tswelt**, et jusqu'à nos jours elle est appliquée dans nos laboratoires (Madi., 2009)

Cette étude repose sur le phénomène d'adsorption, dont les molécules sont entraînées vers le bas de la colonne à des vitesses variables, selon leur affinité pour l'absorbant et leur solubilité dans l'éluant, les produits apolaires sont élués les premiers.

La chromatographie sur colonne est une méthode de séparation des constituants d'un mélange par migration dans un dispositif constitué de deux phases :

La phase stationnaire : C'est le support solide, qui est la colonne contenant une quantité calculée de gel silice préparée sous forme de bouillie dans le moins polaire des solvants utilisés.

La phase mobile : Représente le solvant d'élution utilisé qui est en générale un mélange de deux solvants, l'un polaire et l'autre apolaire.

### **Protocole :**

La phase stationnaire : elle est constituée du gel de silice utilisé comme support solide dans la colonne. Celui-ci a été préparé sous forme de suspension dans le chloroforme puis introduit dans la colonne après la mise en place d'un tampon de coton suivi d'une couche de sable afin d'assurer une bonne répartition du support et d'éviter les perturbations lors de l'élution.

L'extrait brut a été préalablement adsorbé sur le gel de silice ce mélange conduit à l'obtention d'une poudre sèche et homogène qui introduit délicatement au sommet de la colonne.

La phase mobile : elle correspond aux solvants d'élution utilisés pour entraîner les composés à travers la colonne. L'élution a été réalisée à l'aide de mélanges chloroforme/méthanol. Les gradients utilisés étaient les suivants :

Gradient 1 : 95 : 5 Chloroforme /Méthanol

Gradient 2 : 90 : 10 Chloroforme /Méthanol

Gradient 3 : 80 : 20 Chloroforme /Méthanol

Gradient 4 : 70 : 30 Chloroforme /Méthanol.

À la fin de l'élution, les fractionsobtenues ont été récupérées dans des tubes distincts pour les analyses ultérieures.

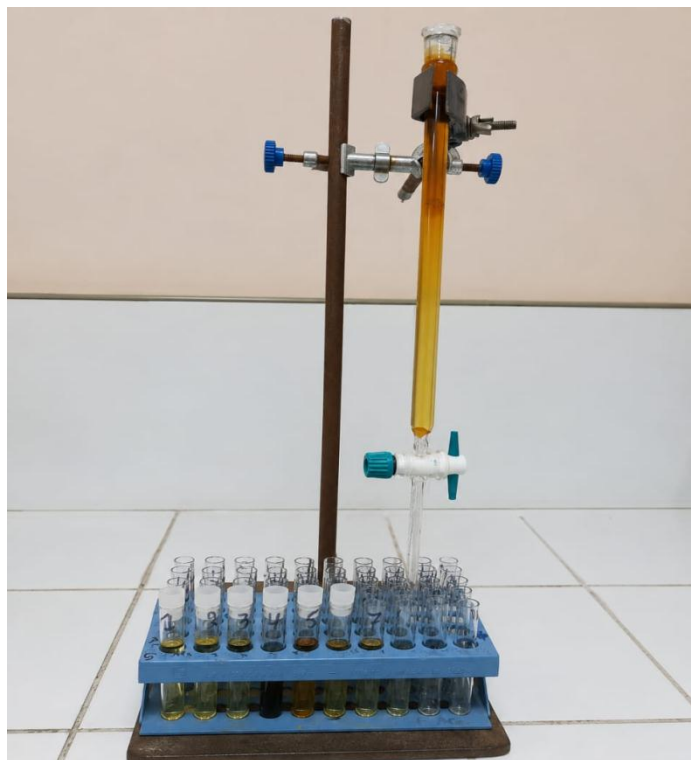


**Photo 5: Séparation des fractions par chromatographie sur colonne.**

### **1.7 Chromatographie sur couche mince (C.C.M) :**

#### **Principe :**

La chromatographie sur couche mince (C.C.M) est une méthode rapide de séparation et d'identification des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice.

#### **Protocole :**

La phase stationnaire : est constituée d'une couche mince uniforme de gel de silice déposée sur une plaque en aluminium. Avant utilisation, les plaques chromatographiques ont été activées par chauffage dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure afin de diminuer l'humidité et d'améliorer la qualité de la séparation.

La phase mobile : utilisée comme système d'élution était constituée d'un mélange de chloroforme, méthanol et eau distillée dans les proportions suivantes :

Chloroforme – Méthanol – Eau distillée (65 : 35 : 10).

### Dépôt des échantillons :

A 1 cm du bord de la plaque : Déposer 20µL de l'extrait sur la plaque, sur la ligne de dépôt, à l'aide d'un capillaire.

### Migration :

La plaque préparée est introduite dans la cuve à chromatographique préalablement saturé avec les solvants.

La migration de la phase mobile s'effectue par capillarité à travers la phase stationnaire, permettant ainsi la séparation des constituants selon leur affinité pour les deux phases. La migration a été arrêtée lorsque le front du solvant est arrivé à la ligne d'arrivée. La plaque a ensuite été retirée et séchée pour l'observation des taches chromatographiques.

### 1.8 Evaluation de l'activité anti-oxydante d'extrait de plantes :

#### Test DPPH :

Principe : Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette (forme oxydée) qui absorbe la lumière à 515nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH $\cdot$  est réduit et change de couleur en virant au jaune (forme réduite) sous l'effet des substances antioxydants qui lui cède un proton.

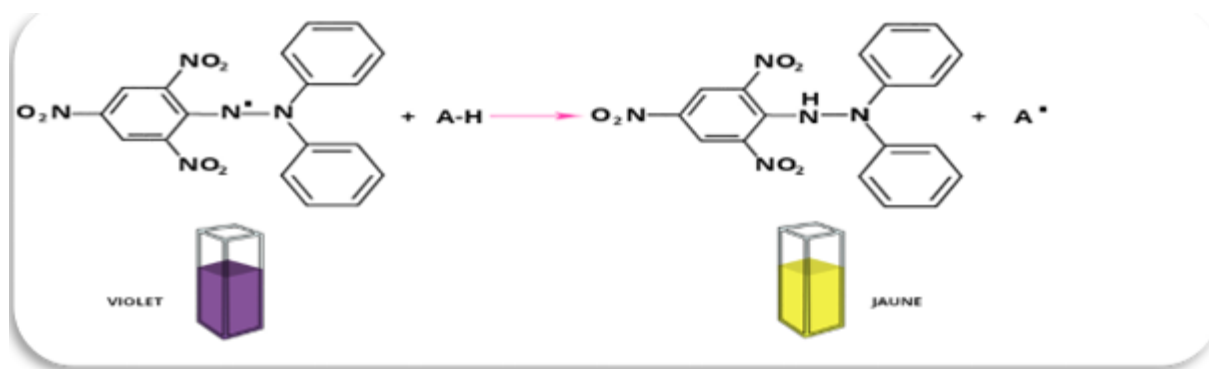


Figure 6: Forme libre et réduite du DPPH (Brand-Williams et al., 1995).

### Protocole :

#### Préparation de la solution DPPH :

L'activité de piégeage des radicaux libres des échantillons a été déterminée par spectrophotométrie par le dosage DPPH, comme décrit dans **Sanchez-Moreno et al. (1998)** avec une légère modification. La forme radicalaire DPPH absorbe à 515 nm mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue. Brièvement, cinquante microlitres de diverses concentrations des extraits dans du méthanol ont été ajoutés à 1.980 mL de solution de méthanol DPPH à 0,025 g/L. Après incubation à température ambiante pendant 30 min, à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 515 nm contre un blanc (sans extrait végétal et sans DPPH). La solution de DPPH sans solution d'échantillon a été utilisée comme témoin.

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition.

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(A_c - A_e) / A_c]$$

**A**<sub>Control</sub> : présente l'absorbance de la solution DPPH en présence du méthanol.

**A**<sub>extrait</sub> : présente l'absorbance de la solution DPPH en présence de l'extrait.

Après el développement de la plaque CCM ,celle-ci été pulvérisée avec une solution de DPPH pour mettre en évidence les composé antioxydants qui apparaissent sous forme de taches jaunes sur un fond violet.

#### 1.9Étude de l'Activité Anti-hémolytique :

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des globules rouges (Gb) induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine.

### **Protocole :**

#### **Préparation de de la solution PBS :**

Pour tester l'effet hémolytique in vitro, nous avons utilisé la méthode de **Henneberg et al. (2013)**

La solution PBS a été préparée avec du  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  a 10mM et  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 1,76 mM dans du sérum physiologique. La solution PBS finale a été obtenue par mélange de volumes égaux (100 ml de chaque solution), puis le pH a été ajusté entre 7,2 et 7,4 avant utilisation.

#### **Préparation de la suspension sanguine :**

Pour cette préparation, on suit les étapes suivantes :

- ✓ Prélèvement du sang à partir un volontaire sain, non -fumeurs, n'ayant pas suivi de médication (pas de traitement anti –inflammatoire) sur un tube EDTA au niveau du laboratoire.
- ✓ Centrifugation à 3000 tour/10 min afin d'éliminer le plasma et les cellules polynucléaires.
- ✓ Elimination du surnageant.
- ✓ Lavage du culot, trois fois, avec la PBS à pH=7,20
- ✓ Une dilution sanguine a été préparée à 1/20.
- ✓ Cinq séries correspondant aux différentes concentrations de l'extrait ont été préparées. Chaque série a été réalisée en triple essai.
- ✓ Dans chaque tube :
- ✓ 20  $\mu\text{L}$  de l'extrait végétal ont été ajoutés ; puis 1980  $\mu\text{L}$  de suspension sanguine diluée ont été incorporés.
- ✓ Préparation le contrôle négative 20ul PBS et 1980ul de suspension sanguine diluée.
- ✓ Préparation le contrôle positive 20ul l'eau distillée avec 1980ul de suspension sanguine diluée.
- ✓ Préparation de blanc 20ul d'extrait avec 1980ul de PBS.
- ✓ Incubation 37 ° C pendant 30 min
- ✓ Centrifugation 3000t pendant 10min
- ✓ L'absorbance du surnageant a été mesurée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre

Expression des résultats : Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{Hémolyse (\%)} = \left[ \frac{\text{absorbance de l'échantillon} - \text{absorbance du contrôle négatif}}{\text{absorbance du contrôle positif}} \right] \times 100$$

Où :  $A_c$  = Absorbance du contrôle

$A_t$  = Absorbance du test.

### 1.10 Evaluation de l'activité antimicrobienne :

#### Souches testées :

Dans le but d'évaluer *in vitro* l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles de *l'A. articulata*, tests antibactériens ont été effectués sur des germes couramment responsables de diverses pathologies. Les bactéries étudiées sont rapportées dans le (tableau 1).

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire pédagogique de microbiologie dans Laboratoire des produits naturels LAPRONA.

**Tableau 1 : Liste des bactéries et levures utilisées dans les essais microbiologiques.**

|          | <i>Microorganisme</i>         | <i>Gram</i> | <i>Code</i> |
|----------|-------------------------------|-------------|-------------|
| Bactérie | <i>Staphylococcus aureus</i>  | Positive    | ATCC 25923  |
|          | <i>Bacillus cereus</i>        |             | ATCC 11778  |
|          | <i>Micrococcus luteus</i>     |             | ATCC 15307  |
|          | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Négative    | ATCC 27853  |
|          | <i>Escherichia coli</i>       |             | ATCC 25922  |
|          | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |             | ATCC 70603  |
| Levures  | <i>Candida albicans</i>       |             | ATCC 10231  |

**ATCC: American Type Culture Collection.**

**Préparation de l'inoculum :**

L'inoculum correspond à une suspension de microorganismesensemencée dans un milieu de culture biologique par inoculation.

- Dans les Bouillon Mueller-Hinton pour les bactéries etBouillon Sabouraud pour les levures, une pré-culture des souches a été réalisée afin de garantir leur croissance.

- Après incubation pendant 18 à 24 h à 37 °C pour les bactéries et 48 h à 30 °C pour les levures, la turbidité a été ajustée au standard de McFarland 0,5 à l'aide d'un colorimètre. Pour cela, de la culture a été ajoutée lorsque la suspension était trop faible, ou du milieu stérile (BMH ou BS) lorsqu'elle était trop concentrée. Les normes correspondent à :
  - $10^8$  UFC/mL pour les bactéries (DO = 0,08 à 0,1 à  $\lambda = 625$  nm)
  - $10^6$  UFC/mL pour les levures (DO = 0,06 à 0,1 à  $\lambda = 530$  nm).
- L'ensemencement a été réalisé dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum (Rahal et al., 2008 ; Vitali et al., 2016).

### Mode d'ensemencement des souches bactériennes :

Les boîtes de Pétri ont été coulées avec une épaisseur de gélose de 4 mm. Elles ont ensuite été placées à l'étuve à 37 °C pendant 30 min avant l'ensemencement afin d'éliminer toute humidité.

- Un écouvillon stérile a été trempé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement contre la paroi interne du tube afin d'éliminer l'excès de liquide.
- L'écouvillon a ensuite été frotté sur toute la surface de la gélose sèche par stries serrées, de haut en bas. Cette opération a été répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque passage, tout en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- L'ensemencement a été terminé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- L'écouvillon a été rechargé à chaque nouvel ensemencement d'une boîte de Pétri (Rahal et al., 2008).

### Bioautographie sur couche mince des fractions saponiques :

Après l'ensemencement des boîtes de Pétri avec les souches bactériennes testées, l'évaluation de l'activité antibactérienne des fractions saponiques a été réalisée par bioautographie sur couche mince. Contrairement à la méthode classique utilisant des disques imprégnés d'extraits, les plaques de CCM portant.

Les différentes taches correspondant aux fractions de saponines ont été directement déposées à la surface du milieuensemencé. Les boîtes ont ensuite été incubées dans des conditions appropriées afin d'observer l'apparition éventuelle de zones d'inhibition autour des taches, indiquant une activité antibactérienne des composés séparés.

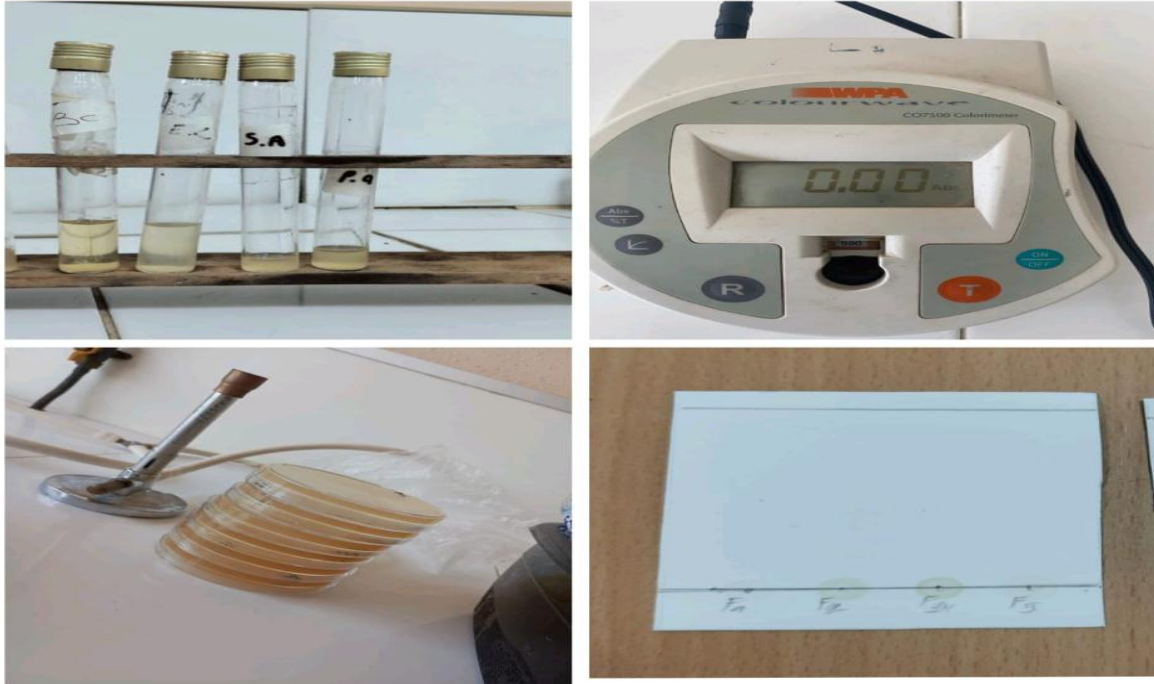


**Photo 6: principale étape de l'activité antimicrobienne.**

### **Incubation :**

Les boîtes ont été incubées :

- à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries.
- à 30 °C pendant 48 h pour *Candida albicans*.

### Lecture des résultats :

La lecture des résultats a été effectuée par la mesure. Les valeurs des  $R_f$  effectués sur des systèmes chromatographiques spécifiques ou conventionnels peuvent si elles sont bien utilisées, apporter beaucoup d'indications. Ce dernier point permet effectivement de classer les composés à analyser selon la nature des substituant présents sur ces squelettes.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

---

---

## Résultats et discussion

---

---

### 1. Résultats et discussion :

#### 1.1. Extraction des saponines :

Après l'extraction méthanolique suivie de l'extraction liquide-liquide au n-butanol, un extrait brut riche en saponines a été obtenu à partir des parties aériennes d'*A. articulata*.

**Tableau 2: Rendement d'extraction des saponines d'*A. articulata*.**

| Masse de poudre (g) | Masse de l'extrait (g) | Rendement (%) |
|---------------------|------------------------|---------------|
| 50g                 | 0,1618g                | 0,32 %        |

Le rendement est dans la dépendance de l'origine géographique, le stade phénologique et les facteurs environnementaux tels que la température, et la qualité du sol (**Bruneton, 1993**).

Le rendement obtenu est de **0,32 %**.

Ce rendement relativement faible peut être attribué à la faible concentration des saponines extractibles dans les parties aériennes d'*A. articulata* ainsi qu'aux pertes pouvant survenir lors des différentes étapes d'extraction, de décantation et d'évaporation. La polarité du méthanol et du n-butanol favorise l'extraction des composés saponosidiques, mais l'efficacité du procédé reste fortement influencée par la nature chimique de la plante et les conditions expérimentales utilisées.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Kambouche et al. (2011)**, qui ont montré que l'extraction des métabolites secondaires d'*A. articulata* dépend fortement du protocole utilisé et du choix des solvants. De plus, **Trease et Evans (2009)** indiquent que les rendements d'extraction des saponines varient considérablement selon l'espèce végétale, l'organe étudié et les méthodes d'extraction employées.

La différence entre notre rendement et ceux rapportés dans certaines études peut être expliquée par plusieurs facteurs, notamment la période de récolte, l'origine géographique de la plante, les conditions climatiques, le stade physiologique du végétal, ainsi que les conditions de séchage et de conservation du matériel végétal (**Cheurfa et al., 2013**).

### 1.2. Séparation chromatographique sur colonne :

La chromatographie sur colonne réalisée sur l'extrait brut a permis d'obtenir 45 tubes après élution progressive avec différents mélanges chloroforme/méthanol de polarité croissante. Cette technique a permis une première séparation des constituants de l'extrait selon leur polarité et leur affinité pour la phase stationnaire constituée de gel de silice.

Les fractions collectées ont ensuite été analysées par chromatographie sur couche mince afin de vérifier leur homogénéité et de regrouper les fractions présentant des profils chromatographiques similaires.



**Photo 7: Tubes collectés après séparation chromatographique Sur colonne de l'extrait brut.**



**Photo 8: Dépôt de différentes fractions obtenues sur la plaque de CCM.**

Après analyses par CCM, les fractions montrant des taches identiques ont été combinées et regroupées dans un même tube.

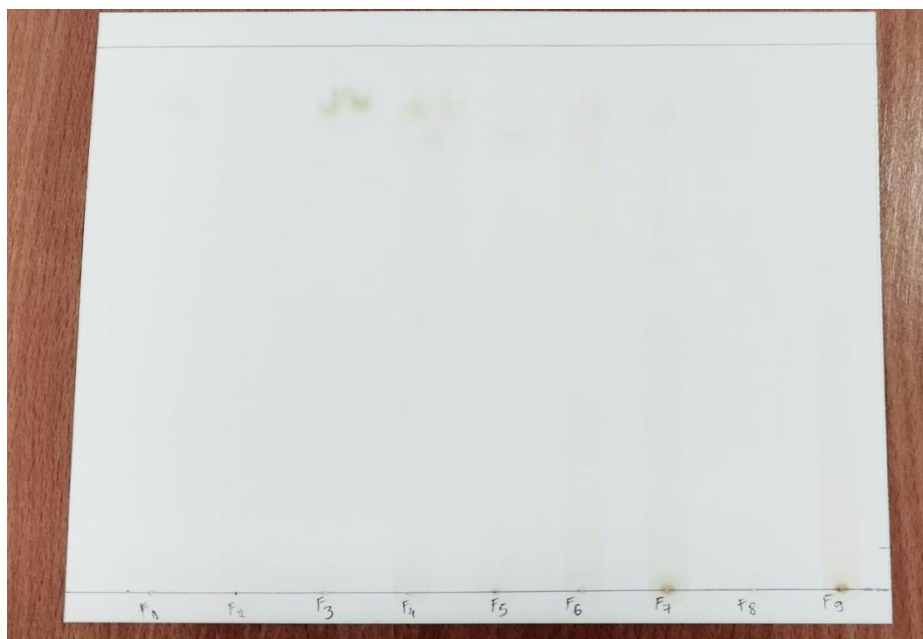


**Photo 9: Les fractions présente les mêmes taches en CCM.**

### 1.3. Analyse des fractions par chromatographie sur couche mince (CCM) :

L'analyse des 45 tubes obtenus par chromatographie sur colonne a été réalisée par CCM. Après migration dans le système éluant chloroforme/méthanol, les plaques ont été observées sous lampe UV.

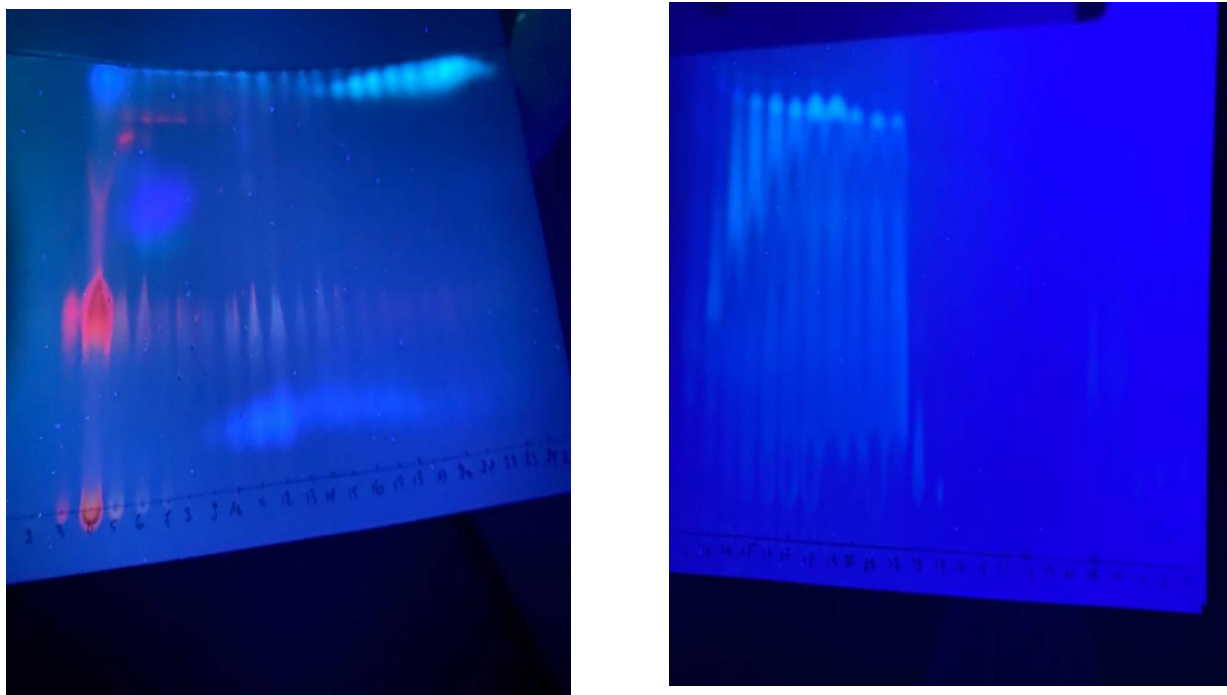


**Photo 10: Observation les plaque CCM sous lampe UV (365).**

L'observation a révélé l'apparition de plusieurs taches bien distinctes, témoignant d'une bonne séparation des composés présents dans l'extrait. Les fractions présentant les mêmes profils chromatographiques, caractérisés par des taches de même couleur et de même position, ont été regroupées.

Le regroupement des fractions a permis de réduire les 45 tubes initiaux en 9 fractions principales, comme présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 3: Regroupement des fractions après analyse CCM.**

| <i>Fraction</i> | <i>Tubes Regroupés</i> |
|-----------------|------------------------|
| F1              | 1+2                    |
| F2              | 3                      |
| F3              | 4                      |
| F4              | 5                      |
| F5              | 6+7+8                  |
| F6              | 9+10 jusqu'à 22        |
| F7              | 23 jusqu'à 33          |
| F8              | 34 jusqu'à 40          |
| F9              | 41 jusqu'à 45          |

Ce regroupement a permis de simplifier les analyses biologiques ultérieures tout en conservant les fractions présentant des caractéristiques chromatographiques homogènes.

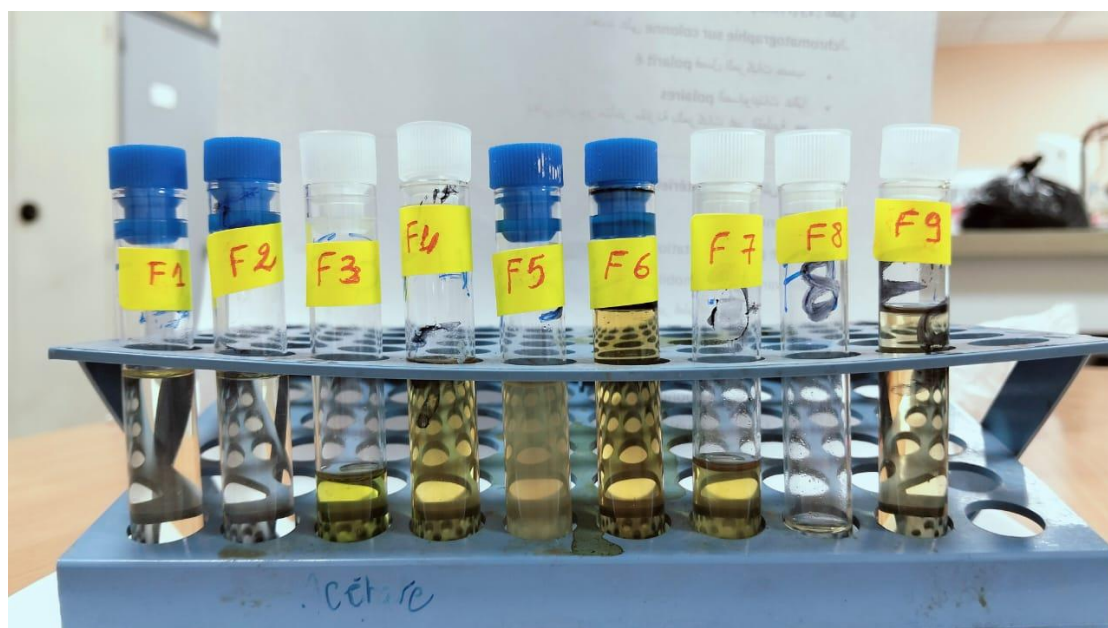


**Photo 11: Photographie des 9 fractions.**

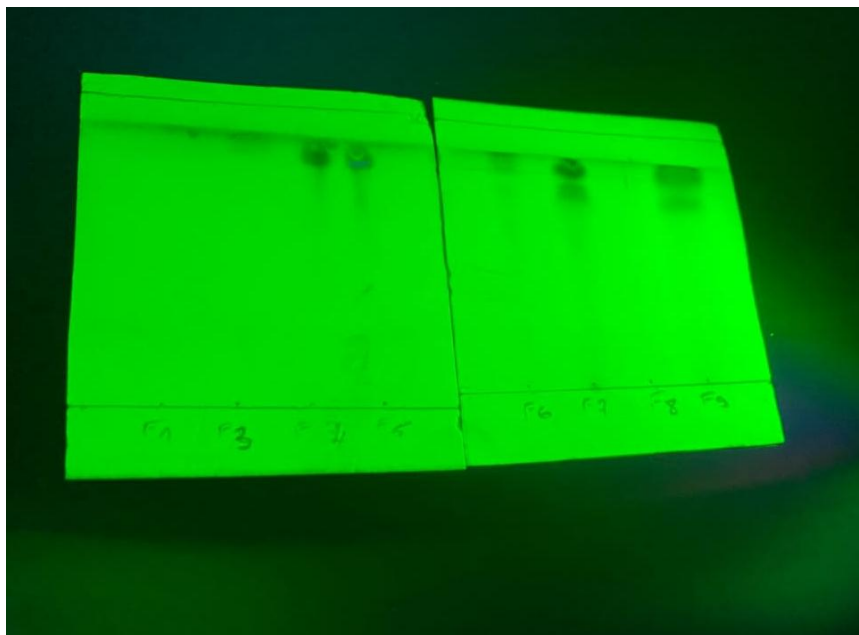


**Photo 12: Observation sous lampe UV 254nm.**

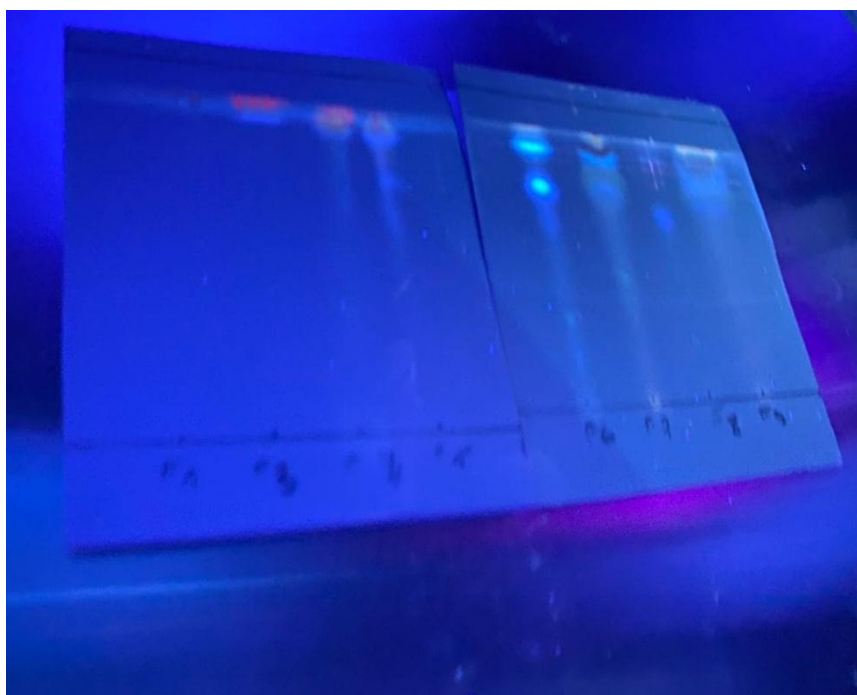


**Photo 13: Observation sous lampe 365nm.**

### **1.4. Évaluation de l'activité antioxydant par la méthode DPPH sur CCM :**

Après révélation, des zones décolorées de couleur jaune sont apparues sur le fond violet caractéristique du DPPH. Ces taches jaunes traduisent la capacité des composés présents dans les fractions à réduire le radical libre DPPH et à exercer ainsi une activité antioxydant.

Parmi les fractions analysées, toutes les fractions ont présenté des taches jaunes, intense et visible directement après vaporisation du DPPH

Ces résultats suggèrent que ces fractions contiennent une concentration plus élevée de composés bioactifs capables de neutraliser les radicaux libres.



**Photo 14: Photographie de la plaque CCM révélée au DPPH.**

### 1.5. Mesure spectrophotométrie de l'activité antioxydant :

L'activité antioxydant des différentes fractions obtenues à partir d'*A. articulata* a été évaluée par la méthode du radical libre DPPH. Les valeurs d'absorbance des différentes fractions ont été mesurées en double essai, puis la moyenne a été calculée afin de déterminer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

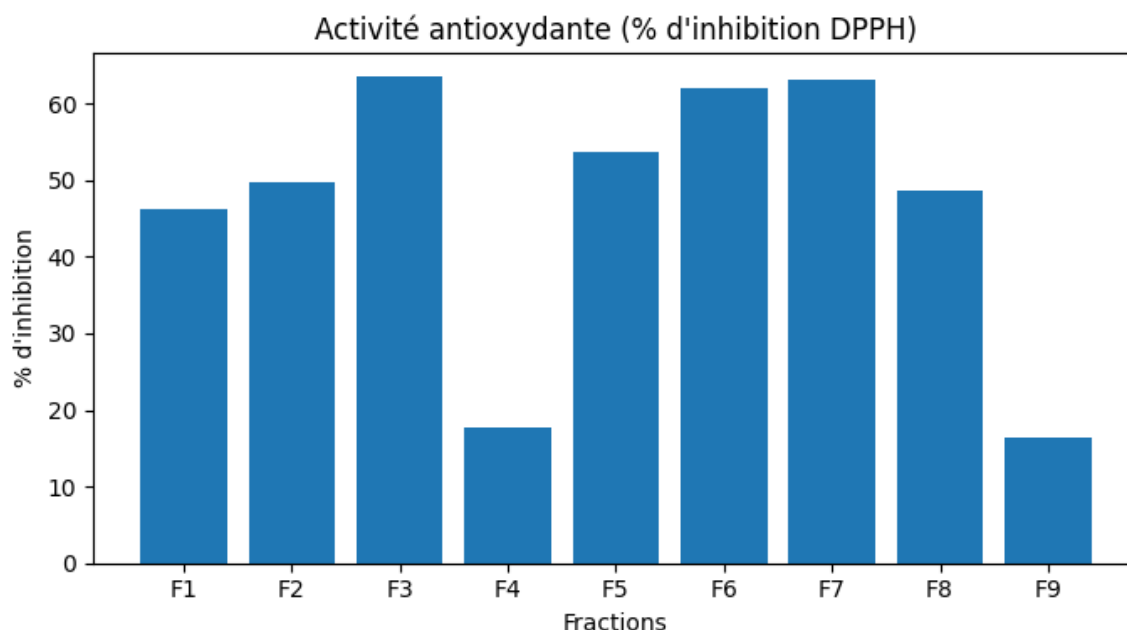


**Figure 7: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les différentes fractions.**

Les résultats obtenus montrent une variation importante de l'activité antioxydant entre les différentes fractions étudiées. Les fractions F3 (63,47 %), F7 (63,03 %) et F6 (62,00 %) ont présenté les pourcentages d'inhibition les plus élevés, indiquant une forte capacité à neutraliser le radical libre DPPH.

À l'inverse, les fractions F4 (17,78 %) et F9 (16,31 %) ont montré les activités les plus faibles, ce qui suggère une faible concentration en molécules antioxydants.

Selon **Blois (1958)**, la diminution de l'absorbance du DPPH traduit directement la capacité des composés présents dans l'extrait à céder un électron ou un atome d'hydrogène afin de stabiliser les radicaux libres. De même, **Brand-Williams et al. (1995)** ont montré que le test DPPH constitue une méthode fiable pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits végétaux.

### 1.6. Activité anti-hémolytique :

#### 1.6.1. Activité anti-hémolytique de la fraction F3 :

L'activité anti-hémolytique de la fraction F3 a été évaluée sur des globules rouges humains en utilisant différentes concentrations de l'extrait. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau 4: Pourcentage d'hémolyse de la fraction F3.**

| Concentration (mg/ml) | Pourcentage d'hémolyse% |
|-----------------------|-------------------------|
| 0,5                   | 2,08%                   |
| 0,25                  | 1,23%                   |
| 0,1                   | 1,03%                   |
| 0,05                  | 0,92%                   |
| 0,025                 | 0,02%                   |

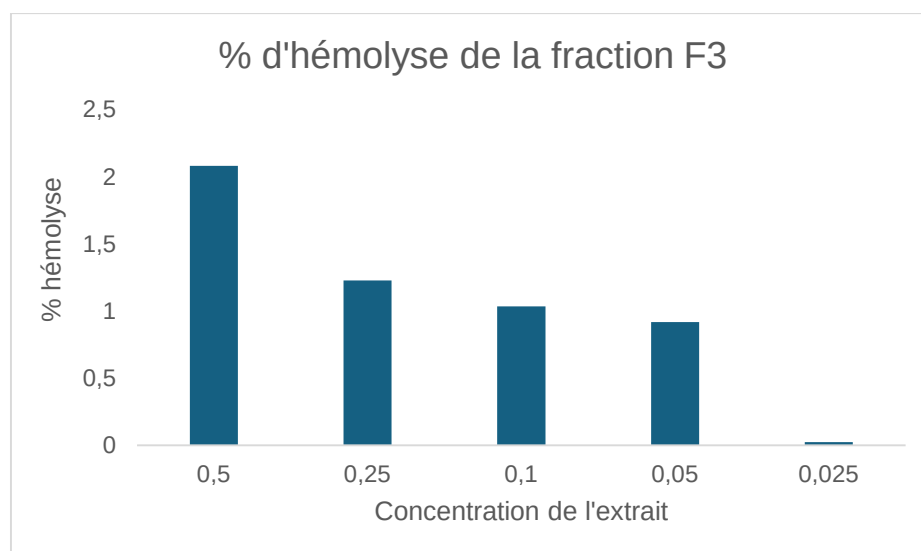


**Figure 8: Variation du pourcentage d'hémolyse de la fraction F3 en fonction**

Les résultats montrent que la fraction F3 présente une très faible activité hémolytique aux différentes concentrations testées. Le pourcentage d'hémolyse varie entre 0,02 % et 2,08 %, ce qui indique une faible altération des membranes érythrocytaires.

La concentration de 0,5 mg/ml a présenté le pourcentage d'hémolyse le plus élevé (2,08 %), tandis que la concentration de 0,025 mg/ml a montré la valeur la plus faible (0,02 %). Cette diminution progressive du pourcentage d'hémolyse avec la baisse de la concentration suggère une bonne tolérance de la fraction vis-à-vis des globules rouges humains.

Les faibles valeurs obtenues indiquent que les composés présents dans cette fraction possèdent une faible toxicité membranaire. Cette observation pourrait être liée à la nature des saponines présentes dans la fraction F3, dont l'activité biologique dépend fortement de leur structure chimique et de leur concentration.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Sparg et al. (2004)**, qui ont montré que certaines saponines végétales présentent une faible activité hémolytique malgré leur importante activité biologique.

### 1.6.2. Activité anti-hémolytique de la fraction F7 :

L'activité anti-hémolytique de la fraction F7 a également été évaluée selon le même protocole expérimental. Les pourcentages d'hémolyse obtenus sont regroupés dans le tableau suivant.

**Tableau 5: Pourcentage d'hémolyse de la fraction F7.**

| Concentration(mg/ml) | Pourcentage d'hémolyse% |
|----------------------|-------------------------|
| 0,5                  | 5,99%                   |
| 0,25                 | 5,87%                   |
| 0,1                  | 1,34%                   |
| 0,05                 | 0,15%                   |
| 0,025                | 0,19%                   |

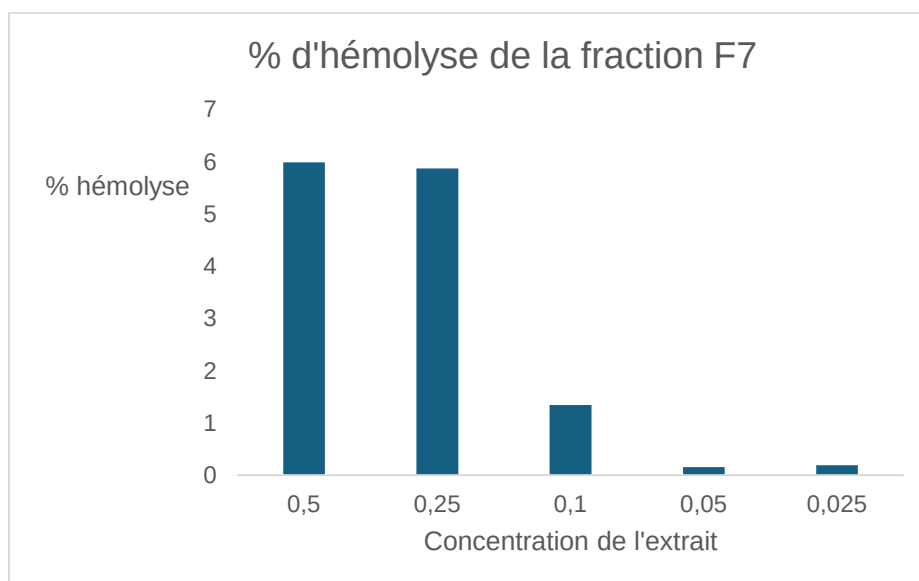


**Figure 9: Variation du pourcentage d'hémolyse de la fraction F7 en fonction de la concentration.**

Les résultats obtenus pour la fraction F7 montrent également une faible activité hémolytique, avec des pourcentages variantes entre 0,15 % et 5,99 %.

Les concentrations les plus élevées (0,5 mg/ml et 0,25 mg/ml) ont présenté les pourcentages d'hémolyse les plus importants, atteignant respectivement 5,99 % et 5,87 %. Cependant, ces valeurs demeurent relativement faibles et traduisent une faible toxicité vis-à-vis des globules rouges humains.

La diminution importante du pourcentage d'hémolyse aux faibles concentrations pourrait indiquer une meilleure stabilité membranaire en présence de faibles doses de la fraction. Cette activité pourrait être liée à la présence de saponines ainsi qu'à d'autres métabolites secondaires capables d'interagir avec la membrane érythrocytaire.

Selon **Francis et al. (2002)**, l'activité hémolytique des saponines dépend principalement de leur structure chimique et de leur concentration. Certaines saponines présentent une activité hémolytique importante alors que d'autres possèdent une faible toxicité tout en conservant leurs propriétés pharmacologiques.

Les faibles pourcentages d'hémolyse observés dans les fractions F3 et F7 suggèrent que les saponines isolées à partir d'*A. articulata* possèdent une faible activité hémolytique malgré leur importante activité biologique. Cette propriété est particulièrement intéressante dans le cadre de la valorisation pharmacologique de ces composés, car elle traduit une meilleure compatibilité avec les cellules sanguines (**Sparg et al., 2004**).

### 1.6.3 Comparaison entre les fractions F3 et F7 :

Les résultats obtenus montrent que les fractions F3 et F7 présentent une faible activité hémolytique aux différentes concentrations testées et une bonne activité antioxydante. Cependant, la fraction F3 apparaît comme la plus intéressante, avec un pourcentage d'hémolyse plus faible un pourcentage d'inhibition de dpvh plus fort.

Cette différence pourrait être liée à une variation qualitative et quantitative des saponines présentes dans les deux fractions. En effet, les saponines sont connues pour leur capacité à interagir avec le cholestérol des membranes érythrocytaires, ce qui peut conduire à une modification de leur perméabilité et, dans certains cas, à une hémolyse. Toutefois, cette activité dépend fortement de la structure chimique des saponines, notamment de la nature de l'aglycone, du nombre de chaînes osidiques et de leur degré de substitution (Francis et al.,2002).

### 1.7. Activité antimicrobienne des fractions d'*A.articulata*

L'activité antimicrobienne des fractions obtenues après chromatographie sur colonne a été évaluée par la méthode de bioautographie sur couche mince vis-à-vis de différentes souches microbiennes, à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* et *Candida albicans*.

La présence de taches d'inhibition sur les plaques chromatographiques indique l'existence de composés capables d'inhiber la croissance des microorganismes testés. Les valeurs du rapport frontal ont été calculées afin de localiser les substances responsables de cette activité.

#### a.Activité contre *Escherichia colis* :

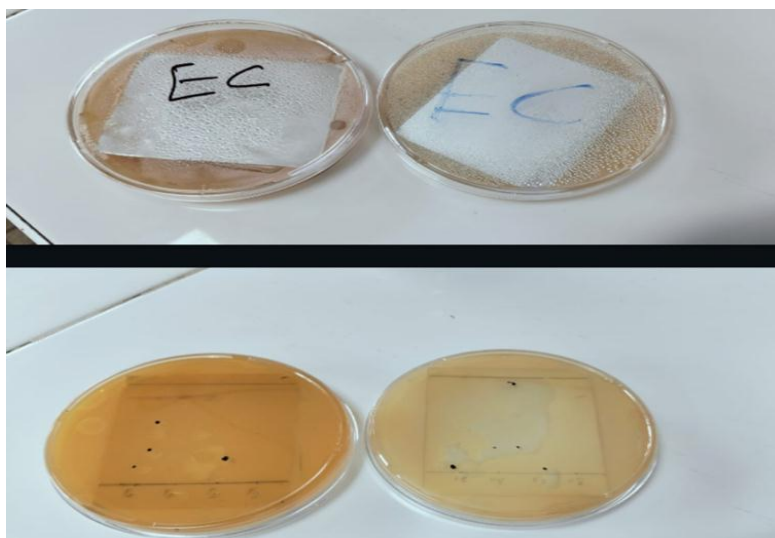


Photo 15: Observation de la culture *Escherichia colis*.

**Tableau 6: Activité des fractions contre *Escherichia coli*.**

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf    |
|----------|-------------------|--------------------|
| F1       | Oui               | 0,16 ; 0,36 ; 0,66 |
| F3       | Oui               | 0,25               |
| F4       | Oui               | 0,069              |
| F5       | Oui               | 0,045              |
| F6       | Non               | —                  |
| F7       | Non               | —                  |
| F8       | Non               | —                  |
| F9       | Non               | —                  |

Les résultats obtenus montrent que les fractions F1, F3, F4 et F5 présentent une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*. La fraction F1 a révélé trois taches d'inhibition très petite caractérisées par des valeurs de Rf de 0,16 ; 0,36 et 0,66, tandis que les fractions F3, F4 et F5 ont montré respectivement des valeurs de Rf de 0,25 ; 0,069 et 0,045, Aucune activité n'a été observée pour les fractions F6, F7, F8 et F9.

L'activité observée contre *E. coli* suggère la présence de plusieurs composés antimicrobiens au sein des fractions actives, notamment dans la fraction F1 qui présente plusieurs taches d'inhibition.

### **b. Activité contre *Candida albicans* :**

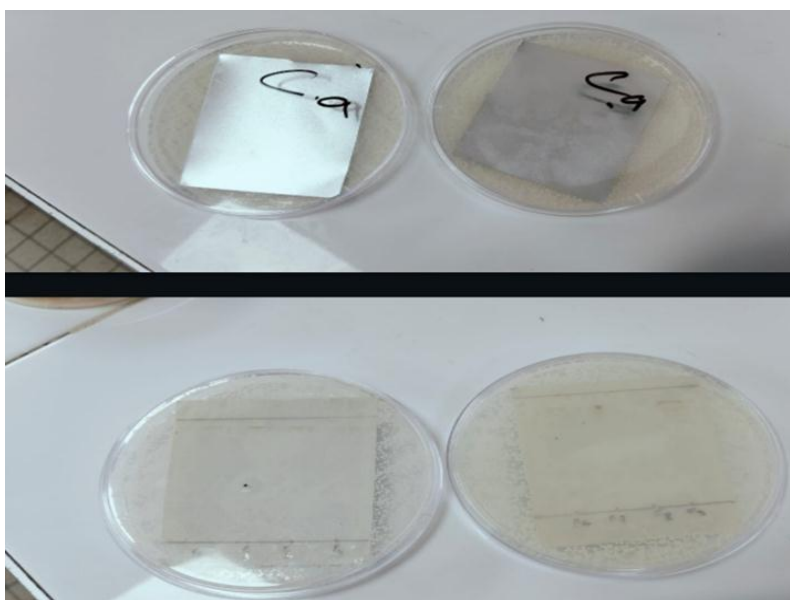


**Photo 16: Observation de la culture *Candida albicans***

**Tableau 7: Activité des fractions contre *Candida albicans*.**

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf |
|----------|-------------------|-----------------|
| F1       | Non               | —               |
| F3       | Oui               | 0,44            |
| F4       | Non               | —               |
| F5       | Non               | —               |
| F6       | Non               | —               |
| F7       | Non               | —               |
| F8       | Non               | —               |
| F9       | Non               | —               |

Une activité antifongique a été observée uniquement dans la fraction F3, caractérisée par une valeur de Rf de 0,44. Aucune inhibition n'a été détectée dans les autres fractions.

La présence d'une petite zone d'inhibition au niveau de la fraction F3 suggère que cette fraction contient un composé antifongique actif contre *Candida albicans*. Cette activité pourrait être liée à la présence de saponines capables d'interagir avec les stérols membranaires des levures. Des observations similaires ont été rapportées par (Sparg et al. 2004), qui ont démontré l'activité antifongique de nombreuses saponines végétales.

### c. Activité contre *Staphylococcus aureus* :

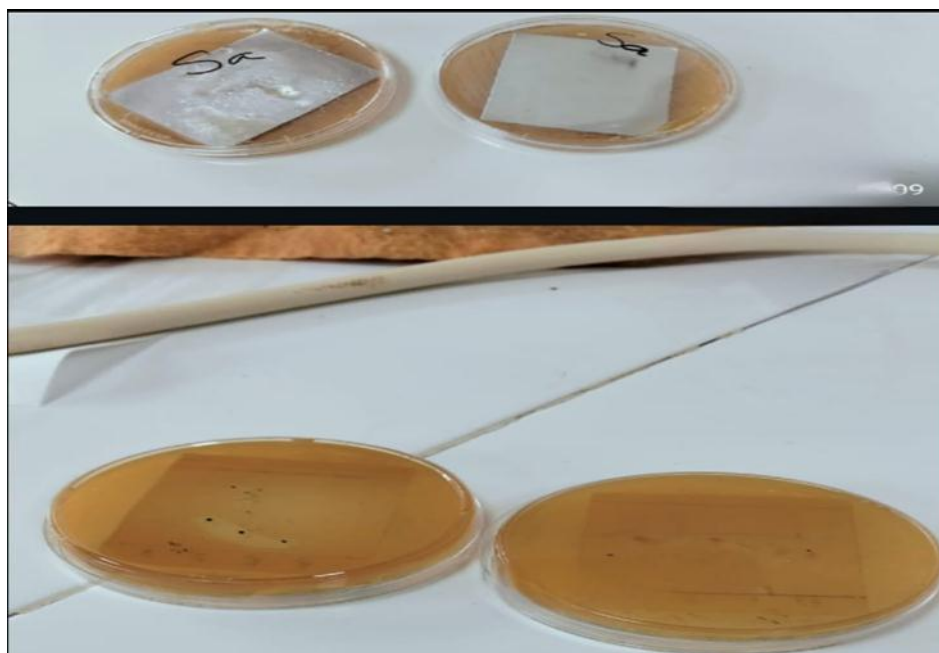


**Photo 17: Observation de la culture *Staphylococcus aureus*.**

**Tableau 8: Activité des fractions contre *Staphylococcus aureus***

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf |
|----------|-------------------|-----------------|
| F1       | Non               | —               |
| F3       | Oui               | 0,40 ; 0,83     |
| F4       | Oui               | 0,17            |
| F5       | Oui               | 0,09            |
| F6       | Oui               | 0,32            |
| F7       | Oui               | 0,28            |
| F8       | Oui               | 0,09            |
| F9       | Oui               | 0,45            |

Les fractions F3, F4, F5, F6, F7, F8 et F9 ont présenté une activité contre *Staphylococcus Aureus*. Les valeurs de Rf observées varient entre 0,09 et 0,83, traduisant la présence de plusieurs composés actifs répartis dans différentes fractions. Parmi les microorganismes testés, *Staphylococcus aureus* apparaît comme l'une des souches les plus sensibles. La présence de nombreuses zones d'inhibition mais très petite, traduit une activité antibactérienne des fractions étudiées. Cette sensibilité élevée des bactéries Gram positif est souvent attribuée à la structure de leur paroi cellulaire, plus accessible aux molécules bioactives. Des résultats similaires ont été rapportés par (Djeridane et al.,2006) lors de l'étude de plantes médicinales algériennes présentant une activité antibactérienne importante contre *S. aureus*.

**d. Activité contre *Klebsiella Pneumoniae* :**

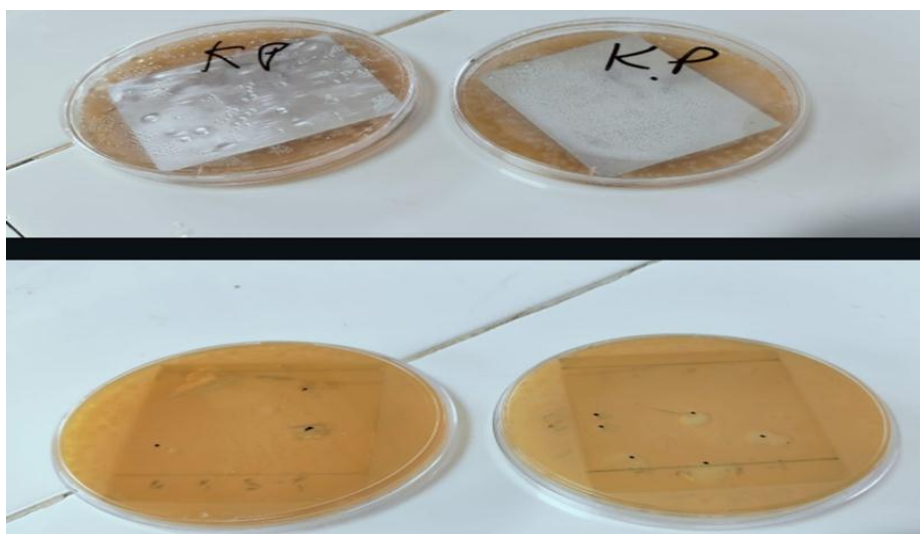


**Photo 18: Observation de la culture *Klebsiella Pneumoniae*.**

Tableau 9:Activité des fractions contre *Klebsiella pneumoniae*.

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf |
|----------|-------------------|-----------------|
| F1       | Oui               | 0,25 ; 0,80     |
| F3       | Non               | —               |
| F4       | Non               | —               |
| F5       | Oui               | 0,40            |
| F6       | Oui               | 0,10            |
| F7       | Non               | —               |
| F8       | Oui               | 0,49 ; 0,53     |
| F9       | Oui               | 0,23 ; 0,40     |

Les fractions F1, F5, F6, F8 et F9 ont montré une activité inhibitrice contre *Klebsiella Pneumoniae*. Les fractions F1 et F8 ont présenté plusieurs taches d'inhibition, indiquant la présence de plusieurs composés antimicrobiens.

L'activité observée contre *K. pneumoniae* met en évidence la capacité de certaines fractions à agir contre une bactérie Gram négatif reconnue pour sa résistance à plusieurs agents antimicrobiens. Ces résultats confirment le potentiel biologique des fractions isolées d'*A.articulata* et rejoignent les observations rapportées par (Cowan ,1999).

**e. Activité contre *Bacillus cereus* :**

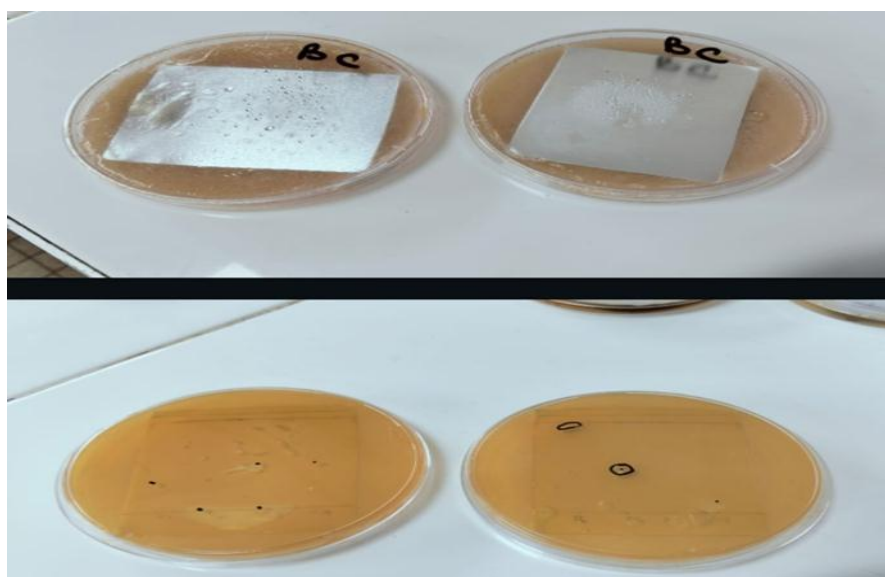


Photo 19: Observation de la culture *Bacillus cereus*.

**Tableau 10: Activité des fractions contre *Bacillus cereus*.**

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf |
|----------|-------------------|-----------------|
| F1       | Oui               | 0,27            |
| F3       | Oui               | 0,06 ; 0,44     |
| F4       | Oui               | 0,04            |
| F5       | Oui               | 0,44            |
| F6       | Oui               | 0,93            |
| F7       | Oui               | 0,42            |
| F8       | Non               | —               |
| F9       | Oui               | 0,08            |

Une activité antibactérienne a été observée dans la majorité des fractions étudiées. Les fractions F1, F3, F4, F5, F6, F7 et F9 ont présenté des taches d'inhibition avec différentes valeurs de Rf.

La forte sensibilité de *Bacillus cereus* observée dans cette étude pourrait être liée à l'action des saponines sur la membrane cellulaire bactérienne. Les résultats obtenus sont comparables à ceux rapportés par (Sparg et al.,2004), qui ont montré que les saponines possèdent des propriétés antimicrobiennes significatives contre plusieurs bactéries Gram positif.

**f.Activité contre *Pseudomonas aeruginosa* :**

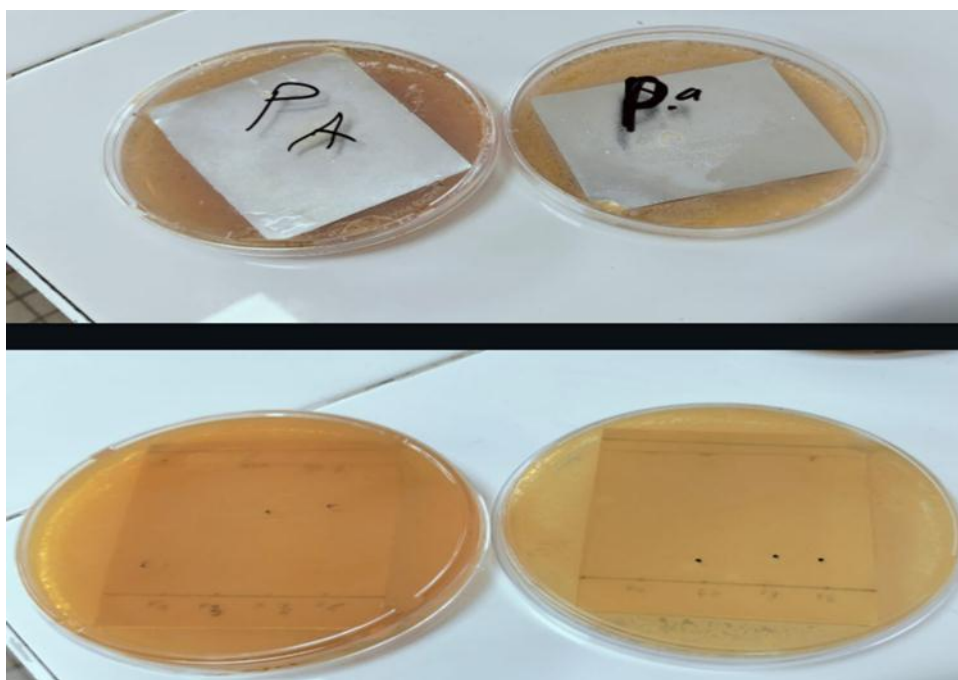


**Photo 20: Observation de la culture *Pseudomonas aeruginosa*.**

**Tableau 11: Activité des fractions contre *Pseudomonas aeruginosa*.**

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf |
|----------|-------------------|-----------------|
| F1       | Oui               | 0,17            |
| F3       | Non               | —               |
| F4       | Oui               | 0,46            |
| F5       | Oui               | 0,66            |
| F6       | Non               | —               |
| F7       | Oui               | 0,13            |
| F8       | Oui               | 0,20            |
| F9       | Oui               | 0,17            |

Les fractions F1, F4, F5, F7, F8 et F9 ont montré une activité inhibitrice contre *Pseudomonas aeruginosa*, tandis qu'aucune activité n'a été observée dans les fractions F3 et F6.

Malgré sa résistance naturelle à de nombreux agents antimicrobiens, *Pseudomonas aeruginosa* a montré une sensibilité vis-à-vis de plusieurs fractions étudiées. Cette activité suggère la

Présence de composés capables de franchir les barrières membranaires caractéristiques de cette bactérie. Des observations comparables ont été rapportées par (Cowan ,1999).

**g. Activité contre *Micrococcus luteus* :**

**Tableau 12: Activité des fractions contre *Micrococcus luteus*.**

| Fraction | Activité observée | Valeur(s) de Rf |
|----------|-------------------|-----------------|
| F1       | Oui               | 0,042           |
| F3       | Oui               | 0,64            |
| F4       | Oui               | 0,23            |
| F5       | Non               | —               |
| F6       | Oui               | 0,27 ; 0,40     |
| F7       | Oui               | 0,47            |
| F8       | Oui               | 0,27 ; 0,79     |
| F9       | Oui               | 0,38 ; 0,64     |

Les fractions F1, F3, F4, F6, F7, F8 et F9 ont présenté une activité contre *Micrococcus luteus*, avec plusieurs valeurs de Rf indiquant la présence de différents composés actifs.

L'activité observée contre *Micrococcus luteus* confirme la richesse des fractions étudiées en métabolites secondaires bioactifs. Cette activité pourrait être attribuée principalement aux saponines, connues pour leurs propriétés antimicrobiennes. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par (Sparg et al.,2004).

Les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel antimicrobien des fractions isolées à partir d'*A.articulata*. Les fractions F3, F4 et F5 apparaissent parmi les plus actives puisqu'elles ont montré une activité contre plusieurs microorganismes testés. La diversité des valeurs de Rf observées suggère la présence de plusieurs composés bioactifs répartis dans les différentes fractions.

L'activité antimicrobienne observée pourrait être attribuée aux saponines, Selon (Sparg et al.,2004), les saponines possèdent une activité antimicrobienne importante grâce à leur capacité à interagir avec les membranes cellulaires. (Cowan ,1999) a également souligné le potentiel des métabolites secondaires végétaux comme source de nouvelles molécules antimicrobiennes.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus confirment le potentiel biologique d'*A.articulata* et justifient la poursuite des travaux visant à isoler et identifier les composés responsables de cette activité antimicrobienne.

---

## Conclusion

---

Les plantes médicinales resteront toujours une source finale de principes actifs d'intérêt thérapeutique. Face à la phobie des molécules de synthèse chimique, leur utilisation est en progression constante. La problématique soulevée dans ce travail s'inscrit dans ce souci d'exploration et de criblage de nouvelles sources de biomolécules contenues dans des plantes qui poussent à l'état sauvage dans nos contrées et faisant partie de la pharmacopée traditionnelle de nos populations.

L'objectif principal de ce travail est l'extraction, la purification et l'isolement des saponines de l'espèce végétale *A. articulata*. Il consiste également à évaluer le potentiel biologique de ces composés en déterminant leurs activités antioxydant, anti hémolytique et antimicrobienne à l'aide de différentes méthodes d'analyse.

L'évaluation de l'activité antioxydant *in vitro* a été établie par l'utilisation de test du piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphényl-1 picrylhydrazyl). Ce test a montré que les différentes fractions de saponine, possèdent une forte capacité antioxydante particulièrement les 3 fractions F3, F7, F6. Ces fractions contiennent une concentration plus élevée de composés bioactifs capables de neutraliser les radicaux libres.

Dans un second volet de notre étude, nous avons évalué l'activité anti-hémolytique des deux fractions ayant présenté les meilleures activités antioxydantes, en utilisant un modèle érythrocytaire. La sensibilité des globules rouges a été examinée à différentes concentrations des fractions testées. Les résultats obtenus ont révélé de faibles taux d'hémolyse, compris entre 0,02 % et 2,08 % pour la fraction F3 et entre 0,15 % et 5,99 % pour la fraction F7. Ces valeurs témoignent d'une faible cytotoxicité vis-à-vis des érythrocytes et traduisent une bonne préservation de l'intégrité de leur membrane dans les conditions expérimentales utilisées. Ainsi, les deux fractions étudiées présentent une bonne biocompatibilité, ce qui renforce leur intérêt biologique en complément de leur activité antioxydant.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des fractions saponine de *A. articulata* par bioautographie sur CCM a mis en évidence une activité variable selon les microorganismes testés. Bien que plusieurs fractions aient présenté des zones d'inhibition, celles-ci étaient généralement de très faible taille, traduisant une activité antimicrobienne limitée dans les conditions expérimentales utilisées. Les fractions F3, F4 et F5 se sont distinguées par leur activité contre un plus grand nombre de souches microbiennes, avec une inhibition observée sur cinq souches différentes. La fraction F3 a notamment été la seule à montrer une activité vis-à-vis de *Candida albicans*.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus indiquent la présence des fractions saponine dotés d'un potentiel antimicrobien, mais d'intensité limitée. Bien que l'activité observée soit faibles, les fraction F3, F4, F5 apparaissent comme les plus prometteuses et pourraient faire l'objet d'investigation complémentaire, une purification des composés bioactif par chromatographie sur couche mince préparative (CCM préparative) ou par d'autres technique chromatographique permettrait d'isoler les les molécules responsables de l'activité observée. Les composés purifier pourraient ensuite être soumis à analyses structurales et a des essaies biologique plus approfondis afin de mieux caractériser leur potentielle antimicrobien et leur intérêt pharmacologique.

---

## Références bibliographiques

---

1. **ABDELMOUMENE M, HABBCHE H, BEKKARA FA, BOUCHERIT A, DIB M.** (2025). Potentiel biologique des saponines de l'*A. articulata* algérien (Forssk.) Moq. : Évaluation complète in vitro et in vivo des effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et cytotoxiques. *Journal of Ethnopharmacology*, 312, 116-124. DOI : 10.1016/j.jep.2024.118245
2. **Alshalmani S K, & Abdellatif A G.** (2013). Antioxidant and Quantitative Estimation of Phenolic and Flavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(3), 89–94.
3. **Al-Shalmani S, et Abdellatif A.** (2013). Antioxidant and Quantitative Estimation of Phenolic and Flavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 89-94.
4. **ARRIF S.** (2009). *Etude des métabolites secondaires de deux scrophulariacées du genre Verbascum: V. ballii et V. dentifolium.* Thèse de Doctorat en Chimie, Université El Hadj Lakhdar-Batna, Faculté des sciences, Département de Chimie.
5. **Bate-Smith Edgar Charles, Swain Trevor.**(1962). Leucoanthocyanes. Partie 1. Détection et dosage des leucoanthocyanes dans les tissus végétaux. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 13(4), 198-203.
6. **Belaïch R, Boujraf S.** (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), 38–42.
7. **Belyagoubi-Benhammou N, Belyagoubi L, Gismondi A, Di Marco G, Canini A, Atik-Bekkara F.** (2019). GC/MS analysis and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *A. articulata*. *Medicinal Chemistry Research*, 28, 754-767.
8. **Ben Menni Dounia.** (2022). *Étude des activités anti-inflammatoire, neuroprotectrice et antiproliférative des extraits (aqueux et saponines) de la partie aérienne d'A. articulata de la région de Béchar.* Thèse de Doctorat en Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Laboratoire de Biotechnologie Végétale et Valorisation des Bioressources, 245 p.
9. **Benhammou Nabila.** (2012). *Contribution à l'étude phytochimique et biologique de quelques plantes spontanées sahariennes.* Thèse de Doctorat, Université de Bechar, Faculté des Sciences et des Technologies, 212 p.

10. **Benzineb E, Hammadouche M, Dib S, Bekkara A F.** (2019). *Étude phytochimique, dosage des composés phénoliques de la plante A. articulata (Forssk.) Moq. : Activités biologiques.* Thèse de Doctorat, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, 156 p.
11. **Benzineb E, Hammadouche M, Dib S, Bekkara A F.** (2020). *Étude phytochimique, dosage des composés phénoliques de la plante A. articulata (Forssk.) Moq : Identification d'alcaloïdes tétrahydroxyisoquinoléïnes et activité antibactérienne.* Thèse de Doctorat en Chimie, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Faculté des Sciences Exactes, Département de Chimie, Oran, Algérie, 156 p.
12. **Benzineb Elhouaria.** (2020). *Étude phytochimique, dosage des composés phénoliques de A. articulata (Forssk.) Moq. : Tanins et activités biologiques.* Thèse de Doctorat, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, 189 p.
13. **Beris P, Picard V.** (2015). Non-Immune Hemolysis: Diagnostic Considerations. *Seminars in Hematology*, 52(4), 287-303.
14. **Bhat Satish V, Nagasampagi B A, Meenakshi S.** (2005). *Chimie des produits naturels.* New Delhi: Springer, 472 p.
15. **Blois M.S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
16. **Boccuni P, Ley TJ.** (2022). Leukocytes: Development and Disorders. Dans : Hoffman R. et al. (Éds.), *Hematology: Basic Principles and Practice* (8e éd., Chapitre 30). Elsevier.
17. **Boucher HW, Talbot GH, Benjamin DK Jr, Bradley J, Guidos RJ, Jones RN, et al.** (2013). 10×20 progress—development of new drugs active against gram-negative bacilli: an update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 56(12), 1685–1694.
18. **BOURRILLON A, BINGEN E, GAUDELUS J, COHEN R.** (2004). Comment réduire la prescription des antibiotiques chez l'enfant ? *Journées parisiennes de pédiatrie*, Paris, Flammarion.
19. **Boutaghane N.** (2013). *Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales algériennes Genista ulicina Spach (Fabaceae) et Chrysanthemum macrocarpum (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae).* Thèse de Doctorat en Chimie Pharmaceutique, Université de Constantine 1, Faculté des sciences exactes, Département de Chimie.
20. **Boutrif A, Habbeche H, Djenadi S, Bekkara F A.** (2024). Analyse phytochimique par GC-MS et activités biologiques des parties aériennes d'*A. articulata* du Sahara algérien. *Journal de pharmacie et de phytothérapie*, 16(3), 112-125.

21. **Bouttis Djamila.** (2004). *Flavonoïdes : chimie structurale, propriétés biologiques et applications thérapeutiques*. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier 1, 245 p.
22. **Brand-Williams W, Cuvelier ME, & Berset C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
23. **Bruneton Jean.** (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. 3ème éd. Paris : Tec & Doc-Lavoisier, 915 p.
24. **Bruneton Jean.** (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales : Saponosides*. 4e éd. Paris : Tec & Doc - Lavoisier, pp. 129, 811-815 (et version globale 1128 p.).
25. **Canon Marie-Émilie.** (2010). Les tanins végétaux : propriétés physico-chimiques et utilisations industrielles. *Revue des sciences techniques et industrielles*, 45(2), 112-125.
26. **Cheurfa M, Allem R, Sebahia M, Belhireche S.** (2013). Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables des gastro-entérites. *Phytothérapie*, 11(3), 154-160.
27. **Cheurfa M, Allem R, Seghir A, & Boudjeniba M.** (2013). Étude des rendements d'extraction des métabolites secondaires de plantes médicinales algériennes. *Revue des Sciences Fondamentales et Appliquées*, 5(1), 1-7.
28. **Conseil de l'Union européenne.** (2002). Recommandation du Conseil du 15 novembre 2001 relative à l'utilisation prudente des agents antimicrobiens en médecine humaine (2002/77/CE). *Journal officiel des Communautés européennes*, L 34, 5 février 2002, pp. 13–16.
29. **Cowan M M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
30. **DELARRAS C.** (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. 2ème édition. Lavoisier, Paris, p. 1-2-3-66.
31. **Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, & Vidal N.** (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant's extracts. *Food Chemistry*, 97, 654–660.
32. **Dupont F, Guignard JL.** (2007). *Abrégé de botanique : systématique moléculaire*. 14e éd. Paris : Masson.
33. **Ekor M.** (2014). The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4(177), 1-10.
34. **El Haci IA, Bekkara Atik F, Ghembaza N.** (2024). Profilage phytochimique et activités biologiques des tanins de *A. articulata* (Chenopodiaceae) : potentiel antimicrobien et antioxydant. *Chimie et technologie de la cellulose*, 58(3-4), 345-358.

35. **El-Shabasy A.** (2016). Survey on medicinal plants in the flora of Jizan Region, Saudi Arabia. *International Journal of Botany Studies*, 2(1), 38–59.
36. **Evans WC.** (2009). *Trease and Evans Pharmacognosy*. 16th Edition, Saunders Elsevier.
37. **Favier.** (2003). *Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ; mécanisme biochimique*, p. 108-114.
38. **Francis G, Kerem Z, Makkar H.P.S, & Becker K.** (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88, 587–605.
39. **George JN, Aster RH.** (2024). Platelets. Dans :*StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
40. **Gismondi Antonella, Canuti Lorenzo, Impei Silvia, Dello Ioio Roberto, Canini Antonella.**(2019). Antioxidants and antiproliferative compounds from Anabasis genus plants. *Recherche sur les produits naturels*, 33(12), 1789-1793.
41. **González-Castrén María, Martín Francisco, Ruiz Ana Belén, Díaz Jesús, García Antonio, Fernández José Luis.**(2012). Saponines : propriétés tensioactives et applications pharmaceutiques. *Fitoterapia*, 83(5), 1023-1032. DOI : 10.1016/j.fitote.2012.04.012
42. **Gordaliza M.** (2007). Natural products as leads to anticancer drugs. *Clinical and Translational Oncology*, 9(12), 767–776.
43. **Gourreau JM, Bendali F.** (2008). *Maladies des bovins*. 4e édition. Paris: France Agricole, pp. 12–13.
44. **Greenwell M, Rahman P K S M.** (2015). Medicinal plants: Their use in anticancer treatment. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(10), 4103–4112.
45. **Gupta PD, Birdi TJ.** (2017). Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 8(4), 266–275.
46. **Hamliche V, Maiza K.** (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(3), 358-367.
47. **Hannebelle T Sahpaz S, Bailleul F.** (2004). Polyphénols : propriétés biologiques et applications thérapeutiques. *Phytothérapie*, 4, 189-196
48. **.Henneberg, R, Otuki, MF, Furman, AEF, Hermann, P, Nascimento, AJ, Leonart, MSS.** 2013. Protective effect of flavonoids against reactive oxygen species production in sickle cell anemia patients treated with hydroxy urea. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 35:52e5.

49. **Harborne Jeffrey B, Herbert Roy B.** (1995). Alcaloïdes. Dans : Dey PM, Harborne JB, éd. *Biochimie végétale*. Londres : Academic Press, p. 369-398.
50. **Harborne Jeffrey B.** (1993). *Introduction à la biochimie écologique*. 4e éd. Londres : Academic Press, 356 p.
51. **Hemmami H, Ben Seghir B, Zeghoud S, Ben Amor I, Kouadri I, Rebiai A, Zaater A, Messaoudi M, Benchikha N, Sawicka B, Atanassova M.** (2023). Desert Endemic Plants in Algeria: A Review on Traditional Uses, Phytochemistry, Polyphenolic Compounds and Pharmacological Activities. *Molecules*, 28(4), 1834.
52. **Hopkins G.** (2003). *Physiologie Végétale*. 2e édition. De Boeck, pp. 273-274.
53. **Hostettmann K, & Marston A.** (1995). *Saponins*. Cambridge University Press.
54. **Kambouche N, Merah B, Derdour A, Bellahouel S, Younos C, & Soulimani R.** (2011). Activité antihyperglycémiant d'un stérol  $\beta$ -sitoglucoside isolé de la plante *A. articulata* (Forssk.) Moq. *Phytothérapie*, 9(1), 2–6. DOI : 10.1007/s10298-010-0603-4
55. **Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT.**(2017). Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest*, 127(3), 750-760.
56. **Khamees A H, Kadheem E J, Sahib H B, Ahmed O H.** (2019). A Review on Medicinal Plants with Antiangiogenic Activity Available in Iraq. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 31(6), 1–10.
57. **Khamees MM, Al-Snafi AE, Hassan KM, Talab TA.**(2020). Phytochemical and pharmacological activities of *A. articulata*: A review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(12), 184–191.
58. **Khamis G, Saleh A M, Habeeb T H, Hozzein W N, Wadaan M A M, Papenbrock J, Abdelgawad H.** (2020). Provenance effect on bioactive phytochemicals and nutritional and health benefits of the desert date (*Balanites aegyptiaca*). *Journal of Food Biochemistry*, 44(6), e13229.
59. **Khenaka K.** (2011). *Effet de divers plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin*. Magister de Biotechnologie Microbienne, Université de Mentouri Constantine, Département de biochimie et de microbiologie.
60. **Kherraze M E, Lakhdari K, Benzaoui T, Berroussi S, Bouhanna M, Sebaa A.** (2010). *Atlas floristique de la vallée de l'Oued Righ par écosystème*. Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides, 52, 1-175.
61. **Koné Woro M.** (2009). *Contribution à l'étude chimique et biologique des plantes médicinales ivoiriennes*. Thèse Doctorat, Université de Cocody-Abidjan, 285 p.

62. **Kuhn V, Diederich L, Keller TCS, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C, Suvorava T, Isakson BE, Kelm M, Cortese-Krott MM.**(2021). Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxidants & Redox Signaling*, 35(8), 614–659.
63. **Kutchan TM.** (1995). Biosynthèse des alcaloïdes – La voie du succès. *Alcaloïdes : Chimie et biologie*, 45, 173-196.
64. **Lattanzio V, Day K.** (2009). Polyphénol oxydases et réactions de brunissement chez les plantes. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 29-43.
65. **Leray C.** (2012). *Les lipides dans le monde vivant : Introduction à la lipidomique*. Lavoisier, pp. 112-116.
66. **Liochev SI.** (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 60, 1–4.
67. **Lippi G, Plebani M.** (2019). Identification and management of spurious hemolysis: controverses, concerns and criticisms. *Clin Chem Lab Med*, 57(11), 1647-1649.
68. **MAATALAH S, DZAIRI F Z, CHIBANI F, BOUKHARI-ZOUARI N, KORICHI A.** (2012). Criblage phytochimique, quantification et activités biologiques des saponines d'*A. articulata* (Forssk.) Moq. Parties aériennes du Sahara algérien. *African Journal of Biotechnology*, 11(45), 10389-10394. DOI : 10.5897/AJB11.3912
69. **Mack A, Vanden Hoek T, Du X.** (2024). Thromboinflammation and the role of platelets in linking coagulation and immune responses. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*.
70. **Madi A.** (2009). *Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques*. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine.
71. **Mann John.** (1994). *Métabolisme secondaire*. 2e éd. Oxford : Oxford Université Press, 312 p.
72. **Marchix A, Krier F, Laurent E.** (2005). Polyphénols et mécanismes de défense végétale. *Biotechnologie Agronomie Société Environnements*, 9(3), 167-174.
73. **Middleton EJ, Kandaswami C.**(1993). L'impact des flavonoïdes végétaux sur la biologie des mammifères : implications pour l'immunité, l'inflammation et le cancer. *Biochemical Pharmacology*, 43(6), 1167-1179.
74. **Migdal C, Serres M.** (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris)*, 27(4), 405-12.

75. **Mompon T, Quillec J, Sarni-Manchado P.** (1998). Les polyphénols végétaux : structure et fonctions. *Revue Française d'Œnologie*, 172, 15-22.
76. **Mounkaila S, Soukaradji B, Morou B, Karim S, Issoufou HB-A, Mahamane A, Ikhiri K, Saadou M.** (2017). Inventaire et gestion des plantes médicinales dans quatre localités du Niger. *European Scientific Journal*, 13(24), 498–515.
77. **Muniz Daniela F.** (2006). Alcaloides : uma revisão bibliográfica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(2), 216-224.
78. **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).** (2001). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement*. NCCLS document M100-S11. USA: Villanova, 21(1).
79. **Ndem J I, Eteng M U, Uwah A F.** (2014). Effect of Hippocratea africana Root Bark Extract on Lipid Profile of Female and Male Albino Wistar Rats. *Journal of Scientific Research and Reports*, 3(19), 2574–2583. <https://doi.org/10.9734/JSRR/2014/12491>
80. **Newman David J, Cragg Gordon M.** (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770-803.
81. **Nichols BA, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K.** (2020). Hematopoiesis: A Layered Organization Across Chordates. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 606.
82. **Nimse SB, Pal D.** (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006.
83. **Nouidjem, Y, Hadjab, R, Khammar H, Merouani S, Bensaci E.** (2021). *Diversity, Ecology and Therapeutic Properties of the Medicinal Plants in Ziban Region (Algeria)*. *Journal of Bioresource Management*, 8(1), 29–39.
84. **Organisation mondiale de la santé (OMS).**(2019). *WHO global report on traditional and complementary medicine 2019*. Genève : Organisation mondiale de la santé, 1-226.
85. **Osbourn Anne.** (2010). La biosynthèse et les rôles des saponines chez les plantes. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(3), 366-371.
86. **Ozenda P.** (2004). *Flore et végétation du Sahara*. 3ème édition, CNRS Editions, Paris.
87. **Paterson I, Anderson EA.** (2005). The renaissance of natural products as drug candidates. *Science*, 310(5747), 451–453.
88. **Paul M, Ohashi PS.** (2020). The Roles of CD8+ T Cell Subsets in Antitumor Immunity. *Trends in Cell Biology*, 30(9), 695-704.

89. **Pillet Laurent.** (2011). Les alcaloïdes : chimie, biosynthèse et pharmacologie. *Revue de Phytothérapie*, 12(45), 23-34.
90. **Pretini V, Koenen M H, Kaestner L, Fens MHAM, Schiffelers RM, Bartels M, & Van Wijk R.** (2019). Red Blood Cells: Chasing Interactions. *Frontiers in Physiology*, 10, 945.
91. **Quezel P, Santa S.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II. Ed. CNRS, Paris.
92. **Rahal K.** (2008). *Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Échelle Nationale selon les recommandations de l'OMS*. 5ème édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière, Algérie.
93. **Sanchez-Moreno, C, Larrauri, JA, Saura-Calixto, F.** 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food. Agri*, 76: 270–276.
94. **Schauenberg P, Paris F.** (1977). *Guide des plantes médicinales*. Neuchâtel (Suisse): Delachaux et Niestlé.
95. **Singh S, Sharma B, Kanwar, Shamsheer S, Ashok K.** (2016). Lead phytochemicals for anticancer drug development. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1667.
96. **Sofowora A.** (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Suisse : édition KARTHALA, pp. 213.
97. **Sparg S.G, Light M.E, & Van Staden J.** (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 219–243.
98. **Tahri N, El Basti A, Zidane L, Rochdi A, Douira A.** (2012). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de Settat (Maroc). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 12(2), 192–208.
99. **Theml H, Heinz H, Torsten H.** (2006). *ATLAS DE POCHE D'HÉMATOLOGIE*. 2e édition. Médecine sciences publications.
100. **Tilyabaev Z, Abduvakhabov A A.** (1998). Alkaloids of *Anabasis aphylla* and their cholinergic activities. *Chem Nat Compd*, 34(3), 295-297.
101. **Togliatto G, Lombardo G, Felice Brizzi M.** (2017). The Future Challenge of Reactive Oxygen Species (ROS) in Hypertension: From Bench to Bed Side. *Int J Mol Sci*, 18(9), 1988.
102. **TRABELSI H, KHERRAZE MH.** (2020). Effects of Abiotic Stress on Seed Germination of Some Algerian Sahara Psammo halophyte Species. In : M. N. Grigore (Éd.), *Handbook of Halophytes*, pp. 1–22. Springer, Cham.

103. **Veyssiere A.** (2019). *La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019*. Sciences du Vivant [q-bio], ffdumas02432394f, pp. 15-23.
104. **Vieira Junior FU, Antunes N, Vieira RW, Alvares LM, Costa ET.**(2012). Hemolysis in extracorporeal circulation : relationship between time and procedures. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 27(4), 535-41.
105. **Vitali LA, Beghelli D, BiapaNya PC.**(2016). Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermum ammi*. *Arabian J Chem*, 9(6), 775-786.
106. **Wink M.** (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2(3), 251–286.
107. **World Health Organization (WHO).** (2016). *Global action plan on antimicrobial resistance*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
108. **Yarnell Eric.** (2007). Saponins as therapeutic agents: a review. *Journal of Restorative Medicine*, 1(1), 17-25.
- .
109. **Yiallourous M.** (2026). *The blood components*. GPOH (Society for Pediatric Oncology and Hematology).
110. **Zgurskaya HI, Lopez CA, Gnanakaran S.** (2015). Permeability barrier of Gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infect Dis*, 1, 512-522.

## ملخص :

يُعدّ هذا العمل جزءاً من جهدٍ أوسع نطاقاً لتعزيز استخدام نبات الأناباسيس المفصلي (*A. articulata*)، وهو نبات طبي جزائري معروف بخصائصه البيولوجية الواعدة. وكان الهدف الرئيسي لهذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة، والنشاط المُحلّ للدم، والنشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات مختلفة من هذا النبات.

في البداية، تم تجزئة المستخلصات باستخدام كروماتوغرافيا العمود، ثم كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، مما أسفر عن تسعة مستخلصات متميزة. بعد ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات باستخدام اختبار DPPH، معبراً عنه كنسبة مئوية للتثبيط. أظهرت النتائج أن المستخلصين 3 و7 أظهرأ أعلى نشاط، مما أدى إلى اختيارهما لمزيد من التحليل. ثم دُرِسَ هذان المستخلصان من حيث نشاطهما المُحلّ للدم لتقييم سميتهما المحتملة لأغشية كريات الدم الحمراء. وأخيراً، أُجري تصوير حيوي باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) لإثبات النشاط المضاد للميكروبات ضد سلالات ميكروبية معينة. تُبرز النتائج المُتحصّل عليها الإمكانيات البيولوجية الواعدة لنبات *A. articulata*، ولا سيما نشاطه المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات، كما تُوفّر معلومات لتقييم سلامته الحيوية.

## الكلمات المفتاحية:

"نبات الرمث، السابونينات، كروماتوغرافيا العمود (CC)، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، التصوير الحيوي الذاتي".

## Résumé :

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la plante médicinale algérienne *A. articulata*, connue pour ses propriétés biologiques potentielles. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les activités antioxydante, hémolytique et antimicrobienne de différentes fractions issues de cette plante.

Dans un premier temps, un fractionnement des extraits a été réalisé par chromatographie sur colonne, suivi d'une chromatographie sur couche mince (CCM), permettant d'obtenir neuf fractions distinctes. L'activité antioxydante de ces fractions a ensuite été évaluée par le test au DPPH, exprimé en pourcentage d'inhibition. Les résultats ont montré que les fractions 3 et 7 présentent les activités les plus importantes, ce qui a conduit à leur sélection pour des analyses complémentaires.

Ces deux fractions ont ensuite fait l'objet d'une étude de leur activité hémolytique afin d'évaluer leur éventuelle toxicité sur les membranes érythrocytaires. Enfin, une bioautographie sur CCM a été réalisée afin de mettre en évidence une activité antimicrobienne vis-à-vis de certaines souches microbiennes.

Les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel biologique intéressant de *A. articulata*, notamment son activité antioxydante et antimicrobienne, tout en apportant des éléments d'appréciation de sa sécurité biologique.

## Mots clés :

*A. articulata*, saponine, CC, CCM, Bioautographie

## Abstract :

This work is part of a broader effort to promote the use of the Algerian medicinal plant *A. articulata*, known for its potential biological properties. The main objective of this study was to evaluate the antioxidant, hemolytic, and antimicrobial activities of different fractions derived from this plant.

Initially, the extracts were fractionated by column chromatography, followed by thin-layer chromatography (CCM), yielding nine distinct fractions. The antioxidant activity of these fractions was then assessed using the DPPH assay, expressed as a percentage of inhibition. The results showed that fractions 3 and 7 exhibited the highest activity, leading to their selection for further analysis.

These two fractions were then studied for their hemolytic activity to evaluate their potential toxicity to erythrocyte membranes. Finally, a CCM bioautograph was performed to demonstrate antimicrobial activity against certain microbial strains.

The results obtained highlight the interesting biological potential of *A. articulata*, particularly its antioxidant and antimicrobial activity, while also providing information to assess its biosafety.

## Keywords :

*A. articulata*, saponins, CC, CCM, bioautography.