

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des sciences de la nature et de la vie.
Département de Biologie Physico-chimique.
Filière : Sciences Biologiques.
Spécialité : Biochimie fondamentale.



جامعة بجاية
Tasdawit n'Bgayet
Université de Béjaïa

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du Diplôme de
Master

Thème :

**Screening phytochimique et activités
antioxydantes de quelques plantes**

Présentés par :

HADDAD Dihya & HADROUG Nesrine

Soutenu le : **30 septembre 2021**

Devant le jury :

Mme YOUS. F	MAB	Présidente
Mme BAKDI. H	MAA	Promotrice
Mme SEBAIHI. S	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2020/2021

Dédicaces

Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude, mon amour, mon respect et ma reconnaissance.

Je dédie ce mémoire :

À mon très cher père «Achour» : qui a consacré toute sa vie pour mon éducation, mes études, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui, que ce travail soit le meilleur cadeau que je puisse lui offrir.

À ma très chère Mère «Zohra» : celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, tu es la source de vie, d'amour et d'affection qui m'a béni par ses prières, tu n'as jamais cessé de m'encourager, de me soutenir et de m'épauler. Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour.

A mon frère adoré «Amine» qui a toujours répondu présent, ton encouragement tout au long de mes années d'études, ton amour et ton affection, ont été pour moi l'exemple de persévérance.

A mes très chères sœurs «Meriem» «Fella» «Tinhinane»: pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse, qui en plus de m'avoir encouragé tout au long de mes études, m'ont consacré beaucoup de temps et qui par leurs soutiens, leurs conseils et leurs amours, m'ont permis d'arriver jusqu'ici.

A mes neveux que j'aime tellement «Neilla», «Nazim», «Koceila», «Massine», «Racim», «Mouna».

A ma belle-sœur «Typhaine» ainsi qu'à mes deux beaux-frères «Djelloul» et «Mehdi».

A tous mes amis (es) : Spécialement «Nesrine», «Nadine», «Lydia» et «Kamillia».

Et surtout à mon cher binôme Nesrine Hadroug pour son entente et empathie, qui a partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

A toute ma famille

Dihya

Dédicaces

*À ma chère Mère «**Karima** », Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leurs vies.*

*A l'exemple de ma vie, mon très chère père «**Nabil**», qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent.*

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon fiancée
Yacine

*A mes frères **Saïd** et **Salem** pour leurs encouragements et leurs soutiens dans les moments difficiles, merci pour votre amour.*

*A mon adorable et unique sœur **Samia** et à ma belle-sœur **Yasmina**, qui ont toujours été présentes pour moi et qui m'ont toujours soutenu et encouragé psychologiquement.*

*A toi **Liam** mon ange et ma source de bonheur mon adorable petit neveu que j'aime de tout mon cœur*

*À toi **ma grand-mère** maternelle, mon trésor et l'être le plus cher dans ma vie.
Qu'Allah te garde et te procure une bonne santé et une longue vie.*

*À ma meilleure tante **Hakima** à qui je trouve en elle une source de ma fierté.*

*A mes chers oncles **Arezki** et **Mohand-seghir** et leurs fils, pour le soutien jusqu'à la fin de ce travail.*

*A tous les membres de la famille **Hadroug** et **Harezine**, petits et grands.*

*À ma meilleure amie, mon binôme **Dihya** qui partage avec moi ce mémoire, nos souvenirs ensemble sont inoubliables.*

À toutes mes chères amies: Sabrina, Ryma, Anissa, Nora, Asma, Kenza, Tinhinane je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur je vous aime.

Nesrine

Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».

Avant tout, on tient à remercier le bon Dieu, de nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous remercions sincèrement Mme BAKDI pour avoir encadré et dirigé ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury : Mme SEBAIHI et Mme YOUS d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous remercions spécialement Mr BENRAMDANE pour les précieux conseils et encouragements.

Un grand merci aux enseignants et professeurs de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Bejaia, qui ont éclairé notre chemin tout au long du parcours universitaire par leurs précieuses expériences scientifiques.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous nos collègues, amis et étudiants de master.

Un grand merci à toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

Merci infiniment à tous.

Table des matières

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie 1 Etude bibliographique

Chapitre I Généralités sur les plantes médicinales

I.1. Définition d'une plante médicinale.....	3
I.2. La phytothérapie	4
I.2.1. La phytothérapie traditionnelle.....	4
I.2.2. La phytothérapie clinique	4
I.2.3. Intérêt de la phytothérapie	5
I.2.4. Avantages et inconvénients de la phytothérapie.....	5
I.3. Définition de principe actif	5

Chapitre II Les métabolites secondaires

II.1. Métabolites primaire.....	6
II.2. Métabolites secondaires.....	6

Chapitre III Les plantes étudiées

III.1. <i>Rhamnus alaternus</i> L.....	13
III.1.1. Généralités	13
III.1.2. Classification botanique.....	14
III.1.3. Utilisation traditionnelle	14
III.1.4. Compositions chimiques.....	14
III.1.5. Activités biologiques	14
III.2. <i>Anvillea Radiata</i>	15
III.2.1. Généralités	15
III.2.2. Classification botanique.....	15
III.2.3. Utilisation traditionnelle	16
III.2.4. Compositions chimiques et activités biologiques.....	16
III.3. <i>Centaurea incana</i>	16
III.3.1. Généralités	16
III.3.2. Classification botanique.....	17
III.3.3. Utilisation traditionnelle	17
III.3.4. Compositions chimiques et activités biologiques.....	17

Partie 2 Etude expérimentale
Chapitre IV Matériels et méthodes

IV.1. Matériels.....	19
IV 1.1. Matériel végétal	19
IV.1.2. Appareils et produits chimiques	19
IV.2. Méthodes	20
IV 2.1. Préparation de la matière végétale	20
IV.2.2. Préparation des extraits	20
IV.3. Détermination du rendement.....	22
IV.4. Screening phytochimique des extraits de quelque métabolite secondaire	22
IV.5. Dosage des composés phénoliques	23
IV.5.1. Dosage des flavonoïdes	23
IV.5.1.1. Principe	23
IV.5.1.2. Mode opératoire.....	23
IV.5.2. Dosage des polyphénols	24
IV.5.2.1. Principe	24
IV.5.2.2. Mode opératoire.....	24
IV.6. Activités antioxydants.....	24
IV.6.1. Test du radical DPPH	24
IV.6.1.1. Principe	24
IV.6.1.2. Mode opératoire.....	25
IV.6.2. Test de l'ABTS	25

Chapitre V Résultats et discussions

V.1. Rendement des extraits méthanolique	28
V.2. Test screening phytochimique	29
V.3. Analyses quantitatives des extraits.....	30
V.3.1. Teneur en polyphénols	30
V.3.2. Teneur en flavonoïdes	31
V.4. Activités antioxydantes	32
V.4.1 Résultat de Test de piégeage du radical libre DPPH [•]	32
V.4.2. Résultat de Test de l'ABTS	36
Conclusion et perspectives	40

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I. Classification des terpénoïdes.....	12
Tableau II. Classification botanique de <i>R. alaternus</i>	14
Tableau III. Classification botanique d' <i>A. radiata</i>	16
Tableau IV. Classification botanique de <i>C. incana</i>	17
Tableau V. rendements des plantes étudiées.....	28
Tableau VI. Résultats des tests phytochimiques de chaque extrait méthanolique.....	29

Liste des figures

Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes.....	7
Figure 2 : Différents types des flavonoïdes à partir du squelette flavane	7
Figure 3 : Structure des tanins hydrolysables	8
Figure 4 : La structure des tanins condensés.....	9
Figure 5 : La structure des pseudo-alcaloïdes	10
Figure 6 :La structure des proto-alcaloïdes.....	10
Figure 7 : Squelette et configurations des génines stéroïdique des saponosides.....	11
Figure 8 : structure d'un terpénoïdes.....	12
Figure 9 : Photo de <i>Rhamnus alaternus</i> L.....	13
Figure 10 : Photo d' <i>A. radiata</i> prise par Bammou M dans la région d' Errachidi	15
Figure 11 : <i>Centaurea incana</i> photo original.....	17
Figure 11 : <i>Rhamnus alaternus</i>	19
Figure 12 : La partie aérienne de <i>Rhamnus alaternus</i> L: (A : fraîche ; B : poudre	20
Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de <i>Rhamnus alaternus</i> L par macération	21
Figure 14 : Réduction du radical DPPH•	25
Figure 15 : Teneur en polyphénols des extraits méthanolique (<i>R. alaternus</i> , <i>A. Radiata</i> et <i>C. incana</i>).....	30
Figure 16 : Teneur en Flavonoïdes des extraits méthanolique (<i>R. alaternus</i> , <i>A. Radiata</i> et <i>C. incana</i>).....	32
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour <i>R.alaternus</i> (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)	33
Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour <i>A.radiata</i> (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)	34
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour <i>C. incana</i> (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)	34
Figure 20 :Représentation de l'inhibition de radical DPPH• par l'estimation des valeurs	

d'IC ₅₀ pour les différents extraits (<i>R. alaternus</i> , <i>A. Radiata</i> , <i>C. incana</i>).....	34
Figure 21: Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS• en fonction des différentes concentrations utilisées pour <i>R. alaternus</i> (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)	36
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS• en fonction des différentes concentrations utilisées pour <i>C. incana</i> (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)	37
Figure 23 : Pourcentage d'inhibition de radical libre ABTS• en fonction des différentes concentrations utilisées pour <i>A. radiata</i> (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)	37
Figure 24: Représentation de l'inhibition du radical ABTS• par l'estimation des valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits (<i>R. alaternus</i> , <i>A. Radiata</i> , <i>C. incana</i> , trolox).....	38

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

A. radiata : *Anvilea Radiata*.

C. incana : *Centaurea incana*.

cm : Centimètre.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

E : Extrait.

EAG : Équivalent d'acide gallique.

EM : Extrait méthanolique.

EQ : Equivalent Quercitrine.

FCR : Réactif de Folin Ciocalteu.

Hcl : L'acide chlorhydrique.

HgCl₂ : Chlorure de mercure.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

Ic₅₀ : Concentration inhibitrice médiane.

KI : Iodure de potassium.

K₂SO₈ : Persulfate de potassium.

MeOH : Méthanol.

mg : Milligramme.

mm : Millimètres.

nm : Nanomètre.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

R (%): Rendement en pourcentage.

R. alaternus : *Rhamnus alaternus L.*

PA : Principe actif.

PP : Polyphénols.

µg : Microgramme.

UV : Ultraviolet.

Introduction

Introduction

Au cours des décennies passées, l'intérêt public pour les thérapies naturelles a considérablement augmenté dans les pays industrialisés (**Alhoud et al., 2018**). Les plantes médicinales représentent la première source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules, nécessaires à la mise au point de futurs médicaments contre de nombreuses maladies. La valorisation de ces plantes demeure un domaine de grande importance pour le pays (**Maurice, 1997**).

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal très riche et diversifié dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes, on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes médicinales qui occupent une large place et joue un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie (**Duraffourd et al., 1997**).

Plusieurs études et recherches scientifiques ont été consacrées pour exploiter ces propriétés avantageuses afin de découvrir différentes substances bioactives dans le but de traiter des maladies. appelés : Les métabolites secondaires (**Akrout et al., 2001**). Ces composés sont utilisés comme des agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, mais essentiellement antioxydants qui défendent contre le stress oxydant (**Bourgaud et al., 2001; Kar, 2007**).

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les oxydants et les antioxydants en faveur des premiers (**Powers et al., 2010**). La réduction univalente de l'oxygène résulte dans la formation des espèces réactives de l'oxygène dont font partie les radicaux libres, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulier...etc. Toutes ces espèces sont potentiellement toxiques pour l'organisme (**Pincemail, 1998**).

Dans ce cadre, l'objectif de la présente étude est d'avoir un extrait brut de la partie aérienne de *R. alaternus*, *A. radiata* et *C. incana* afin de réaliser des tests phytochimiques.

Cette étude comporte deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, constituée de trois chapitres l'un sur les généralités sur les plantes médicinales, le deuxième chapitre sur les

métabolites secondaires et le dernier chapitre sur la présentation des plantes étudiées (*R. alaternus*, *A. radiata*, *C. incana*).

La seconde partie concerne la partie expérimentale :

- ▶ L'extraction méthanolique.
- ▶ Screening phytochimique pour avoir les différents constituants des plantes à savoir : (les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les alcaloïdes et les terpènes).
- ▶ Dosage des polyphénols et flavonoïdes.
- ▶ L'évaluation du pouvoir antioxydant de chaque extrait par deux méthodes couramment utilisées (DPPH, ABTS).

Enfin nous avons terminés notre travail par une conclusion et des perspectives.

Partie 1

Etude bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les plantes médicinales

I.1. Définition d'une plante médicinale

Les plantes dites médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses utilisées en médecine traditionnelle grâce à la présence de leurs constituants chimiques actifs dans différentes parties de ces plantes appelés «les métabolites secondaires » (Derradj, 2020).

Seuls les parties les plus abondantes en principes actifs seront choisies il peut s'agir de la plante entière, où des feuilles, tige, racine, des sommités fleuries, de l'écorce, des fruits ou des fleurs, utilisées fraîches ou sèches (Nelly, 2013)

I.1.1 Intérêt de l'étude des plantes médicinales

L'intérêt de l'étude des plantes médicinales revient à l'existence de ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine ou animale. Au niveau mondial la plus grande partie des plantes utilisées, est destinée à la phytothérapie, à la production de molécules pour la médecine allopathique (Benjilali et Zarira, 2005).

I.1.2. Avantages des plantes médicinales

Généralement les plantes médicinales d'usage habituel ne causent que très peu d'effets indésirables, c'est d'ailleurs l'un de leurs principaux avantages, mais aussi grâce à la rapidité de leurs effets sur le métabolisme, certaines plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme (Pinto et al., 2003).

I.1.3. Inconvénients des plantes médicinales

Certaines plantes sont inoffensives tandis que d'autres sont toxiques et ne sont utilisées que sous des formes bien contrôlées. Son utilisation sans un avis d'un spécialiste peut aboutir à des intoxications graves et parfois mortelles (Williamson, 2001).

I.1.4. Fonctionnement des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont destinées à être utilisées selon un mode de préparation traditionnel, généralement en infusion ou en décoction, ces plantes peuvent être utilisées en l'état ou comme matière première pour réaliser des préparations. Comme tous les médicaments, certaines plantes médicinales provoquent des effets secondaires, pour cette raison, ces plantes doivent être employées avec précaution et leurs utilisations nécessite l'avis d'un spécialiste (Chabrier, 2010).

I.2. La phytothérapie

Le terme « phytothérapie » vient du grec «phyton» qui signifie végétal et de «therapein » qui signifie soigner (Nelly, 2013). La phytothérapie est le traitement par les plantes (Bruneton, 1999). Une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques en utilisant des plantes médicinales (Wichtl et Anton, 2003).

Selon l'OMS (2013), la phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle, massivement employée dans certains pays en voie de développement grâce à sa présence locale et son faible coût, elle fait partie des médecines alternatives, médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels (Combe et al., 2019).

On distingue deux types de phytothérapies.

I.2.1. La phytothérapie traditionnelle

C'est une thérapie de substitution qui est une modalité de traitement neurobiologique très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement qui consiste à traiter les symptômes d'une affection et concerne aussi les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (Prescrire, 2007).

I.2.2. La phytothérapie clinique

La phytothérapie clinique est une approche globale du patient et de son environnement, le malade passe avant la maladie, s'intéresse principalement à l'état général du patient, et d'un examen clinique approfondi et non pas uniquement de la symptomatologie du patient à fin de déterminer le traitement et réguler les déséquilibres physiologiques du terrain spécifique à l'individu (Nelly, 2013). Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif pour compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies (Moreau, 2003).

I.2.3. Intérêt de la phytothérapie

La phytothérapie se pratique sous différentes formes en cas de maladie bénigne sans conséquence grave vers la guérison, dans d'autres cas la thérapie par les plantes est considérée comme une alternative reconnue, représentée par la médecine et dépourvue de tout effet toxique pour l'organisme vivant (**Berlencourt, 2008**).

I.2.4. Avantages de la phytothérapie

Malgré le développement de la médecine moderne la phytothérapie offre de multiples avantages. Le grand intérêt de la phytothérapie est la bonne tolérance des plantes lorsque celle-ci sont utilisées à la bonne posologie. Les plantes médicinales ne provoquent que très peu d'effets indésirables, de plus son usage est simple et à domicile et l'effet recherché est pratiquement immédiat (**Robert, 2019**).

I.2.5. Inconvénients de la phytothérapie

Certaines plantes peuvent être dangereuses jusqu'à provoquer la mort même à faibles doses, parmi les risques rencontrés on peut citer :

Allergies, surdosage, contaminations par des toxiques divers (métaux lourds, micro-organismes), interactions avec d'autres plantes ou traitements et modification des doses absorbées (**Cavalier et al., 2015**).

I.3. Définition de principe actif (PA)

Le ou les PA d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans une plante qui lui confère son activité thérapeutiques présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal, qui s'intègrent dans les processus de régulation physiologique de l'organisme (**Chabrier, 2010**).

Chapitre II

Les métabolites secondaires

Les plantes médicinales produisent plusieurs composés organiques qualifiés de métabolites primaires et secondaires issus du métabolisme (**Moussi,2016**).

II.1. Métabolites primair

Les métabolites primaires sont des molécules nécessaires à la machinerie moléculaire de la cellule (la croissance, le développement et la reproduction normale des cellules de l'organisme d'une plante, qui rassemblent quatre grandes catégories (les acides aminés, les lipides, les glucides et les acides nucléiques) (**Hopkins, 2003**).

II.2. Métabolites secondaires

Ce sont des composés synthétisés par les plantes autotrophiques qui sont non essentiels à la survie de la plante, ces derniers ont une multitudes de rôles écologiques par exemple dans les mécanismes de défense des plantes contre les prédateurs animaux ou les pathogènes, dans les relations plantes-micro-organismes, comme attractant sexuel pour les insectes pollinisateurs et la résistance des plantes contre divers stress biotiques et abiotiques (**Abdrrazak et Joël, 2007**).

Plus de 200.000 métabolites secondaires ont été identifiés à partir de divers organismes vivants (**Moussi, 2016**). Ces métabolites s'accumulent dans les plantes en petites quantités et répartis selon leurs rôles (**Abdrrazak et Joël, 2007**).

Les métabolites secondaires peuvent être classés en plusieurs grands groupes principalement les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines et les terpénoïdes.

II.2.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques quasiment universels et abondant chez les plantes supérieurs, avec plusieurs structures identifiées, ce sont des métabolites secondaires produits naturellement dans toutes les familles des végétaux(**Havsteen,2002**), responsables de la couleur variées des fleurs, fruits et parfois les feuilles par la présence des pigments colorés tel que les anthocyanes, responsables de la coloration qui varie de l'écarlate au rose au violet et au bleu (**Hopkins, 2003**).

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 atomes de carbones avec deux cycles aromatiques A et B reliés par un pont de trois carbones en formant un hétérocycle organisé dans une structure générale de type C6-C3-C6 (figure 1) c'est les plus nombreux parmi les phénoliques(**Alan, 2009**).

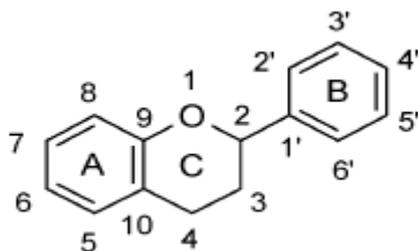


Figure1 : Squelette de base des flavonoïdes (Alan, 2009).

La structure des différents types de flavonoïdes varient par la nature de l'hétérocycle oxygéné (Alan, 2009).

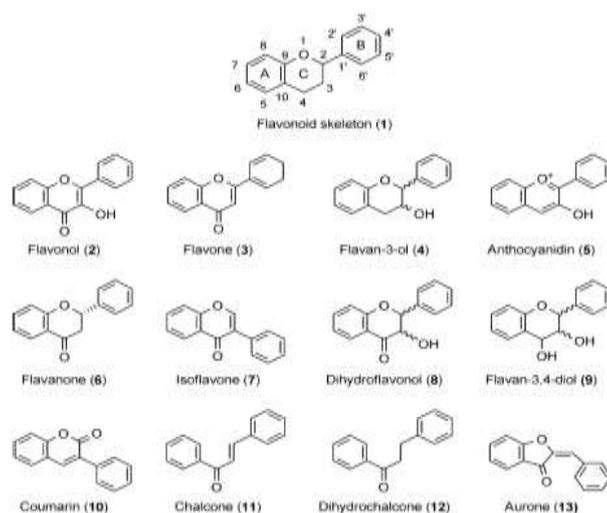


Figure 2 : Différents types des flavonoïdes à partir du squelette flavane (Dacosta,2003).

Les flavonoïdes possèdent plusieurs activités biologiques intéressantes telles que l'activité anti-inflammatoire (Park et al., 2008), antimicrobienne (Hopkins, 2003) et une activité contre la peroxydation lipidique et l'atteinte hématologiques (Rao et Vijayakumar, 2008).

II.2.2. Tanins

Historiquement, l'importance des plantes à tanins est liée à leurs propriétés tannantes utilisées pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau d'animaux en cuir, par leurs propriétés d'établissement de liaison entre les fibres de collagène de la peau, ce qui lui confère à cette dernière une résistance à l'eau à la chaleur et à l'abrasion, (**Hopkins, 2003**). Cette liaison hydrogène se fait entre le groupement OH et Nh₂ des protéines de collagène et les OH phénoliques des tanins (**Guignard, 2000**).

Les tanins sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire de 500 à 3000, et sont présents pratiquement dans tout les végétaux et dans toutes les parties (racines, feuilles, tige...etc) mais aussi en abondance dans les tissus âgés (**Messai, 2011**).

Les tanins protègent contre les toxicités induites par différents agents (UV, les métaux lourds, les pollutions...etc), on distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leurs structures aussi bien que par leurs origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 2009**).

II.2.2.1 Tanins hydrolysables

Ce sont des oligo – ou des polyesters d'un sucre généralement le glucose et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol, cet acide phénol peut être un acide gallique en cas de tanins gallique, où acide éllagique en cas d'ellagitanins. Il existe un autre type de tanins dénommé tanins complexes qui sont construits par une unité gallotanins où ellagitanins comportant une liaison à un flavonoïde (**Bruneton, 2009**).

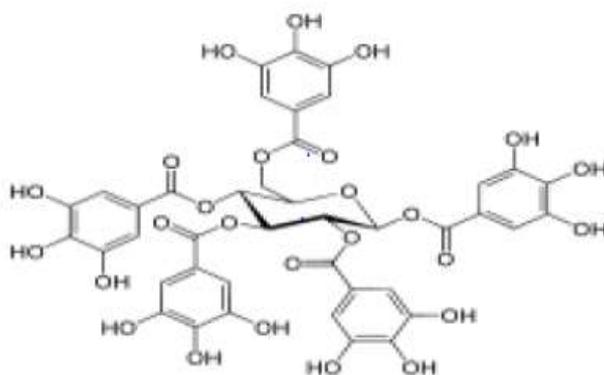


Figure3 : Structure des tanins hydrolysables (**Bruneton, 2009**).

II.2.2.2. Tanins condensés

Les tanins condensés appelés aussi paraanthocyanidines ce sont des polymères flavanique c'est-à-dire, une structure voisine à un flavonoïde. L'élément structurale de base de ces polymères est un flavan-3-ols, liées entre elles majoritairement par les liaisons C4-C8 et rarement C4-C6, ces liaisons résultent d'un couplage entre le C-4 électrophile d'un flavanyl issu d'un flavan-4-ol où d'un flavan-3,4-diol et une position nucléophile (C-8, plus rarement C-6) d'une autre unité (**Guignard, 2000**).

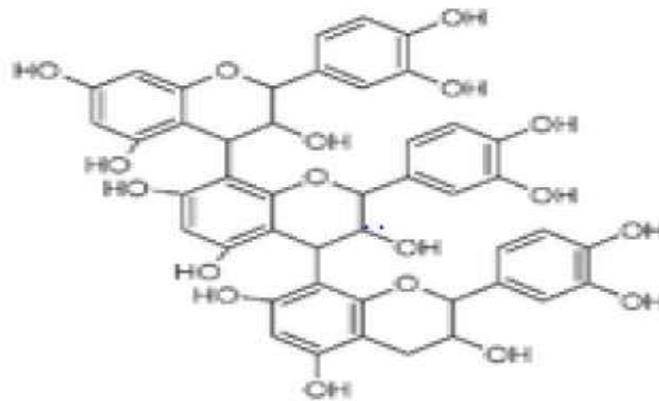


Figure 4 : La structure des tanins condensés(**Bruneton, 2009**).

II.2.2.2. Alcaloïdes

Ce sont des substances azotées basiques, d'origine naturelle de faible poids moléculaire, variant de 100 à 900 et sont généralement des produits cristallisables, rarement colorés, composé d'une structure complexe hétérocyclique, biosynthétiquement issu à partir d'un acide aminée (**Bruneton, 1999**). Les alcaloïdes sont classés en trois principales classes :

Alcaloïdes vrais : désignent des substances azotées, leurs atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique, ce sont des dérivés d'acides aminés (**Guignard, 2000**). Ils sont présents dans les plantes soit sous forme libre, sels, amine oxyde (**Badiaga, 2011**).

Pseudo-alcaloïdes : Possèdent tous les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés, comme les alcaloïdes terpénique, monoterpénique, Sesquiterpénique. Ils sont issus du métabolisme de l'acétate c'est le cas de la conine (**Bruneton, 1999**).

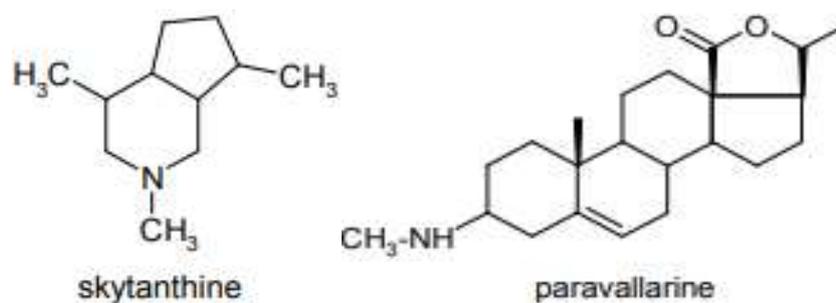


Figure 5 : La structure des pseudo-alcaloïdes (Bruneton, 2009).

Proto-alcaloïdes : Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés.

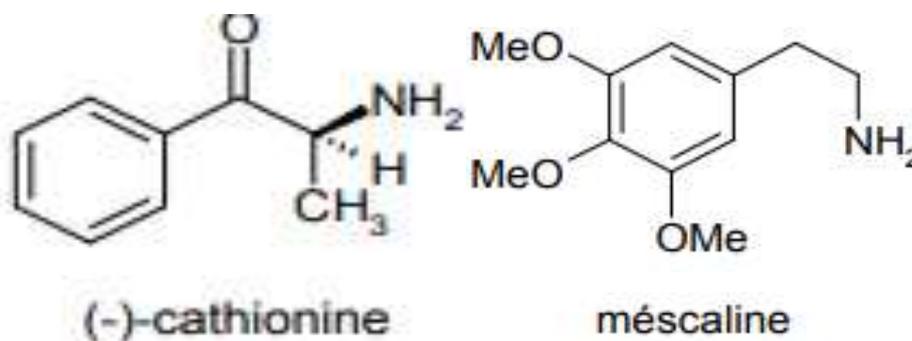


Figure 6: La structure des proto-alcaloïdes (Bruneton, 2009).

Les alcaloïdes sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaire où peu polaire et dans les alcools et possèdent des activités pharmacologiques intéressantes qui s'exercent à faible dose dans les domaines les plus variés un rôle anesthésiant (cocaïne) comme anesthésie local, un rôle analgésique (morphine) (Bruneton, 1999).

II.2.2.3. Saponines

Les saponines, dénommées saponosides sont des substances hétérosidiques de poids moléculaire élevé, leurs structures contenant un aglycone appelée sapogénine à structure stéroïdique où triterpénoïde relié a une, où plusieurs chaines de sucres (Abderrazak, 2007).

Les saponines sont classés en fonction du nombre de chaînes de sucres dans leurs structures: mono, di ou tridesmoside. Les saponines monodesmosidiques ont une seule chaîne de sucre, attaché en C-3, quant au saponines bidesmosidiques ont deux chaînes de sucres, dont l'une est souvent attachée par une liaison éther en C-3 et l'autre par une liaison estère en C-28 (saponines triterpénique) où une liaison éther en C-26 (**El Barky et al., 2017**).

Les saponines sont des composés tensioactifs, en raison de la présence d'un aglycone soluble dans les lipides et d'une ou plusieurs chaînes de sucre solubles dans l'eau ce qui lui permet d'avoir des propriétés détergentes, mouillantes, et moussantes, dans les solutions aqueuses (**Bruneton, 1999**).

Les saponines sont connus par leurs activités biologiques et pharmacologiques variées : activités antitumorales, anti inflammatoire, immunomodulatrices, synthèse d'hormones, agissant sur le système cardiovasculaire, sur le système nerveux central et le système endocrinien (**Bruneton, 1999**). Les saponines sont également utilisées dans l'industrie pharmaceutique comme adjuvant pour améliorer l'absorption d'autres médicaments en augmentant la solubilité (**Barbosa, 2014**).

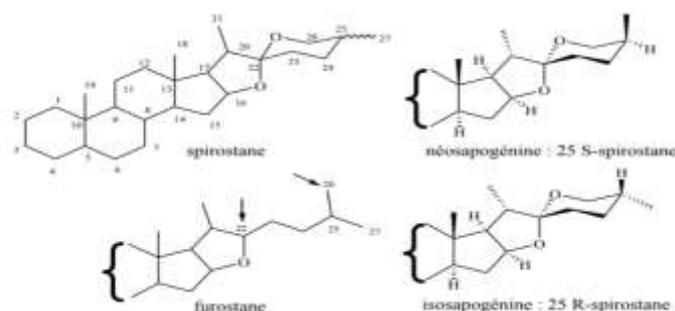


Figure 7 : Squelette et configurations des génines stéroïdique des saponosides (**Bruneton, 2009**)

II.2.2.4. Terpénoïdes

Les terpénoïdes c'est la famille la plus vaste des métabolites secondaires, avec près de 15000 structures moléculaires connus, ce sont des molécules hydrophobes, composées d'unité isoprène à cinq atomes de carbones C5 reliées entre elles, leurs grandes diversité trouve son origine dans le nombre d'unité de base qui composent la chaîne ainsi que les divers modes d'assemblage, et sont dotés des propriétés antiseptiques mais également antibiotiques,

astringentes, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, hémostatiques et Vasoconstrictrices (Hopkins, 2003).

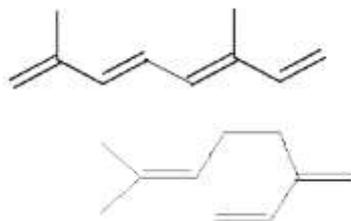


Figure 8 : Structure de base d'un terpénoïdes (Bruneton, 2009).

Les terpènes peuvent être considérés comme des combinaisons de deux ou plusieurs molécules isoprène, synthétisées à partir de l'acétyl CoA (Deyson, 1982).

Selon le nombre d'atomes de carbones on distingue :

Tableau I : La classification des terpénoïdes (Hopkins, 2003).

La formule brute	Le type de terpénoïde
C ₅ H ₈	Isoprène
C ₁₀ H ₁₆	Monoterpènes
C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes
C ₂₀ H ₃₂	Diterpènes
C ₂₅ H ₄₀	Sesterpènes
C ₃₀ H ₄₈	Triterpènes
C ₄₀ H ₆₄	Tétraterpène

Chapitre III

Les plantes étudiées

III.1. *Rhamnus alaternus* L :

III.1.1. Généralités :

R. alaternus est une espèce végétale qui appartient à la famille des rhamnacées, les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle, c'est une famille cosmopolite d'arbre, d'arbuste et herbacées qui contient environ 50 genres et 900 espèces (Marzouk et al., 1999) *R. alaternus* est un arbuste dioïque à feuilles persistantes et native à fruits charnus, de 1 à 6 mètres de hauteur (Izhaki et al., 2002).

Elle est distribuée dans toutes les régions méditerranéennes y compris le nord de l'Afrique (l'Algérie, Tunisie, Maroc) et sur le littoral de l'Europe méridionale, poussant généralement dans un climat médio-terrain avec des étés chauds et secs et des hivers modérés à froid. On la trouve dans les forêts, rocailles et les montagnes, Ses feuilles sont alternes de forme ovale et lancéolées à court pétioles, Les nervure sont parallèle au bord du limbe et les fleurs sont petites unisexuées de couleur jaune, réunis en petites grappes latérales, fleurit à la fin de l'hiver et au début du printemps avec un sommet à la mi-février (Marzouk et al., 1999) Le fruit est de forme sphérique contenant entre 2 à 5 graines de baies qui est d'abord rouge puis noire à la maturité, qui se passe durant la période de la fin du printemps et au début de l'été, d'une largeur moyenne de 2,5mm et d'une longueur de 4,6mm, et 9,1 mg de poids maximum (Quezel et Santa, 1963).



Figure 9 : *Rhamnus alaternus* L.

III.1.2. Classification botanique :

Classification botanique de *R. alaternus* est représentée dans le tableau suivant :

Tableau n : Classification botanique de *R. alaternus* (Yi-ling et Pan-kai,1982).

Taxon	Nom
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Genre	Rhamnus
Espèce	<i>Rhamnus alaternus L</i>

Noms vernaculaires : Am'lile'ce, M'lila, Soitfaïr, Oud El-khir ou bien Safir en arabe et Mélilés (Bhouri et al., 2012)

III.1.3.Utilisation traditionnelle :

En médecine traditionnelle *R. alaternus* a été employée en Algérie et dans de nombreux autres pays d'Afrique du Nord en tant que digestif, diurétique, laxatif, hypotensif et pour le traitement des complications hépatiques et dermatologiques et contre la jaunisse (Bhouri et al., 2012).

III.1.4.Compositions chimiques :

L'étude phytochimique sur les extraits de la partie aérienne et les racines de *R. alaternus* a révélé la présence de diverses quantités d'anthraquinones, de coumarines, de tannins et en particulier des flavonoïdes (Ammar et al., 2009).

Cette plante est aussi composée de 68% d'eau, de minéraux (Cu, P, Mg, Na, K, Mn, Zn, Fe, Ca) de lipides, protéines et de fibres (cellulose, lignine et hémicellulose) (Izhaki et al., 2002).

III.1.5.Activités biologiques :

R. alaternus ont plusieurs activités biologiques, en particulier les activités antimicrobiennes contre une vaste gamme de microorganismes (Kosalec et al., 2013) des

activités antioxydants et anti-inflammatoires grâce à la présence des flavonoïdes et des polyphénols (Nekkaa *et al.*, 2021) et des activités anti-génotoxiques (Ammar *et al.*, 2009).

III.2. *Anvillea Radiata* :

III.2.1. Généralités :

A. radiata est une espèce saharienne poussant sous forme d'arbrisseau, appartenant à la famille des Asteraceae qui comporte plus de 1500 genres et plus de 25 000 espèces, localisées au nord de l'Afrique et dans certaines régions du Moyen-Orient. *A. radiata* est un petit arbuste ligneux, densément ramifiée, de 20 à 50cm de hauteur, les feuilles sont de couleurs vert-gris, petites, et grossièrement triangulaires, avec un grand pétiole et un limbe fortement denté. Les grands capitules solitaires ont un diamètre de 3 à 5cm, avec de longues ligules. Les fleurs sont toutes jaunes-oranges les fleurs extérieur mesurent 25mm de long, et elle fleurit généralement au printemps (Quézel et Santa, 1963).



Figure 10 : Photo d'*A. radiata* prise par Bammou M dans la région d'Errachidia

III.2.2. Classification botanique

Tableau III : Classification botanique d'*A. radiata* (Quézel et Santa, 1963)

Taxon	Nom
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Anvillea</i>
Espèce	<i>Anvillea radiata</i>

A. radiata est communément appelée nougd l'hoor (**Hammiche et Maiza, 2006**). Horf, Ain elbegra (**Quezel et Santa, 1962**).

III.2.3. Utilisation traditionnelle

Selon la médecine traditionnelle, l'infusion et la macération des feuilles et des tiges d'*A radiata* est largement utilisée pour le traitement des pathologies broncho-pulmonaire, la dysenterie et les trouble gastro-intestinaux (**Boukhris et al., 2016**).

III.2.4. Compositions chimiques et activités biologiques

En 2004 les études phytochimiques et pharmacologiques des extraits d' *A radiata* réalisé par El Hassany et son équipe ont isolé à partir de la partie aérienne le germacranolide, 8 α et le 9 α -epoxyparathenolide, avec deux composés connus, 9 α -hydroxyparathenolide et parthenolid-9-one et la présence des contenus phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux, ces composés sont bien connus pour leurs effets bénéfique sur la santé humaine et leurs capacité à limiter les dommages dus au stress oxydatif du au espèces radicalaires (**Boukhris et al., 2016**) ainsi que d'autres activités biologiques intéressantes dont des activités antioxydantes anti-inflammatoire, anti cancéreuse, antifongiques et antibactériennes...(Saoud et al., 2018).

III.3. *Centaurea incana* :

III.3.1. Généralités :

C. incana appartient au genre *Centaurea* qui comprend environ 450 espèces dont 45 poussent spontanément en Algérie dont sept sont localisés dans le Sahara, c'est une plante saharienne qui appartient à la famille des Astéracées, poussant spontanément (**Zater et al., 2016**) dans les régions du M'Zab et des Aurès en Algérie (**Cosy et Aclfnou, 1990**) sont généralement riches en flavonoïdes et en lactones sesquiterpéniques, qui sont les principaux constituants responsables de l'activité biologique(**Akkal et al., 2007**).



Figure 11 : *Centaurea incana* photo originale

III.3.2. Classification botanique :

Tableau IV : Classification botanique de *C. incana* (Quezel et Santa, 1963).

Taxon	Nom
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Ordre	Asterales
Famille	Astéracées
Genre	Centaurea
Espèce	<i>Centaurea incana</i>

III.3.3. Utilisation traditionnelle :

C. incana est connue pour ses vertus médicinales et propriétés cosmétiques, utilisée pour soigner les troubles de la digestion, les inflammations des yeux, et également à lutter contre la chute de cheveux, soulage les petites plaies cutanées, et renforce l'activité du foie et les défenses immunitaires, On lui prête même des vertus contre le diabète, les rhumatismes, la goutte et l'hypertension (Zater et al., 2016).

III.3.4. Compositions chimiques et activités biologiques :

C. incana présente typiquement une grande diversité structurales dans les principaux composés bioactifs, y compris les triterpènes, les acides aminés, les flavonoides, les lignanes et des lactone sesquiterpenique (Akkal et al., 1997 ; Zater et al., 2016). Elle présente des

propriétés médicinales principalement comme Analgésique, cytotoxique, anti-bactériennes et anti-fongique (Zater et *al.*, 2016).

Partie 2

Etude expérimentale

Chapitre IV

Matériels et méthodes

IV.1. Matériels :

IV 1.1. Matériel végétal :

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé est constitué de la partie aérienne de *R. alaternus* (feuilles) qui a été récoltée au mois de mai 2021 dans une forêt de la région de Toudja qui est située dans le nord de la wilaya de Bejaia, Quant à *A. Radiata* a été collectée au mois d'avril dans la wilaya de Ghardaïa, et *C. incana* est récoltée au mois de mai dans la région d'Oum el Bouaghi.

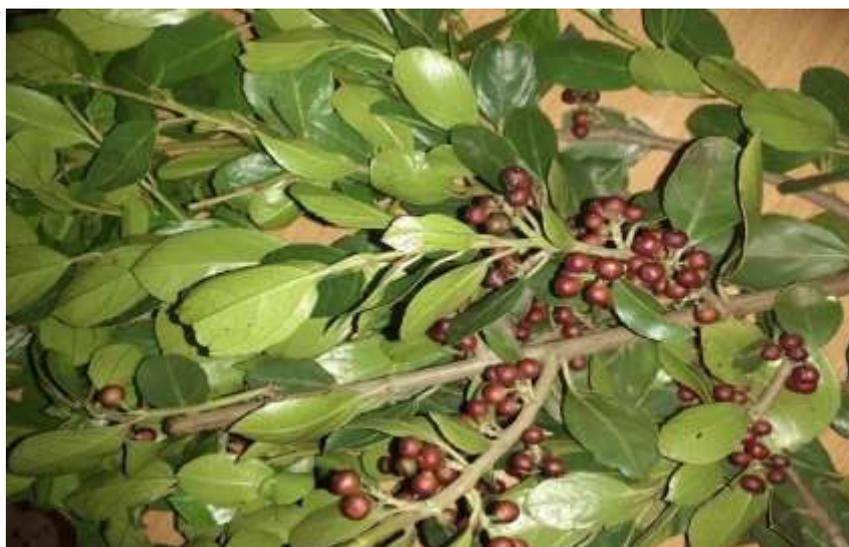


Figure 11: *Rhamnus alaternus*

IV.1.2. Appareils et produits chimiques

Matériel	Les réactifs
Vortex, etuve, balance de précision, agitateur magnétique, spectrophotomètre, béchers, pipettes, micropipette, éprouvettes graduées, tubes à essais, entonnoir, erlenmeyers, boites de pétrie, Spatule.	Méthanol, FeCl ₃ , folin, chlorure-d'aluminium, eau distillée, 2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH), carbonate de sodium, HCl, magnésium, anhydride acétique, chloroform, H ₂ SO ₄ , KI, K ₂ SO ₈ , HgCl ₂ , Mayer.

IV.2. Méthodes :

IV 2.1. Préparation de la matière végétale :

La partie aérienne de *R. alaternus*(feuilles)a été nettoyée des impuretés, puis séchée à température ambiante et à l'ombre pendant quelques jours, ensuite broyée à l'aide d'un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre qui est conservée dans une boîte fermée, jusqu'à utilisation.



Figure 12: La partie aérienne de *Rhamnus alaternus* L: (A : fraîche ; B : poudre).

IV.2.2.Préparation des extraits :

L'extraction signifie la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux,des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs (**Handa, 2008**).

Dans nos étude, la méthode d'extraction utilisée est une extraction par macération (extraction solide-liquide) : une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale dans le méthanol(solvant d'extraction) pour extraire les composés phénoliques (**Leybors et Fremeaux, 1990**).

Cette méthode a été effectuée selon le protocole décrit par (**Belhattab et al., 2004**) en y apportant quelques modifications :

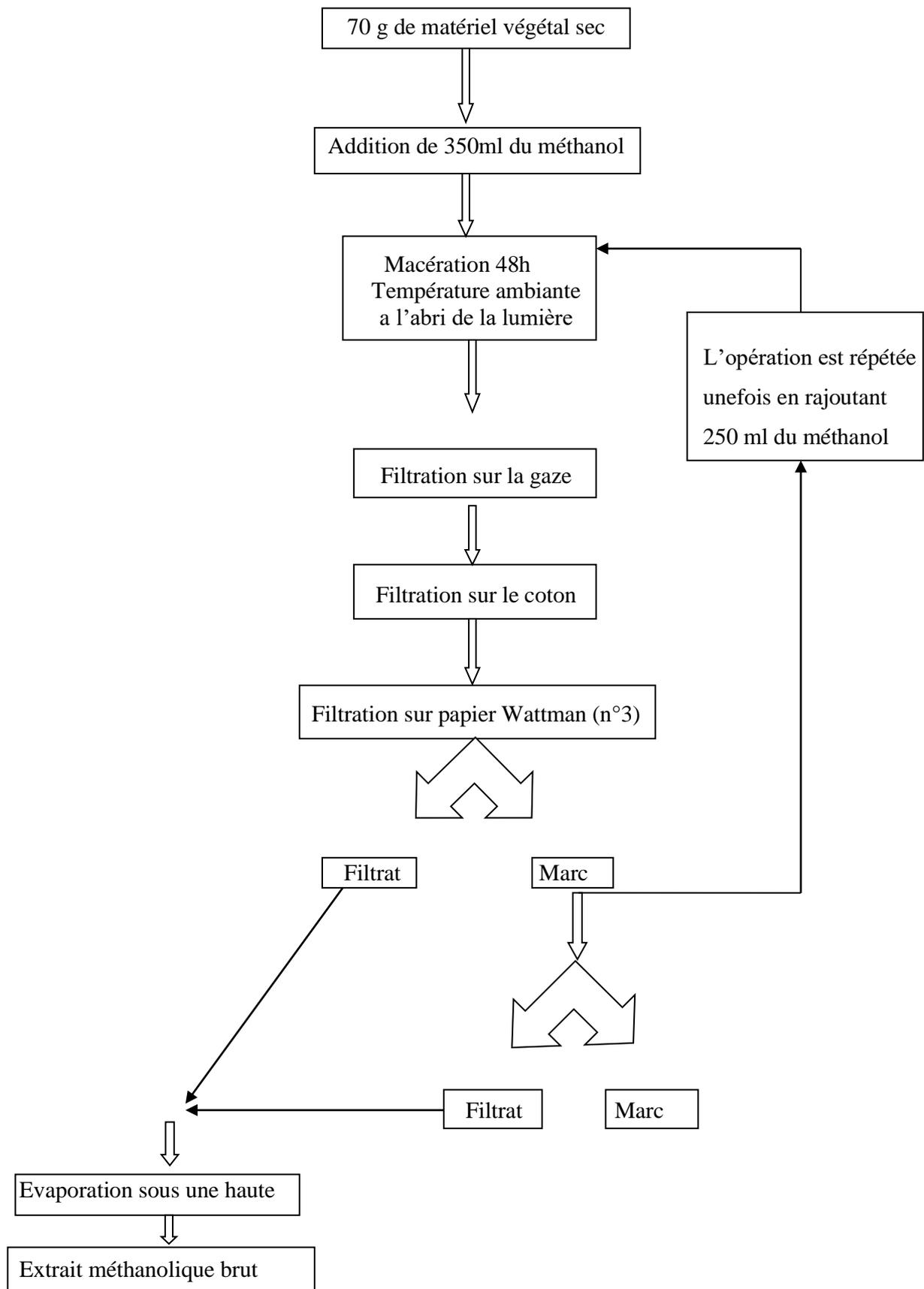


Figure 13 : Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Rhamnus alaternus* L par macération (Belhattab et al., 2004).

IV.3.Détermination du rendement :

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenue et la masse de la matière végétale sèche (Belyagoubi, 2006). Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R (\%) = (P1-P2) / P3 \times 100$$

Où :

R: Le rendement en %.

P1: Poids de la boîte de pétrie après évaporation.

P2: Poids de la boîte de pétrie vide.

P3: Poids de la matière végétale.

IV.4.Screening phytochimique des extraits :

Screening phytochimique est un ensemble de tests effectués sur l'EM préparés, afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites primaires et secondaires en utilisant des réactifs spécifiques comme indiqué ci-dessous :

IV.4.1.Test des flavonoïdes :

Traiter 1ml de chaque extrait avec 0.1 ml d'HCl (1%), ajouter quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (N'Guessan *et al.*, 2009).

IV.4.2.Test des tanins :

1 ml de chaque extrait méthanolique des plantes étudiées, on ajoute 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ à 1%. Après quelques minutes d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noir ou bleu-verte (Karumi *et al.*, 2004).

IV.4.3. Test des saponines :

La présence des saponines est mise en évidence par l'addition à 1ml de l'extrait plus 2 ml d'eau distillée chaude et agité pendant 15 secondes le mélange est laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence de saponines (N'Guessan *et al.*, 2009).

IV.4.4. Test des alcaloïdes :

Le test consiste à ajouter à 1.5 ml de chaque extrait 0.5 ml d'Hcl à 1% et 3 gouttes de réactif de Mayer, l'apparition d'un précipité blanc crémeux, révèle la présence des alcaloïdes (Majob *et al.*, 2003).

IV.4.5. Test des stérols et terpénoïdes :

Evaporation à sec 10 ml de la solution à analyser, dissoudre le résidu dans (0.5ml) d'anhydride acétique puis (0.5 ml) de chloroforme. A l'aide d'une pipette ajouter (2 ml) de H₂SO₄ concentré au fond du tube sans agiter. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et terpénoïdes (Edeoga *et al.*, 2005).

IV.5. Dosage des composés phénoliques :**IV.5.1. Dosage des flavonoïdes :****IV.5.1.1. Principe :**

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexes flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium utilisé sous forme de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). La liaison de groupement hydroxyle des flavonoïdes avec le trichlorure d'aluminium, qui se traduit par un complexe jaunâtre (Bahorun *et al.*, 1996).

IV.5.1.2. Mode opératoire :

L'estimation de la teneur en flavonoïdes dans nos extraits (*R. alaternus*, *A. radiata* et *C. incana*) est réalisée par la méthode de (Bahorun *et al.*, 1996), qui consiste à mettre 1 ml d'extrait dans un tube à essai et on ajoute de la solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2 % : laisser incuber 15 min à température ambiante. Lire les abs à partir du spectrophotomètre UV-visible à 430 nm. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme d'extrait en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (mg EQ/g E).

IV.5.2. Dosage des polyphénols :

IV.5.2.1. Principe :

La quantification des polyphénols totaux est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et l'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (MO₈O₂₃). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

IV.5.2.2. Mode opératoire :

Les polyphénols (PP) ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole De (Li *et al.*, 2007). Une quantité de 0,2ml de l'extrait brut méthanolique pour chaque plante est introduite dans des tubes à essais, à laquelle on ajoute 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10% v/v). Après 3 à 5 minutes, on ajoute 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5%. Les tubes sont agités et incubés pendant 120min. L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration des PP est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage. Etablie avec l'acide gallique et exprimé en milligramme (mg) équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG / g d'extrait). Pour chaque extrait, le test est réalisé en triplicata.

IV.6. Activités antioxydantes :

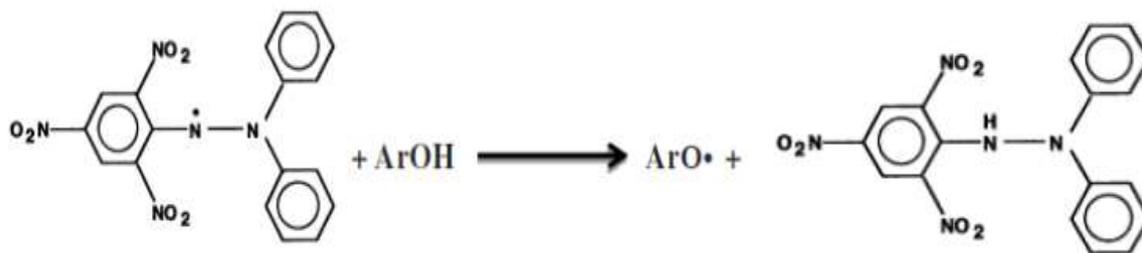
La mise en évidence du pouvoir antioxydant de nos extraits méthanolique a été réalisée par deux tests chimiques:

IV.6.1. Test du radical DPPH :

IV.6.1.1. Principe :

Ce test est largement utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante. Le composé chimique 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote (Sanchez *et al.*, 2002). Au contact avec un antioxydant donneur d'un hydrogène, le DPPH se réduit en 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune, cette couleur est l'indicateur du pouvoir

antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Moon *et al.*, 2009).



1: Diphenylpicrylhydrazyl
(Forme radicalaire)

2: Diphenylpicrylhydrazine
(Forme nonradicalaire)

Figure 14: Réduction du radical DPPH• (Molyneux, 2004).

IV.6.1.2. Mode opératoire :

Dans notre étude nous avons suivi la procédure faite par (Atoui *et al.*, 2005) comme elle est décrite ci-dessous, 50 µl de l'extrait en solution méthanolique à différentes concentrations de chaque extrait est ajoutés à 2000 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.04%). La lecture de l'abs est faite à 517 nm, après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Pour chaque concentration, le test est répété trois fois.

Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé suivant la formule :

$$PI = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Avec:

PI: Pourcentage d'inhibition.

A0: Absorbance du control.

A1: Absorbance de l'extrait après 30 min.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits, permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50).

IV.6.2. Test de l'ABTS :

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre de coloration bleu-verte. L'addition d'un antioxydant

donneur de H• à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction, transformant en ABTS incolore et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé, dans ce test nous avons utilisé le trolox comme molécule de référence, est effectué selon la méthode de (Re et al., 1999).

En pratique, le radical ABTS• a été préparé par la réaction de la solution d'ABTS à 7 mM avec une solution de persulfate de potassium (K₂S₂O₈ /2.45mM), cette solution a été laissée à l'obscurité pendant 16h, et à température ambiante (formation du radical ABTS•). Avant utilisation, la solution est diluée avec l'eau distillé pour obtenir une absorbance de 0,70 (+/- 0,02) à 740 nm et à 30 °C.

Ensuite, 1900 µl de la solution d'ABTS• a été mélangé avec 0,1 ml de différents extraits. L'absorbance est mesurée à 734nm après une incubation de 7 min à l'obscurité à la température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produit testé. Le pourcentage de l'activité scavenger du radical ABTS• est calculé comme suit :

$$Q = 100 (A_0 - AC)/A_0$$

Avec : **A₀** = absorbance initiale en absence de composé à tester

AC = absorbance mesurée au temps t.

Chapitre V

Résultats et

discussions

V.1. Le rendement des extraits méthanolique :

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol des plantes étudiées, nous a permis de déterminé les rendements de leurs extraits bruts (Tableau 5).

TableauV: Les rendements des plantes étudiées.

Plante	<i>R. alaternus</i>	<i>A. radiata</i>	<i>C. incana</i>
Rendement (%)	14,3%	15,5%	14,5%

Les résultats mentionnés dans le tableau montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait d'*A. radiata*, il est de 15.5% . De plus, les résultats montrent que le rendement des deux extraits suivants : *R. alaternus* et *C. incana* ont presque le même rendement 14.3% et 14.5%, respectivement.

Les résultats obtenus par **Boussahel et al., 2013** sur *R. alaternus* récoltés à Bordj Bou Arreridj, Lamacération dans le méthanol a donné un rendements de 14,48% ; ces résultats sont proches par apport à notre résultats. L'étude mené par **Ammar et al., 2008** sur la même espèce *R. alaternus* originaire de Tunisie, la macération de feuilles dans le méthanol suivie par le butanol saturé en eau a donné un rendement de 9%; Ces résultats sont inférieur de nos résultats.Des résultats supérieurs aux nôtres ont été trouvés dans une étude réalisée par **Moussi et ses collaborateurs, 2015** sur les feuilles de *R. alaternus* origine d'Algérie (commune d'Adakar). En effet la macération des feuilles dans le méthanol a donné un rendement de 22%.

Une autre étude menée par **Bouchouka, 2016** sur la partie aérienne d'*A. radiata* a donné un rendement de 16.42% ; ces résultat sont proches à nos résultats.

Boubellouta et al., 2021 ont obtenu un rendement de 15% pour l'extrait de *C. incana*, ces résultats sont voisine par rapport à nos résultats.

La période de récolte de la plante, le nombre et le temps de macération, le volume ainsi que la nature du solvant, constituent les paramètres susceptibles d'influencer le taux d'extraction (**Hayouni et al., 2007**).

V.2. Test screening phytochimique :

Un criblage phytochimique est réalisé sur les extraits préparés, mise en évidence les différentes familles de composés existant dans chaque plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitations ou de colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats obtenus sont représentés dans le **(tableau 6)**.

Tableau VI: Les résultats des tests phytochimiques de chaque extrait méthanolique.

	<i>A. radiata</i>	<i>C. incana</i>	<i>R. alaternus</i>
Alcaloïdes	+	+	-
saponines	+	-	+
Terpènes	+	+	+
Tanins	+	+	+
Stéroïdes	+	+	+
Flavonoïdes	+	+	+

(+) : Positif ; (-): Négatif.

✓ Les tests préliminaires réalisés sur les parties aériennes des plantes *R. alaternus* et *A. radiata*, ont mis en évidence la présence de la majorité des métabolites secondaires nous citons : Les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les terpènes, les stéroïdes, et les alcaloïdes à l'exception des alcaloïdes qui sont absents dans l'extrait de *R. alaternus*.

✓ Pour l'extrait de *C. incana* les tests des alcaloïdes, terpènes, tanins, stéroïdes et flavonoïdes sont révélés positifs à l'exception des saponines qui est négatif.

Nos résultats s'accordent avec ceux enregistrés dans les travaux menés par **Ammar, 2008** et **Hamiani, 2018** sur la *R. alaternus*. Ces auteurs ont confirmé la présence des flavonoïdes, des tanins et des saponines, Une autre étude réalisée par **Bouchenak et al., 2020** ont montré que *R. alaternus* présente les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les saponines.

De même nos résultats des tests phytochimiques réalisés s'accordent avec ceux réalisés par Lakhdar *et al.*,2013 qui ont montré également que la plante *A. radiata* contient des tanins, des flavonoïdes, des saponosides, des alcaloïdes et des terpénoïdes.

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que les plantes étudiées sont plus ou moins riches en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous a permis d'avoir une idée générale sur la composition chimique des plantes étudiées.

V.3. Analyses quantitatives des extraits :

V.3.1. Teneur en polyphénols :

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits, a été réalisée par la méthode spectrophotométrie avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les teneurs en polyphénols sont exprimés en mg EAG/g d'E, le taux des polyphénols des trois extraits (*R.alaternus*, *A. radiata* et *C. incana*) a été obtenu à partir d'une courbe d'étalonnage qui suit une équation de type : $y = 0,0109x + 0,0541$ sachant que $R^2 = 0,9896$.

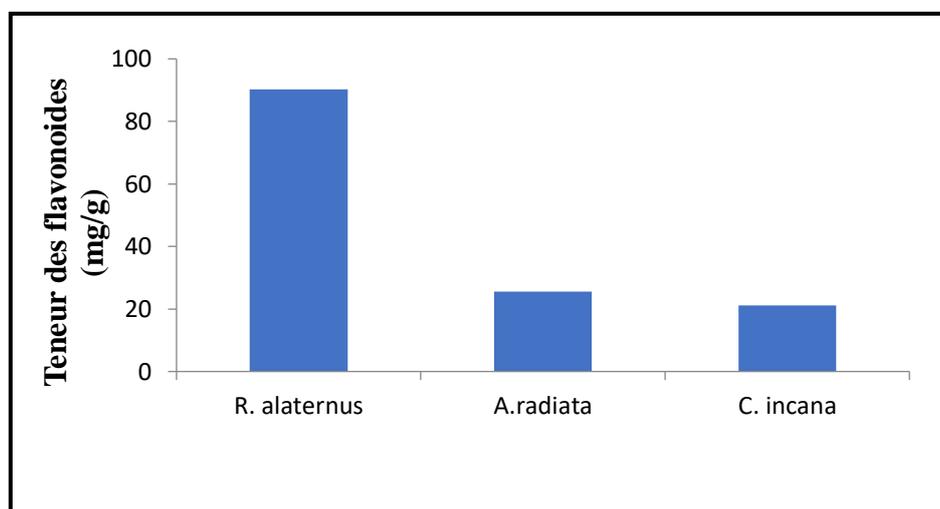


Figure 15: Teneur en polyphénols des extraits méthanolique (*R. alaternus*, *A. Radiata* et *C. incana*).

Le dosage des extraits méthanolique a montré que la teneur la plus élevée en polyphénols a été trouvée dans l'extrait de *R. alaternus*: 110,95 mg EAG/g de l'E. Par contre l'extrait d'*A. radiata* possède une quantité moins importante qui est égale à : 53,01 mg EAG/g de l'E.L'extrait de *C. incana* présente une faible teneur en polyphénols : 34,57mg EAG/gde l'E.

Une étude réalisée par **Ammar et ses collaborateurs 2007** sur les feuilles de *R. alaternus* de Tunisie, ont enregistré une teneur de $138 \pm 9 \mu\text{g EAG/ mg d'extract}$, ces résultats sont proches à nos résultats. D'autre part, **Kosalec et al., 2013** ont eu une quantité de polyphénols totaux pour l'E de *R. alaternus* qui est égale à $38,4 \pm 1,56 \text{ mg EAG/g d'E}$, ces résultat sont inférieur à nos résultats.

les études menées par **Hamada, 2016** sur l'extract d'*A. radiata* a montré une teneur en polyphénols de $117.60 \pm 2.62 \text{ mg EAG/ g d'E}$, ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Selon les études réalisées par **Boubellouta et al., 2021** la teneur en polyphénols pour l'extract de *C. incana* : $15,056 \pm 016 \text{ mg EAG/g d'E}$, ces résultats sont inférieurs à nos résultats.

V.3.2. Teneur en flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large et le plus répandu de composés Phénoliques (**Bakar et al., 2009**).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), la quercétine est considérée comme contrôle positif. La teneur en Flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extract méthanolique (mg EQ/g E). Le taux des Flavonoïdes des trois extraits (*R.alaternus*, *A. radiata* et *C. incana*) a été obtenu à partir d'une courbe d'étalonnage qui suit une équation de type: $y = 0,0299x + 0,0359$ sachant que $R^2 = 0,9986$.

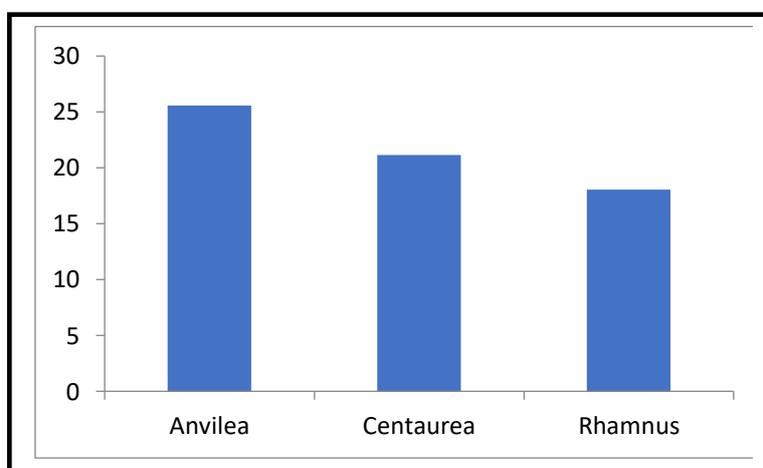


Figure 16: Teneur des flavonoïdes des extraits méthanolique (*R. alaternus*, *A. Radiata* et *C. incana*).

D'après l'histogramme illustré dans la **figure18** l'extrait de *R. alaternus* présente le meilleur résultat dans ce test avec une teneur (90,31mg EQ/ g d'extrait), suivi de l'extrait d'*A. Radiata* et de *C. incana* 25,55 de 21,14 (mg EQ /g d'extrait), respectivement.

Dans une étude réalisée par **Ammar et ses collaborateurs, 2007** a rapporté que l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus* de Tunisie contient environ 283 ± 11 mgEQ/g d'E, ces résultats sont supérieurs à nos résultats. Tandis que **Boussahel et ses collaborateurs 2013** ont confirmé la présence des flavonoïdes de teneurs de $61,12 \pm 1,2017$ mg EQ/g d'E pour l'extrait méthanolique des feuilles de *R. alaternus* qu'ils ont récolté de la région Teniet En Nasr Bordj–Bou-Arriridj, ces résultats sont inférieurs à nos résultats.

Concernant *A. Radiata* selon **Hamada, 2016** la teneur en flavonoïdes est de $14,91 \pm 0,5$ mgEQ/g d'E, cette valeur est inférieure par rapport à nos résultats.

La différence entre ces résultats et ceux de la bibliographie est due à de plusieurs facteurs, qui peuvent influencer sur la répartition qualitative et quantitative des composés phénoliques dans nos extraits, parmi ces facteurs intrinsèques: génétique et extrinsèques: climatiques et environnementaux (**Ebrahimi et al., 2009**). En plus la méthode de quantification qui peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2003**).

V.4. Activités antioxydantes

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante par piégeage des radicaux libres, dans cette étude nous avons utilisés deux méthodes (DPPH• et ABTS•)

V.4.1 Test de piégeage du radical libre DPPH•

Le radical DPPH• est la méthode la plus couramment utilisée grâce à sa simplicité, sa rapidité et son efficacité (**Bozin et al., 2008**). Cette activité a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517nm.

Dans ce test nous avons utilisé la quercétine comme standard, l'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC₅₀, qui est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH•. Plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus l'activité de l'extrait testé est grande (**Hebi et Eddouks, 2016**).

Les graphes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait.

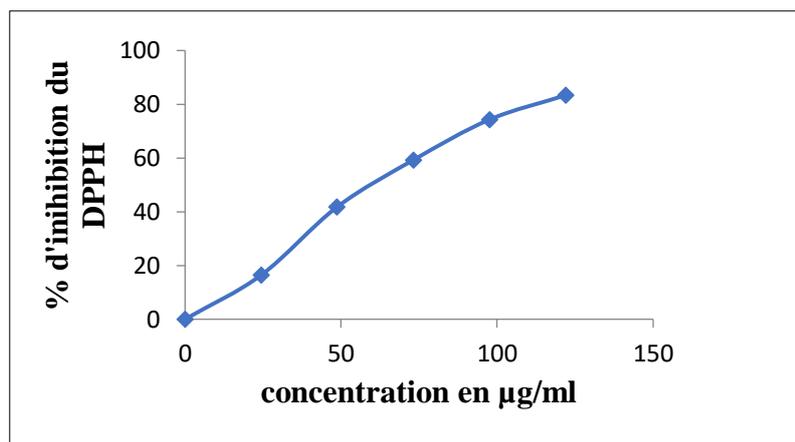


Figure 17: Courbe pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour *R.alaternus* (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

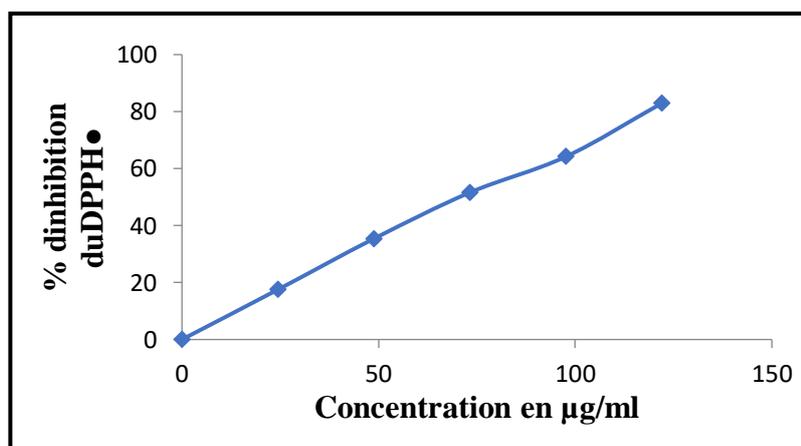


Figure 18: Courbe pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour *A.radiata* (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

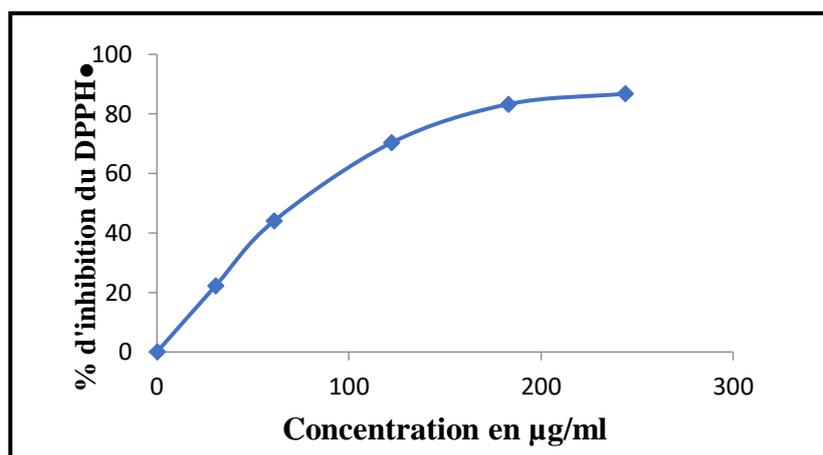


Figure 19 : Courbe pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations utilisées pour *C. incana* (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

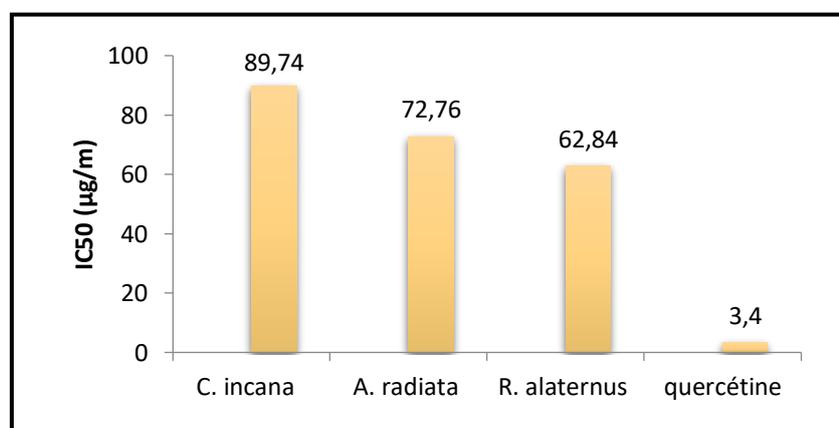


Figure 20: Représentation de l'inhibition de radical DPPH• par l'estimation des valeurs d'IC₅₀ pour les différents extraits (*R. alaternus*, *A. Radiata*, *C. incana*).

D'après les résultats obtenue **Figure 19,20,21**, il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH• augmente avec l'augmentation de la concentration des différents extraits.

L'extrait méthanolique de *R. alaternus* présente une activité antiradicalaire élevée (83.34% avec une concentration de 120µg/ml), suivie de l'extrait d'*A. Radiata* (82% avec une concentration de 120µg/ml), alors que l'extrait de *C. incana*, présente une inhibition égale à

70,24% avec la même concentration. Donc, les extraits de *R. alaternus* et d'*A. radiata* présentent le pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport à l'extrait de *C. incana*.

D'après les résultats obtenus (**figure 22**) on remarque que les extraits étudiés présentent une activité antioxydante variable. Selon les IC₅₀ calculés graphiquement.

L'IC₅₀ de la quercétine (3,4µg/ml), est utilisé comme molécule de référence, est bien plus inférieur à nos extraits, on constate aussi que l'extrait de *R. alaternus* présente une IC₅₀ (62,84µg/ml) qui est inférieur à celle d'*A. Radiata* et *C. incana*. (72,76 ; 89,74µg/ml), respectivement. Par contre elle est supérieure à celle de la quercétine (3,4 µg/ml).

Une étude menée par **Kosalec et ses collaborateurs, 2013** sur les feuilles de *R. alaternus* a montré une IC₅₀ 78,7± 3,16 µg/ml. Cette valeur est assez proche à celle qu'on a trouvée. Dans une autre étude réalisée par **Ammar et al., 2008** sur les feuilles de *R. alaternus* de la Tunisie a montré une IC₅₀ de 19 µg/ml, qui est plus faible par rapport à notre extrait. **Boussahel et al., 2013** ont remarqué que la *R. alaternus* présente une IC₅₀ de 398 ± 7 µg/ml ; ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Dans une autre recherche réalisée par **Bammou et al 2015** sur les tiges d'*A. radiata* qui ont été collectés dans la région du tafilalet (sud-est du Maroc), a montré une valeur d'IC₅₀ 265.52 µg/ml ; ces résultats sont supérieurs à nos résultats. Une autre recherche réalisée par **Beddou, 2015** sur l'extrait d'*A. radiata* a montré une valeur d'IC₅₀ 212 ± 6 µg/ml ; ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Concernant *C. incana* les recherches effectuées par **Boubellouta et al., 2021** ont enregistré une valeur de 87,51 ± 0,42 µg/ml ; ces résultats sont proches par rapport à nos résultats.

Ces résultats montrent que les extraits *R. alaternus*, *A. radiata* et *C. incana* contiennent des agents piègeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants.

La différence des résultats entre les même espèces dépend d'un certain nombre de paramètres: polarité des molécules qui contribue à l'augmentation de l'activité anti radicalaires, la dose, la structure, la composition phytochimique et sur le potentiel antioxydant (**Barwick, 1997**).

V.4.2. Test de l'ABTS :

Le test ABTS est utilisé pour évaluer l'activité antioxydante, se traduit par la décoloration de la solution, qui est considérée comme étant la capacité des composés à diminuer directement la couleur du radical $ABTS^{\bullet+}$. Dans ce test on utilise Trolox comme standard, L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC_{50} .

Les graphes ci-dessous, représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque plante.

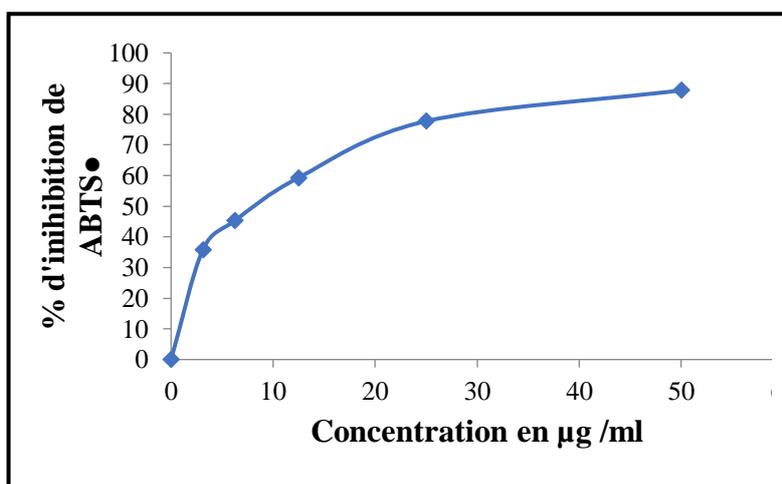


Figure 21: Courbe pourcentage d'inhibition du radical libre $ABTS^{\bullet}$ en fonction des différentes concentrations utilisées pour *R. alaternus* (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

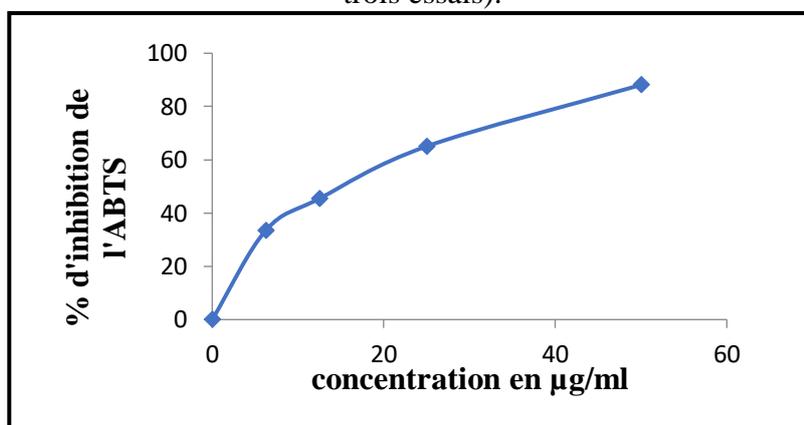


Figure 22: Pourcentage d'inhibition du radical libre $ABTS^{\bullet}$ en fonction des différentes concentrations utilisées pour *C. incana* (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

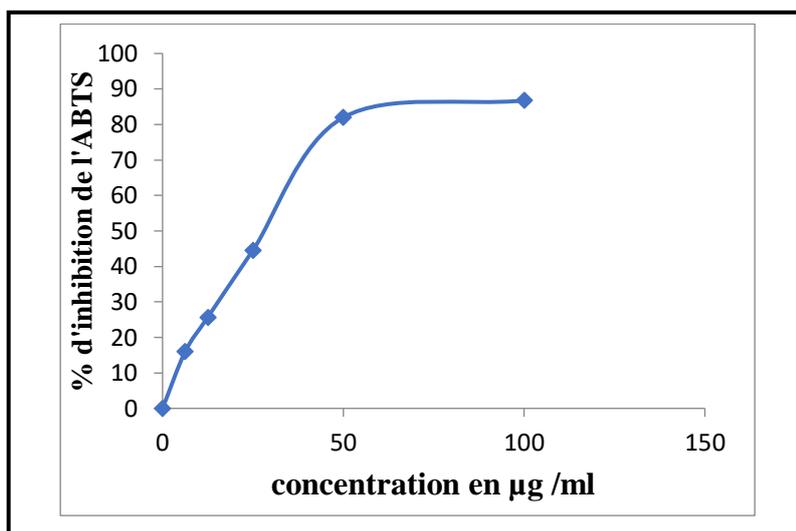


Figure 23: Pourcentage d'inhibition de radical libre ABTS[•] en fonction des différentes concentrations utilisées pour *A. radiata* (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

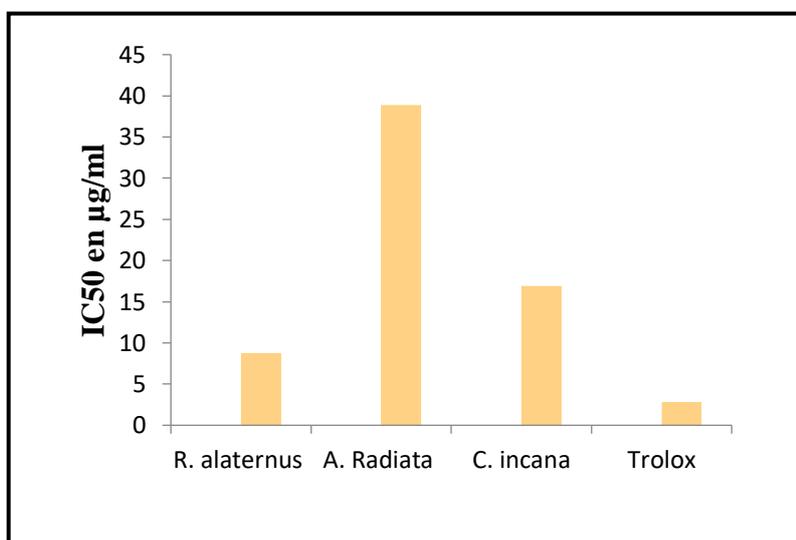


Figure 24: Représentation de l'inhibition du radical ABTS[•] par l'estimation des valeurs d'IC₅₀ des différents extraits (*R. alaternus*, *A. Radiata*, *C. incana*, Trolox).

L'extrait méthanolique de *R. alaternus* présente une activité antiradicalaire élevée (77,23% avec une concentration 25µg/ml), suivie par l'extrait de *C. incana* (avec 65,02 % avec une concentration 25µg/ml), alors que l'extrait d'*A. Radiata*, présente une inhibition égale à 44,5,3% avec la même concentration.

D'après les résultats présentés dans, la (**figure 24**) l'IC₅₀ obtenu pour le trolox (2,83µg/ml), qui est utilisé comme molécule de référence, est bien plus inférieur à celle de nos extraits, alors que l'extrait de *R. alaternus* présente une IC₅₀ (8,79 µg/ml) inférieur à ceux de *C. incana* et d'*A. radiata* (16,89 µg/ml, 38,86 µg/ml), respectivement.

Les valeurs d'IC₅₀ expliquent fortement le comportement des composés phénoliques vis-à-vis du radical ABTS on constate aussi l'effet de piègeur du radical ABTS par les composés phénoliques reste notable même à des faibles concentrations. En comparant les résultats de l'activité antioxydante totale d'*A. radiata* avec celle obtenus par **Bammou et al., 2015** ont trouvé une valeur de IC₅₀(67,06±1,47 µg/ml) qui est supérieur à nos résultats.

En comparant nos résultats avec autre étude effectuée par **Chalal et Tighermine, 2012** sur les feuilles de *R. alaternus* ont enregistré une IC₅₀(52,85µg/ml) ces résultats sont supérieurs à nos résultats.

Les résultats du pouvoir antioxydants peuvent être fortement influencés par la composition chimique, les conditions de l'essai (température de réaction, type de solvant...etc.) (**Popovici C. et al., 2009**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs, connus par leurs propriétés thérapeutiques utilisés en médecine comme remède. *R. alaternus*, *A. radiata* et *C. incanaces* plantes sont répondues en Algérie et vu leurs utilisations local comme plantes médicinales, elles présentent un grand intérêt pharmacologique.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressées à l'étude phytochimique (qualitatives) ainsi que le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et le pouvoir antioxydant des différents extraits des trois plantes

L'extrait d'*A. radiata* présente le rendement le plus élevé par rapport aux autres extraits avec un pourcentage de 15,5%, alors que *R. alaternus* et *C. incana* présentent un rendement de 14,3%, 14,5% respectivement.

Les tests phytochimiques qualitatives réalisés par les réactions de caractérisation ont permis de mettre en évidence des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des alcaloïdes et des terpénoïdes..) dans les parties aériennes de ces plantes.

L'analyse quantitative des trois extraits, a montré des résultats intéressantes pour le dosage des polyphénols totaux et même des flavonoïdes. Dans le test du dosage des polyphénols, l'extrait de *R. alaternus*: présente la teneur la plus élevée 110,95 mg EAG/g d'E par rapport à l'extrait d'*A. radiata* qui possède une quantité moins importante qui est égale à 53.01 mg EAG/g d'E, alors que l'extrait de *C. incana* présente la plus faible teneur en polyphénols 34,57mg EAG/g d'E. Par contre dans le test du dosage des flavonoïdes la *R. alaternus* est considérée comme l'extrait qui présente le meilleur résultat par rapport aux autres extraits avec une valeur de 90,31mg EQ/g d'E, alors que *A. radiata* et *C. incana* présentent une teneur de 25,55 mg EQ/g d'E, 21,14 mg EQ/g d'E, respectivement.

L'activité antioxydante a été déterminée, elle montre que les trois extraits des plantes étudiées présentent des propriétés antioxydantes remarquables. Le pourcentage d'inhibition est proportionnel à la concentration de l'extrait.

La *R. alaternus* est plus active que les autres extraits vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH et présente une activité antiradicalaire 83,34 % avec une concentration de 130µg/ml, suivie de l'extrait d'*A. radiata* (82 %avec une concentration de 130µg/ml), alors

que l'extrait de *C. incana*, présente une inhibition égales à 70,24% avec la même concentration.

Pour le test de l'ABTS les extraits *R. alaternus* présente un IC_{50} (8.79 μ g/ml) inférieur par rapport à *C. incana* et *A. radiata* (16,89 μ g/ml) (38,86 μ g/ml) respectivement.

Au terme de ce travail et conformément à l'importance des résultats notés, il ressort que ces plantes contiennent des molécules très intéressantes, considérées comme des agents antioxydants, qui peuvent être employées pour des applications thérapeutiques et méritent d'être valoriser.

Comme perspectives on peut proposer :

✓ D'évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes et de faire des tests in vivo afin de confirmer les activités observées in-vitro et déterminer de nouveaux agents thérapeutiques, ainsi une étude de la toxicité des principes actifs.

✓ Élargir le champ de recherche et étudier d'autres activités.

Références

Bibliographiques

-A-

Akkal, S., F. Benayache, et al. (2007). "Flavonol glycosides from *Centaurea furfuracea*. Antiplasmodial and cytotoxic activities." *Chemistry of Natural Compounds* **43**(3): 319-320.

Akkal, S., F. Benayache, et al. (1997). "Flavonoids from *Centaurea incana* (Asteraceae)." *Biochemical Systematics and Ecology* **4**(25): 361-362.

Akrout, A., R. Chemli, et al. (2001). "Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L." *Flavour and fragrance journal* **16**(5): 337-339.

Al-Nadaf, A. H., N. J. Seder, et al. (2018). "Wound healing; antimicrobial and anti-oxidant activity for Jordanian *Juglans Regia* L. unripe fruits." *J Innovations Pharm Biol Sci* **5**: 26-34.

Ammar, R. B., W. Bhourri, et al. (2009). "Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae): A structure-activity relationship study." *Food Chemistry* **116**(1): 258-264.

Atoui, A. K., A. Mansouri, et al. (2005). "Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile." *Food Chemistry* **89**(1): 27-36.

-B-

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.

Bahorun, T., B. Gressier, et al. (1996). "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations." *Arzneimittelforschung* **46**(11): 1086-1089.

Bakar, M. F. A., M. Mohamed, et al. (2009). "Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (*Mangifera pajang*) and tarap (*Artocarpus odoratissimus*)." *Food Chemistry* **113**(2): 479-483.

Barbosa, A. P. An overview on the biological and pharmacological activities of saponins. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*. (2014);8:47-50.

Battandier J, Debray F, Flagey C, Petit P, Trabut L. Flore de l'Algérie. Alger: Edition A. Jourdan, (1888):189-190.

Belhattab, R., L. Larous, et al. (2004). "Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts." *Journal of Food Agriculture and Environment* 2: 69-73.

Belyagoubi, L. (2006). "Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales." Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie. Option: produits naturels. Faculté des sciences, Algérie.

Bendjilali B, Zarira S (2005), plantes Aromatiques et exigences pour une valorization durable. Edition : Rabat, Actes édition. France : 346p.

Berlencourt A. (2008-2013) .Huiles essentielles. Aromathérapie Historical review of medicinal plants.

Boizot, N. and J.-P. Charpentier (2006). "Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier." *Cahier des Techniques de l'INRA*: 79-82.

Bouchnak O, Yahiaoui K, Benhabyles N, Laoufi R, Toubal S, El Haddad D, Oussaid S, Blizak D, Arab K. (2020). Criblage phytochimique et evaluation du pouvoir antioxydant des feuille de *Myrtus communis* Let *Rhamnus alaternus* L. *Revus agrobiologia*.10(1) :1749-61.

Bouchouka. E (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactérienne de quelques plantes sahariennes.

Boukhris, M. A., É. Destandau, et al. (2016). "A dereplication strategy for the identification of new phenolic compounds from *Anvillea radiata* (Coss. & Durieu)." *Comptes Rendus Chimie* 19(9): 1124-1132.

Références bibliographiques

Bourgaud, F., A. Gravot, et al. (2001). "Production of plant secondary metabolites: a historical perspective." Plant science **161**(5): 839-851.

Bravo, L. (1998). "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." Nutrition reviews **56**(11): 317-333.

Bruneton J. and P. Pharmacognosie (1999). phytochimie, des plantes médicinales 3^{ème} édition. Lavoisier Tec. & Doc: 783-790 .

Bruneton, J. and P. Pharmacognosie (2009). "Plantes médicinales. 4^{ème}Edition." Lavoisier Tec. & Doc: 1288.

-C-

Cavalier C, Dupriez C, Huret J, Louisar L, Nebon D, Mence L, et al. (2015). La phytothérapie ou « l'art de soigner par les plantes...». La Phytothérapie parmi les autres moyens thérapeutiques. Unité d'enseignement 2.11 semestre 5 «pharmacologie et thérapeutiques ».P 12.

Combe, C., E. Passas, et al. (2019). "Phytothérapie et antirétroviraux: actions menées dans un programme d'éducation thérapeutique auprès des personnes vivant avec le VIH." Journal de Pharmacie Clinique **38**(4): 196-200.

Chabrier, J.-Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, UHP- Université Henri Poincaré.

Cossy, J. and P. Aclinou (1990). "Isolation and Total synthesis of the major constituent of the roots of centaurea incana: aplotaxene." Tetrahedron letters **31**(52): 7615-7618.

-D-

Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques, Ed. Yves Dacosta.

DERRADJ, S. and S. GHERBI (2020). Caractérisation des extraits bruts de *Pelargonium graveolens* cultivé au Maader (région de Hodna, Algérie), UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.

Deyson G.(1982). Physiologie et biologie des plantes vasculaires. Nutrition et métabolisme 5^{ème} édition, p224.q

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2006). Antioxydant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *J. Food Chem*, 97: 654-660.

Dobignard, A. (2004). Journées d' études au Maroc: 11-25 mai 2003; compte rendu des herborisations et principaux résultats, Société Botanique de France.

Duraffourd, C., J. Lapraz, et al. (1997). "La plante médicinale de la tradition à la science." Grancher. Paris. 538p.

-E-

Ebrahimi, S. N., J. Hadian, et al. (2008). "Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages." *Food Chemistry* **110**(4): 927-931.

Edeoga, H. O., D. Okwu, et al. (2005). "Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants." *African Journal of Biotechnology* **4**(7): 685-688.

El Barky, A., S. Hussein, et al. (2017). "Saponins and their potential role in diabetes mellitus." *Diabetes Manag* **7**(1): 148-158.

Références bibliographiques

EL-Haoud, H., M. Boufellous, et al. (2018). "Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L." American Journal of Innovative Research and Applied Sciences: 226-233.

-F-

Falleh, H., R. Ksouri, et al. (2008). "Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities." Comptes Rendus Biologies 331(5): 372-379.

-G-

Guignard, J. and P. Potier (2000). Biochimie végétale, 2ème ED, ed, T.

-H-

Haddouchi, F., T. Chaouche, et al. (2016). "Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie." Phytothérapie: 1-9.

Hammiche, V. and K. Maiza (2006). "Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer." Journal of ethnopharmacology **105**(3): 358-367.

Hamiani A. (2018) . L'étude chimique et pharmacologique de quelques familles de plantes médicinales Algériennes. Thèse de Doctorat en Sciences. Université d'Oran. 154p

Hamouche K, Touati A. (2018). Screening phytochimique et étude de l'effet antioxydant des extraits phénoliques de la plante *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae).

Hamada D.(2016). Etude structure activité des principes actifs de la plante *anvillea radiata asteraceae*. Thèse doctorale pour l'obtention du grade de docteur en sciences. Université kasdi merbah Ouargla.

Handa, S. (2008). "An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants." Extraction technologies for medicinal and aromatic plants **1**: 21-40.

Références bibliographiques

Havsteen, B. H. (2002). "The biochemistry and medical significance of the flavonoids." *Pharmacology & therapeutics* **96**(2-3): 67-202.

Hopkins, W.G.(2003). *Physiologie végétale*. De Boeck, p138-139, 280.

-I-

Izhaki, I., E. Tsahar, et al. (2002). "Within population variation and interrelationships between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits." *New Phytologist* **156**(2): 217-223.

-K-

Kan, Y., A. Gökbulut, et al. (2007). "Development and validation of a LC method for the analysis of phenolic acids in Turkish *Salvia* species." *Chromatographia* **66**(1): 147-152.

Kar, A. (2007). "Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology (Revised-Expanded Second Edition)." New Age International Limited Publishres New Delhi: 332-600.

Khenaka, K. (2011). "Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin."

Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. (2008) . Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities, *C.R. Biologies*. Vol. (331).

Kosalec, I., D. Kremer, et al. (2013). "Anthraquinone profile, antioxidant and antimicrobial activity of bark extracts of *Rhamnus alaternus*, *R. fallax*, *R. intermedia* and *R. pumila*." *Food Chemistry* **136**(2): 335-341.

-L-

Références bibliographiques

Lakhdar, M., K. H. Meriem, et al. (2013). "Phytochemical analysis and antifungal activity of *Anvillea radiata*." *World Applied Sciences Journal* **26**(2): 165-171.

Leybros, J. and P. Frémeaux (1990). "Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques." *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés* **2**: J2780. 2781-J2780. 2721.

Li, H.-B., K.-W. Cheng, et al. (2007). "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae." *Food Chemistry* **102**(3): 771-776.

-M-

Macheix, J.-J., A. Fleuriet, et al. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*, PPUR presses polytechniques.

Majob, F., M. Kamalinejab, et al. (2003). "Phytochemical screening of some species of Iranian plants." *Iranian J Pharma Res* **2**: 77-82.

Marzouk, M. S., S. A. El-Toumy, et al. (1999). "Polyphenolic metabolites of *Rhamnus disperma*." *Phytochemistry* **52**(5): 943-946.

Messai L.(2011). *Etude phytochimique d'une plante médicinales de l'est algérien (ARTEMISIA HERBA ALBA)*. Thèse de Doctorat Université Mentouri de Constantine.

Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin J. sci. technol* **26**(2): 211-219.

Moon, J.-K. and T. Shibamoto (2009). "Antioxidant assays for plant and food components." *Journal of agricultural and food chemistry* **57**(5): 1655-1666.

Moussi K. (2016). *Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits contenant des composés phénoliques de deux plantes médicinales locales (*Rhamnus alaternus* et *Lavandula stoechas*)*. Thèse pour l'obtention du grade de DOCTEUR EN SCIENCES, Université A.Mira, Bejaia.

Références bibliographiques

Moreau, B. (2003). "maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy." Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

Miliauskas, G., P. Venskutonis, et al. (2004). "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts." Food Chemistry 85(2): 231-237.

-N-

Nekkaa, A., A. Benaïssa, et al. (2021). "Rhamnus alaternus Plant: Extraction of Bioactive Fractions and Evaluation of Their Pharmacological and Phytochemical Properties." Antioxidants 10(2): 300.

Nelly CB.(2013). Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie [Thèse de Doctorat en Pharmacie]. Toulouse : Université de Toulouse paul sabatier, Faculté des sciences pharmaceutiques.

N'Guessan, K., B. Kadja, et al. (2009). "Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire)." Sciences & Nature 6(1).

Nicole, M. (1997). "De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle." Ed: Lavoisier, Paris: 12-14.

-P-

Park, H.-H., S. Lee, et al. (2008). "Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells." Archives of pharmacal research 31(10): 1303-1311.

Penzig, O. (1902). Flore colorée de poche du littoral méditerranéen de Gènes à Barcelone y compris la Corse, Klincksieck.

Pincemail, J., M. Meurisse, et al. (1998). "Espèces oxygénées activées en médecine humaine: une approche didactique." Vaisseaux, Coeur, Poumons 3: 133-138.

Références bibliographiques

Popovici, C., I. Saykova, et al. (2010). "Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH."

Powers, S. K., A. J. Smuder, et al. (2010). "Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance." *International journal of sport nutrition and exercise metabolism* 20(1): 2-14.

Prescrire. (2007). Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, T. 27, n° 286.

-Q-

Quézel, P. and S. Santa (1962). "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales."

-R-

Rao, C. V. and M. Vijayakumar (2008). "Effect of quercetin, flavonoids and α -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats." *European journal of pharmacology* 589(1-3): 233-238.

Re, R., N. Pellegrini, et al. (1999). "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free radical biology and medicine* 26(9-10): 1231-1237.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Les Composés phénoliques des végétaux*: par Pascal Ribéreau-Gayon, Dunod.

-S-

Sanchez, A., F. Ysunza, et al. (2002). "Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding." *Journal of agricultural and food chemistry* 50(9): 2537-2542.

Références bibliographiques

Saoud, D., A. Jelassi, et al. (2019). "Biological activities of extracts and metabolites isolated from *Anvillea radiata* Coss. & Dur.(Asteraceae)." *South African Journal of Botany* 121: 386-393.

-T-

Tacherfiout, M. P., A. Chalal, et al. (2012). "Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* L."

Touati, A., K. Hammouche, et al. (2018). "Screening phytochimique et étude de l'effet antioxydant des extraits phénoliques de la plante *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae)."

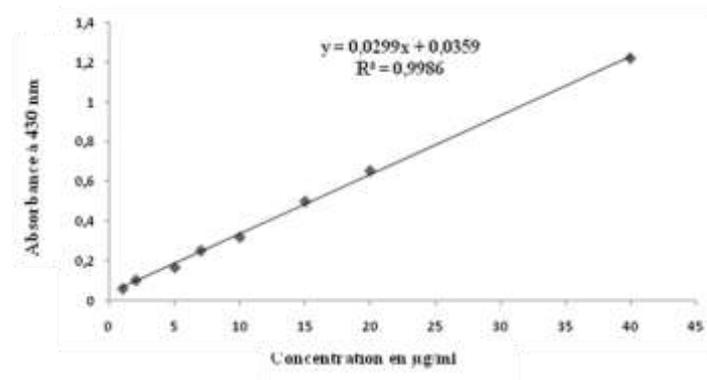
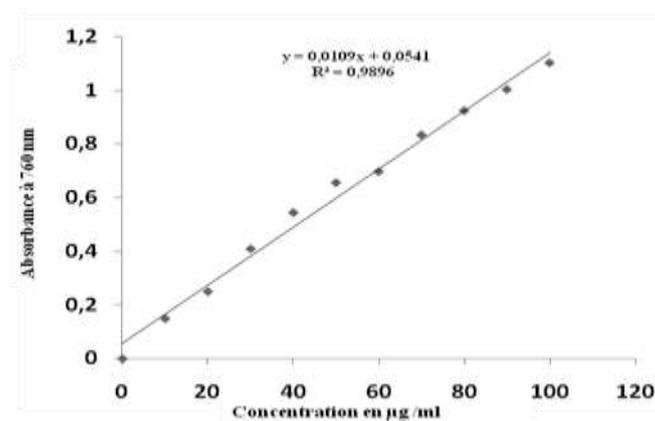
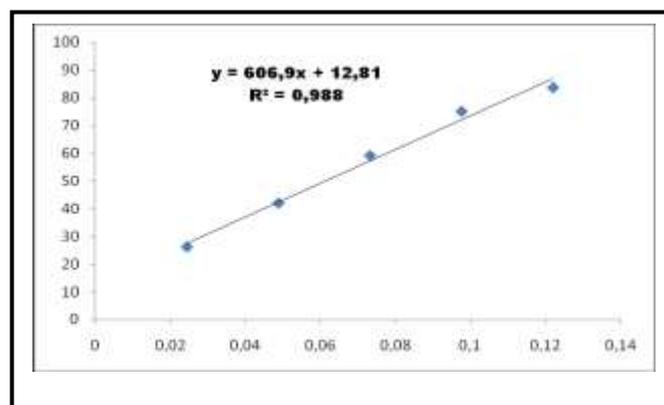
-W-

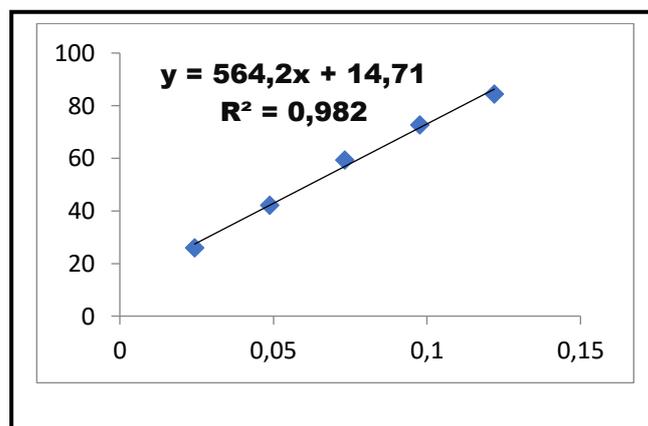
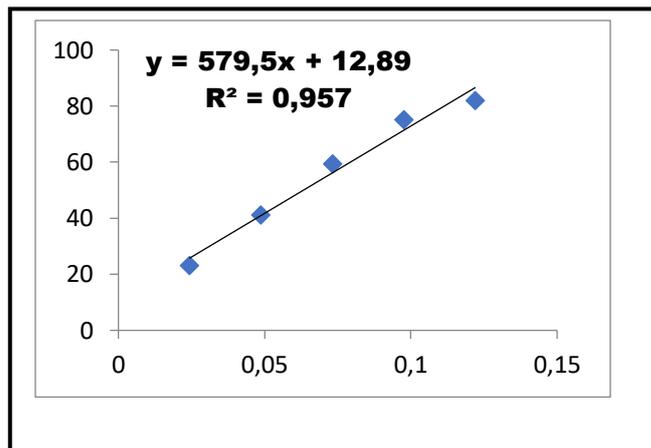
Wichtl, M. and R. Anton (2003). "Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd, Édition Tec & Doc." Lavoisier, Paris.

-Z-

Zater, H., J. Huet, et al. (2016). "Chemical constituents, cytotoxic, antifungal and antimicrobial properties of *Centaurea diluta* Ait. subsp. *algeriensis* (Coss. & Dur.) Maire." *Asian Pacific journal of tropical medicine* 9(6): 554-561.

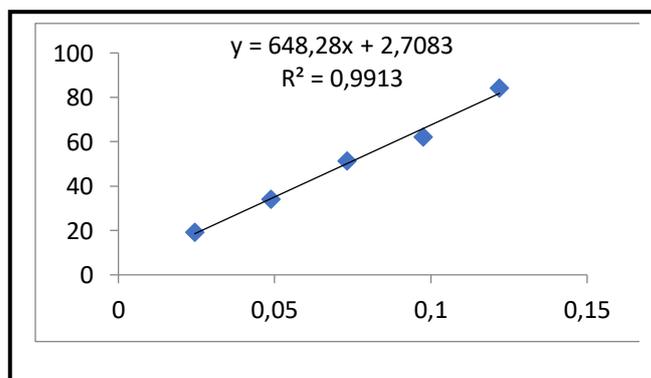
Annexes

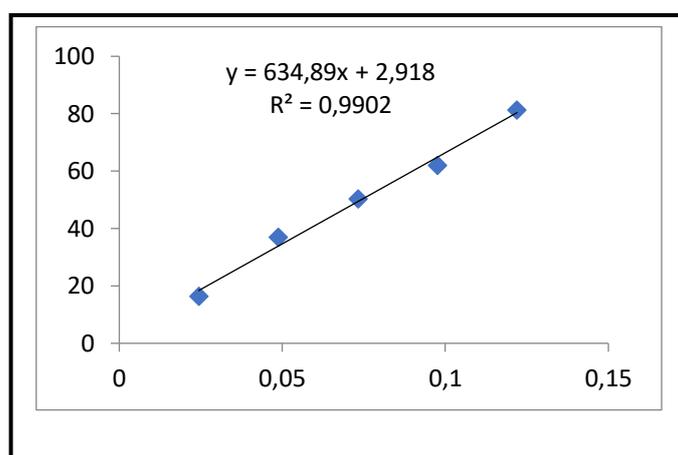
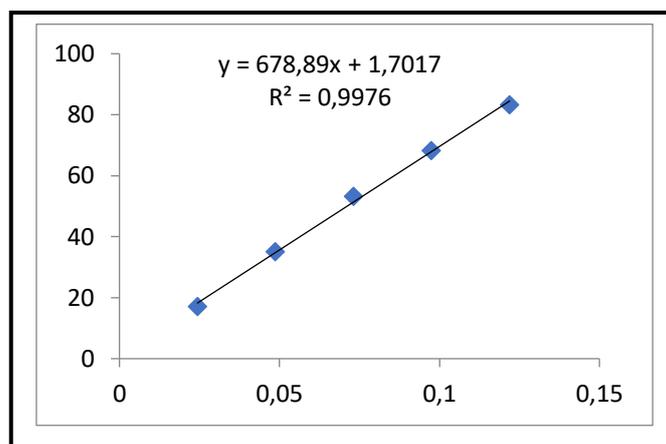
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de la quercitrine.**Annexe 2:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.**Annexe 3:** Variation de l'inhibition du DPPH[•] pour les trois essais en fonction de c_{int} de *R. alaternus*.



Annexe 2: Variation de l'inhibition du DPPH[•] pour les trois essais en fonction de C_{int}

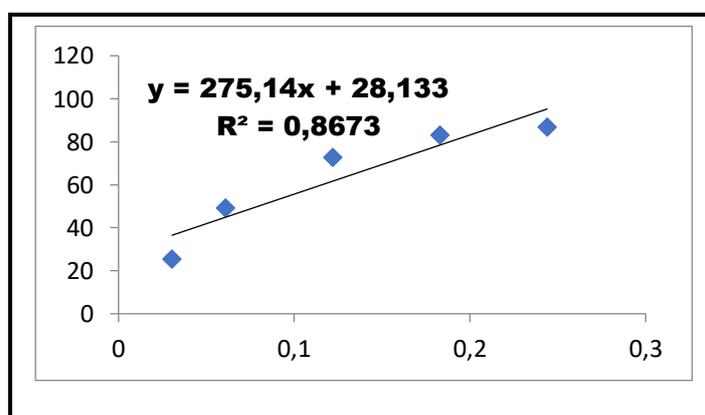
d'A. radiata.

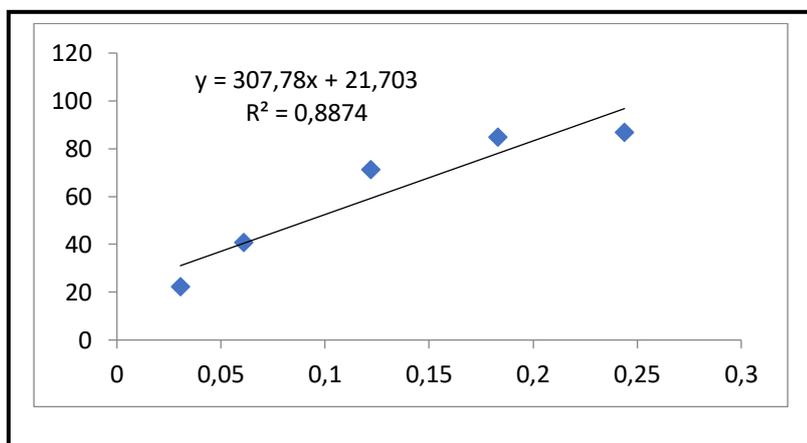
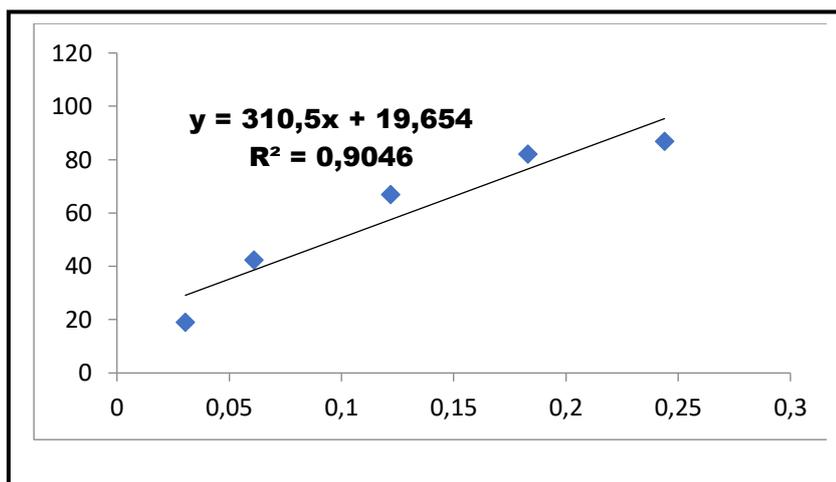




Annexe 3: Variation de l'inhibition du DPPH[•] pour les trois essais en fonction de c_{intde}

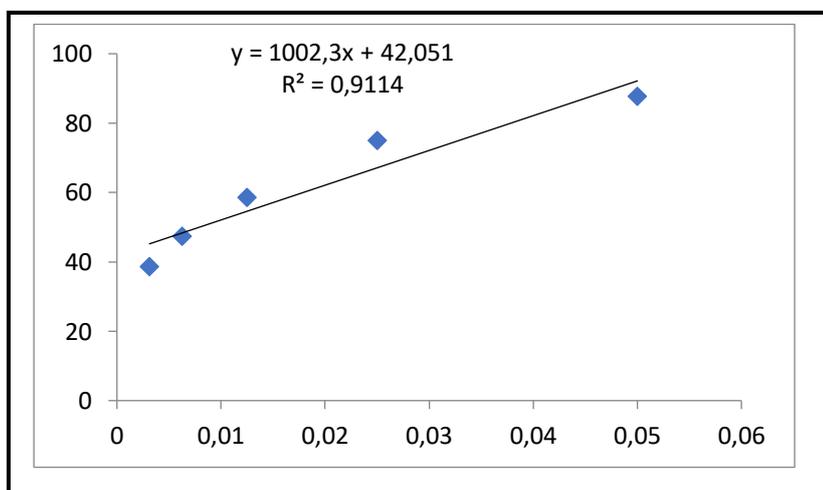
C. incana

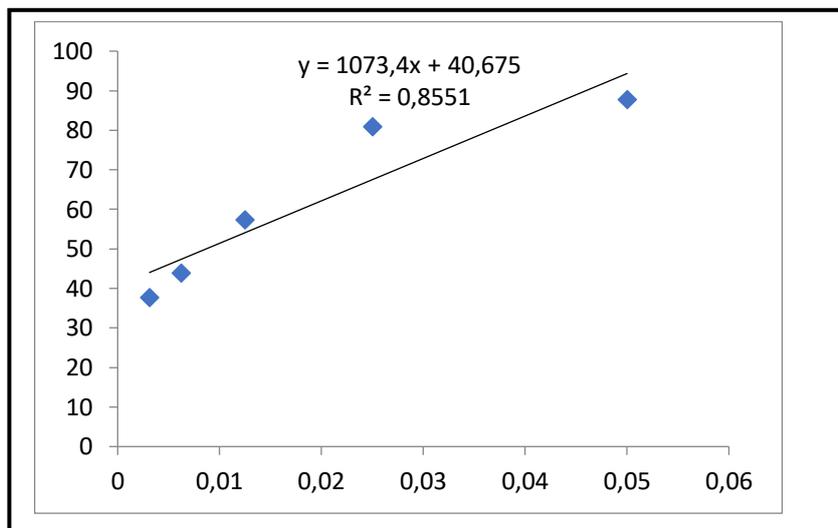
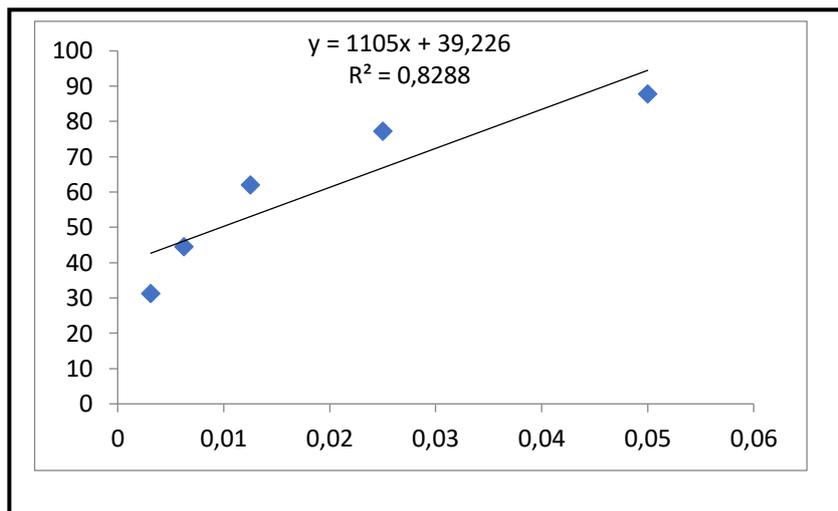




Annexe 4: Variation de l'inhibition de l'ABTS[•] pour les trois essais en fonction de c_{int}

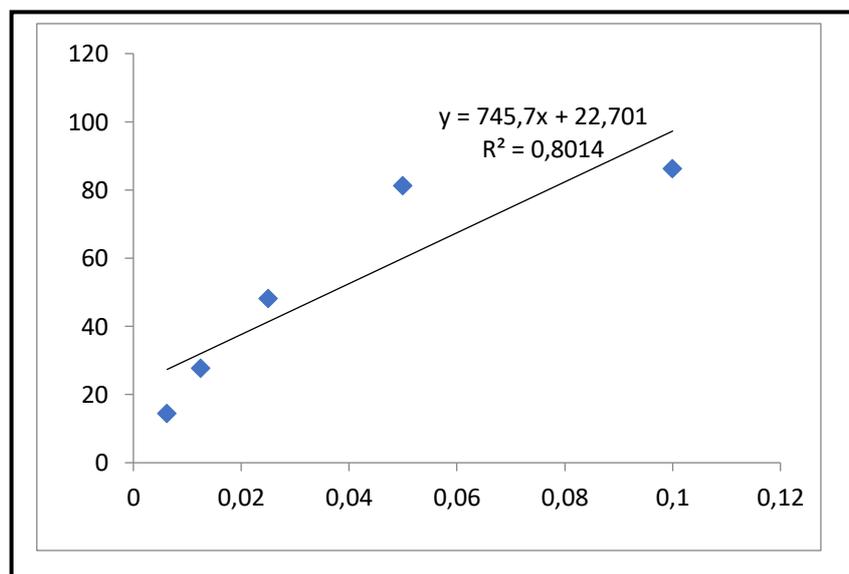
de *R. alaternus*.

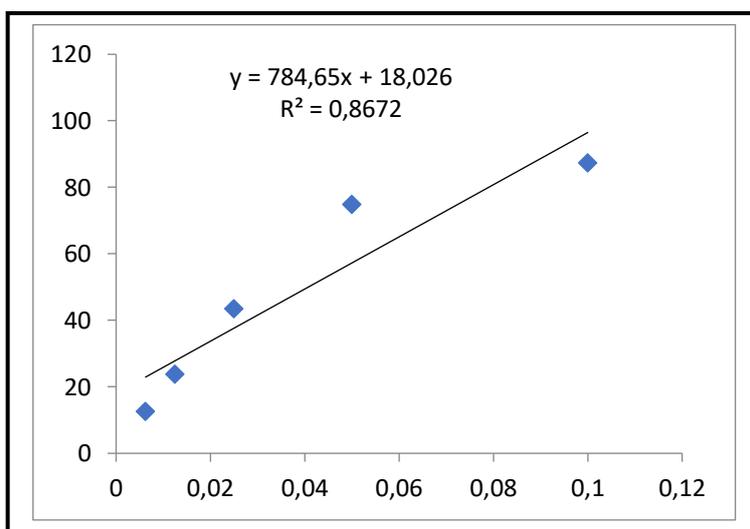
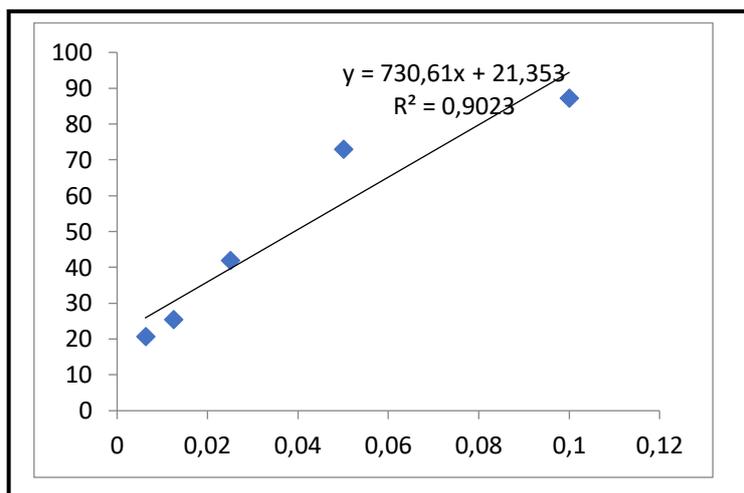




Annexe 5: Variation de l'inhibition de l'ABTS[•] pour les trois essais en fonction de C_{int}

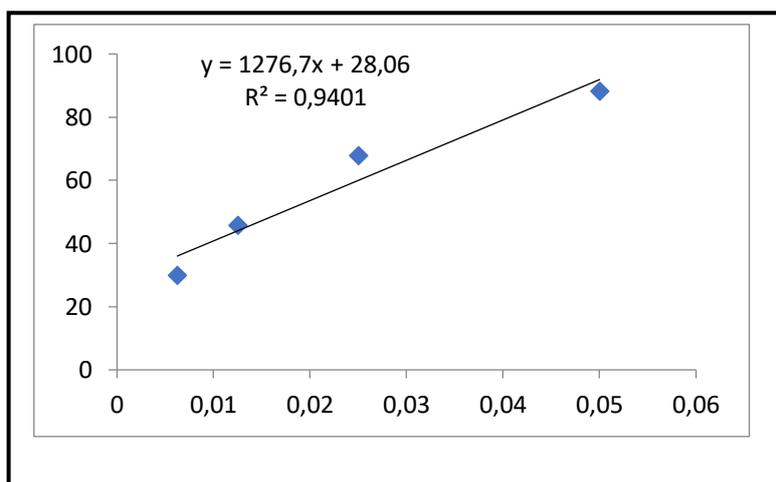
d'A. radiata

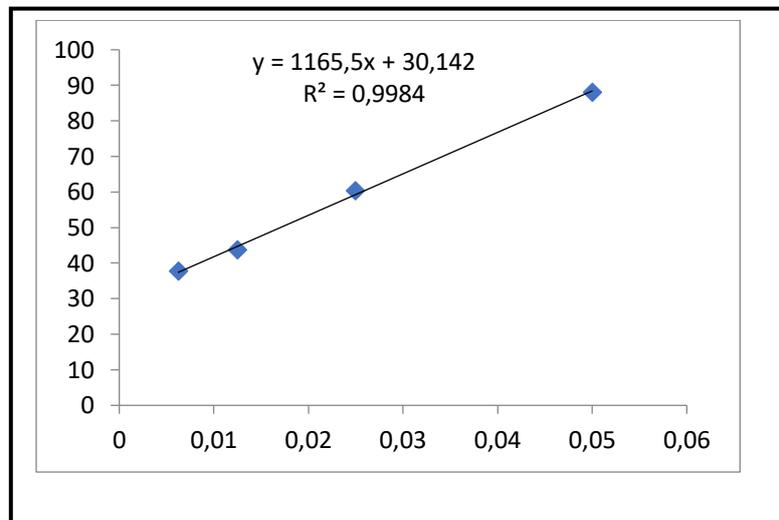
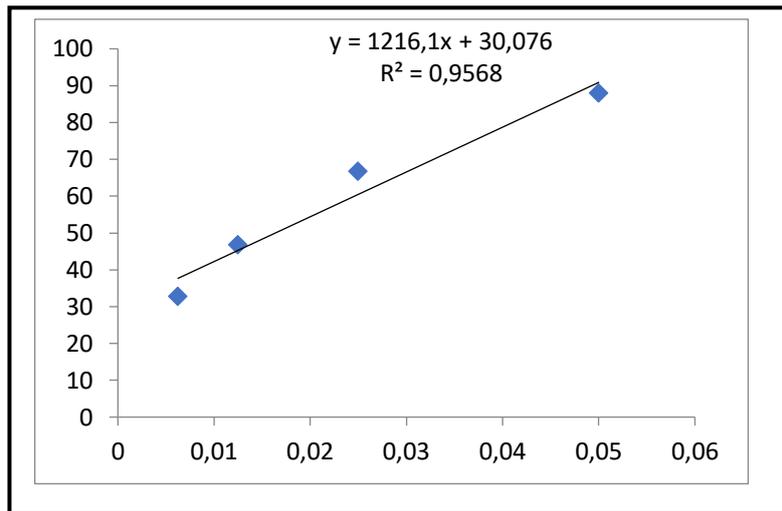




Annexe 6: Variation de l'inhibition de l'ABTS[•] pour les trois essais en fonction de c_{int}

de *C. incana*.





Résumé

Les plantes médicinales représentent un énorme réservoir de substances actives, utilisées en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques appelées, métabolites secondaires. Au cours de la présente étude ayant pour objectif l'étude phytochimique et biologique des extraits des trois espèces végétales Algériennes choisies : *Rhamnus alaternus*, *Anvillea radiata* et *Centaurea incana*. Ces dernières ont fait l'objet d'un screening phytochimiques, des tests réalisés par la détection de différents types de métabolites par des réactifs chimiques, la teneur des extraits en flavonoïdes et polyphénols à l'aide d'un spectrophotomètre, et une évaluation de l'activité antioxydante. Le rendement le plus élevée est remarqué dans l'extrait d'A.R (15.5%). L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des espèces étudiée a été abordée selon la méthode DPPH suivie d'un test ABTS. Les résultats que nous avons dégagés peuvent confirmer la validité de l'utilisation tradi-médicinales des espèces étudiées.

Mots clés : Plantes médicinales, *Rhamnus alaternus*, *Anvillea radiata*, *Centaurea incana*.DPPH.

Abstract

Medicinal plants represent an enormous wealth of bioactive molecules used in traditional medicine for therapeutic purposes called secondary metabolites. In the present study, the phytochemical and biological study of the extracts of three selected Algerian plant species: *Rhamnus alaternus*, *Anvillea radiata* and *Centaurea incana*. These last ones were the object of a phytochemical screening, tests carried out by the detection of various types of metabolites by chemical reagents, the content of flavonoids and polyphenols in the extracts with the help of a spectrophotometer, and an evaluation of the antioxidant activity. The highest yield is noticed in the extract of A.R (15.5%). The evaluation of the antioxidant activity of the extracts of the studied species was approached according to the DPPH method followed by an ABTS test. The results we have identified can confirm the validity of the traditional medicinal use of the studied species.

Key words: Medicinal plants, *Rhamnus alaternus*, *Anvillea radiata*, *Centaurea incana*, DPPH