

PROPRIETES ANTI RADICALAIRES D'UNE PLANTE SAHARIENNE DE LA REGION EXTREME SUD-OUEST ALGERIEN « *Anastatica hierochuntica* L. »

BENYAGOUB E.^{1*}, NABBOU N.¹ et MOGHTET S.²

9. *Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Département de Biologie, Université Tahri Mohammed-Bechar, (08000), Bechar-Algérie.*

10. *Institut de Sciences et technologie, Département des Sciences de la terre et l'univers, Centre universitaire de Tindouf, (37000), Tindouf-Algérie.*

Résumé: Durant ces dernières années, les recherches scientifiques s'intéressaient aux composés bioactifs des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. De nombreuses recherches ont mis en évidence le rôle des phénomènes oxydatifs dans l'initiation de maladies.

Par conséquent, la sélection des plantes traditionnelles pour la découverte de nouveaux médicaments est de grande importance. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail dont le but est de mesurer l'activité antioxydante d'une plante médicinale « *Anastatica hierochuntica* L. » issue de la région de Tindouf (extrême Sud-Ouest algérien).

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH de trois macérâts de *Anastatica hierochuntica* L., a montré que les macérâts aqueux et méthanoliques des graines présentaient des activités antioxydantes intéressantes exprimés en IC₅₀ de l'ordre de 0,143±0,0074 et 0,257±0,012mg/ml, respectivement. En outre, le macérât méthanolique de tiges a présenté une activité moyenne estimée à 0,358±0,158mg/ml.

Cependant, les macérâts aqueux et étherique de tige ont donné une très faible activité antioxydante révélée par les valeurs 1,0290±0,115 et 2,08±0,130 mg/ml respectivement.

Ces résultats préliminaires, nous ont permis de prédire que les substances naturelles présentes dans la plante étudiée peuvent être une source non négligeable possédant des composés ayant des propriétés antioxydantes importantes, ce qui laisse prévoir leur application dans les industries pharmaceutique et alimentaire.

Mots clés : Chemlali Sfax, olivier, croisement dirigé, morphologie, agronomie.

ANTI-FREE RADICAL PROPERTIES OF THE SAHARIAN PLANT *Anastatica hierochuntica* L. From THE FAR SOUTH ALGERIAN WEST

Abstract: During the recent years, scientific research focused on the bioactive compounds of plants that are intended for phytopharmaceutical use. Much research has highlighted the role of the oxidative phenomenon in the initiation of disease.

Consequently, the selection of traditional plants to discover of new drugs presents a great importance, in this context, the present study aims to measure the antioxidant activity of a medicinal plant "*Anastatica hierochuntica* L." in the region of *Tindouf* (Far Southwest of Algeria).

The study of antioxidant potency by DPPH method of three macerates of *A.hierochuntica* L., showed that aqueous and methanolic macerates presented interesting antioxidant activities expressed by the IC₅₀ giving the results 0,143±0,0074 and 0,257±0,012mg/ml respectively. In addition, the methanolic macerate of the stems presented a medium activity estimated at 0,358 ± 0,158mg/ml.

However, the aqueous and etheric macerates of the stems have given a very low antioxidant activity revealed by the values 1,0290 ± 0,115 and 2,08 ± 0,130 mg/ml, respectively.

These preliminary results have allowed us to predict that natural substances in the plant can be considered as important source of compounds with significant antioxidant properties, which suggests their application in pharmaceutical and food industry could be quite accurate.

Keywords: Antioxidant activity, macerate, DPPH method, *Anastatica hierochuntica* L., free radicals, Tindouf.

Introduction

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des

radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais

aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire [1].

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres, et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [2]; les antioxydants naturels, enzymatiques et non enzymatiques.

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart des antioxydants non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydants nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit, les vitamines E et C et les polyphénols [3].

À cet effet, notre travail s'intéresse à la recherche de substances naturelles dotées d'une activité anti radicalaire par le biais de trois macérâts d'*A. hierochuntica* L., collecté à Tindouf.

1. Description botanique

1.1. Présentation de famille des crucifères

Les brassicacées appelées autrefois « Crucifères » constituent une importante famille de plantes dicotylédones, représentées dans le monde entier mais principalement dans la région tempérée de l'hémisphère Nord. Ils peuplent presque la totalité des habitats et des milieux de vie possibles, sables et roches maritimes, bords de ruisseaux, talus calcaires, pelouses humides ou sèches, cultures et jardins, bords de chemins cailloutis et prairies de montagne, les moutardes, choux, et quelques plantes ornementales (aubriète, ibéris, giroflées) comptent parmi les crucifères. Ce sont des plantes herbacées à racine pivotante dont les tiges portent des feuilles sans stipules, alternes ou toutes à la base. Elles élaborent des sénevolts de types variés qui leur donnent des propriétés médicinales et alimentaires.

Cette famille est aujourd'hui divisée en 25 tribus, répartie en 350 genres et plus de 3500 espèces [4,5]. Elle se trouve surtout dans les régions tempérées et froides [6]. Ce sont principalement des plantes variables annuelles, bisannuelles ou vivaces [7]. Le terme Crucifère signifie qui porte croix, c'est-à-dire la forme des fleurs dont les quatre pétales opposés se croisent pour former une croix.

Les feuilles sont généralement alternées et sans stipules. La structure florale est très caractéristique de cette famille [6,7] : le calice est composé de 4 sépales avec une corolle formée de 4 pétales. L'androcée est constitué de 6 étamines tétradynames (4 intérieures longues et 2 extérieures courtes); alors que, le fruit est silique ou silicule.

Les crucifères reforment une molécule appelée isothiocyanate (molécule soufrée). Cette dernière diminue la toxicité, accélère l'élimination des pathogènes et des substances cancérigènes. Elle apparait comme inhibiteur pour les nitrosamines et hydrocarbures polycycliques [8].

1.2. Espèce *Anastatica hierochuntica* L.

Selon Nakashima *et al.*, [9], *Anastatica hierochuntica* L., est connue par les noms suivants ; *Rose de Jérigo*, *Selaginella lepidophylla*, *Main marie*. Cependant, selon Sehab et Adam [10], elle est aussi appelée « *Kef Meriem, el kamcha, chajret Meriem* ».

L'espèce d'*Anastatica hierochuntica* L., est une plante annuelle, de 5 à 15 cm d'hauteur, formée d'une rosette de rameaux courts et denses, florifères dès leur base. Les Inflorescences en grappes courtes portant de petites fleurs blanches mais à

rameaux s'indurant et se contractant après la maturité. Sa tige est indument étoilée.

Les feuilles ovales et dentées. Ses fleurs subsessiles en grappes courtes, blanches, silicules ovoïdes, hispides, rostrées à valves pourvues au sommet d'un appendice transversal cochléaire. Cependant, les graines sont comprimées, peu nombreuses et aptères.

À la maturité, les feuilles disparaissent et les rameaux sont couverts de fruits surmontés chacun de deux petites ailes, les rameaux en séchant se tournent vers le centre de la plante qui ressemblera, une fois morte, à une boule recroquevillée sur elle-même.

Les rameaux sont sensibles aux variations d'état hygrométrique de l'air. En air sec, la plante est recroquevillée en boule, dès qu'il pleut, elle étale ses rameaux. Les graines sont expulsées et s'échappent, tombent et germent très rapidement au pied de la plante. S'il pleut légèrement, la plante s'ouvrira un peu, mais pas assez pour expulser les graines, elle se refermera et attendra une pluie plus importante [7].

Selon Quezel et Santa [7], la classification de la plante étudiée est la suivante :

Règne:	Plantae
Embranchement :	Spermaphytes
Sous Embranchement :	Angiospermes
Classe:	Dicotylédones
Sous Classe :	Rosidées
Ordre :	Brassicales
Famille :	Brassicaceae
Genre :	<i>Anastatica</i>
Espèce :	<i>Anastatica hierochuntica</i> L.

2. Matériel et Méthodes

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à la recherche davantage des plantes médicinales possédant des propriétés antioxydantes dans la région du Sud algérien.

2.1. Réactifs chimiques

Le réactif 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été acheté auprès de Sigma-

Aldrich (St.Louis, MO, USA), l'acide ascorbique (Biochem, Canada). Cependant, tous les autres réactifs étaient de qualité analytique.

2.2. Récole de la plante

La plante a été récoltée au cours des mois de Février et Mars 2015 de la région de Tindouf comme le montre dans la figure ci-dessous (Figure 1).

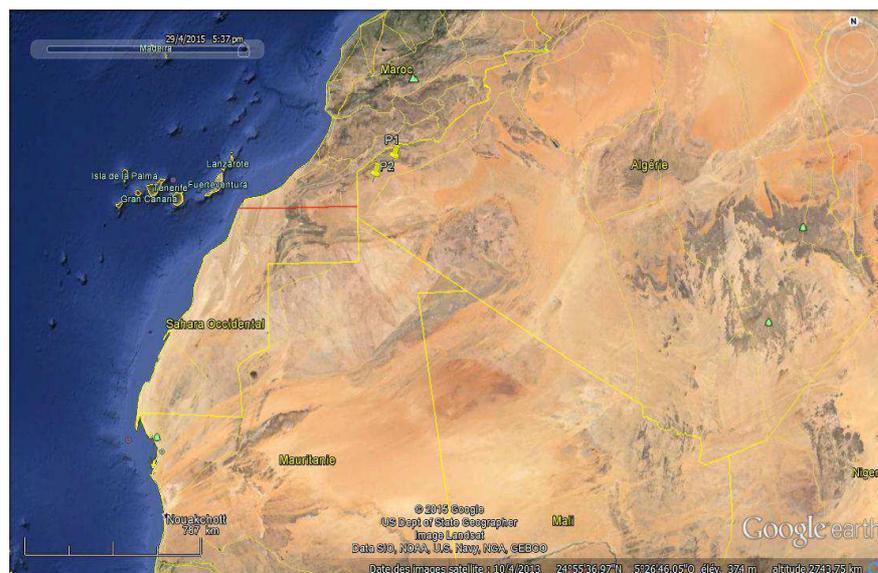


Figure 1 : Carte géographique de deux sites (P1 et P2), lieux de récolte de la plante à Tindouf.

2.3. Matériel végétal

Le matériel végétal collecté a été lavé puis séché à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, la plante

sèche est broyée grossièrement à l'aide d'un mixeur électrique (Ika Werk, Allemagne) et conservée dans des sacs propres (Figure 2).



Figure 2: Champs d' *A.hierochuntica* L., à Tindouf (Algérie).

2.4. Préparation des macérâts

Dans un ballon, 20g de drogue végétale sont mis dans 80ml de méthanol 99,7% (Sigma-Aldrich, Allemagne), puis le mélange est laissé macérer pendant 24 heures. Après filtration, le solvant a été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur (Buchi labortechnik, Suisse) à 65°C. De la même manière qu'on prépare les macérâts aqueux et étherique en remplaçant le méthanol par l'eau et l'éther diéthylique 99,5% (Sigma-Aldrich, Allemagne) évaporés au rota vapeur à la température de 100 et 35°C respectivement [11].

2.5. Détermination des propriétés antioxydantes

Un antioxydant est défini comme étant toutes substances qui peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques [12]. Plusieurs méthodes peuvent être appliquées pour la mise en évidence de cette activité dont nous avons testé deux méthodes ; test qualitatif HPTLC et un test quantitatif au DPPH mesuré au spectrophotomètre.

2.5.1. Test qualitatif HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography)

Dans le but de confirmer le pouvoir antioxydant des extraits, nous avons effectué un test sur des plaques CCM. Cette dernière est exposée à une

pulvérisation par une solution méthanolique de DPPH 0,004% (m/v). Après 30 minutes, voir la coloration des spots [13].

Le test positif est révélé par l'apparition d'une coloration jaune foncé ou vert des spots. Cependant, une coloration violette des spots indique un test négatif.

2.5.2. Capacité de piégeage des radicaux en utilisant le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante des extraits au méthanol de plante a été déterminée sur la base de la capacité de piégeage des radicaux à réagir avec un radical libre stable de DPPH selon Blois, [14].

Des expériences ont été initiées par la préparation d'une solution méthanolique de DPPH 0,004% et de différentes concentrations des extraits de plante (graines et tiges) comme suivantes : 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,0625 ; 0,0312 ; 0,0159 et 0,0078 mg/ml.

Pour les solutions méthanoliques de DPPH un volume égal de l'extrait dissous dans du méthanol a été ajouté à diverses concentrations. Une quantité égale de l'alcool a été ajoutée au contrôle.

Les préparations ont été laissées à l'obscurité à la température ambiante et

l'absorption a été suivie au bout de 20 minutes à 517nm par un spectrophotomètre UV-Visible (Spekol, Allemagne). L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin. Basse absorbance du mélange réactionnel indique une haute activité de piégeage des radicaux libres. L'expérience a été réalisée en trois répétitions [15,16]. Une réaction témoin a été effectuée sans l'échantillon à tester. Les valeurs d'absorbance ont été corrigées pour les radicaux décroissants en utilisant une solution vierge.

L'effet inhibiteur du DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Effet de piégeage DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0)] * 100$$

Où :

A_0 = L'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs à l'exception des composés d'essai)

A_1 = l'absorbance en présence des extraits testés

Les radicaux libres stables de couleur pourpre ont été réduits à diphenyl picrylhydrazine de couleur jaune lorsqu'on a ajouté l'antioxydant.

Le graphique linéaire de la concentration en fonction des pourcentages d'inhibition a été préparé et les valeurs de CI_{50} ont été calculées. L'activité

antioxydante de chaque échantillon a été exprimée en termes de CI_{50} (concentration micromolaire requise pour inhiber la formation de radicaux DPPH de 50%), calculée à partir de la courbe d'inhibition [17-19].

2.6. Analyses statistiques

Les résultats expérimentaux sont exprimés en moyenne \pm écart-type. Toutes les mesures ont été répétées trois fois. Les valeurs de CI_{50} ont été également calculées

par analyse de régression linéaire. Les résultats des expériences ont été analysés par Pearson coefficient de corrélation (r).

3. Résultats et discussion

3.1. Test qualitatif HPTLC

Les résultats expérimentaux obtenus montrent que les macérâts aqueux et méthanoliques des tiges et graines ont donné une activité antioxydante qui s'est manifestée par des spots jaunes au fond violet de la plaque CCM (Figure 3).

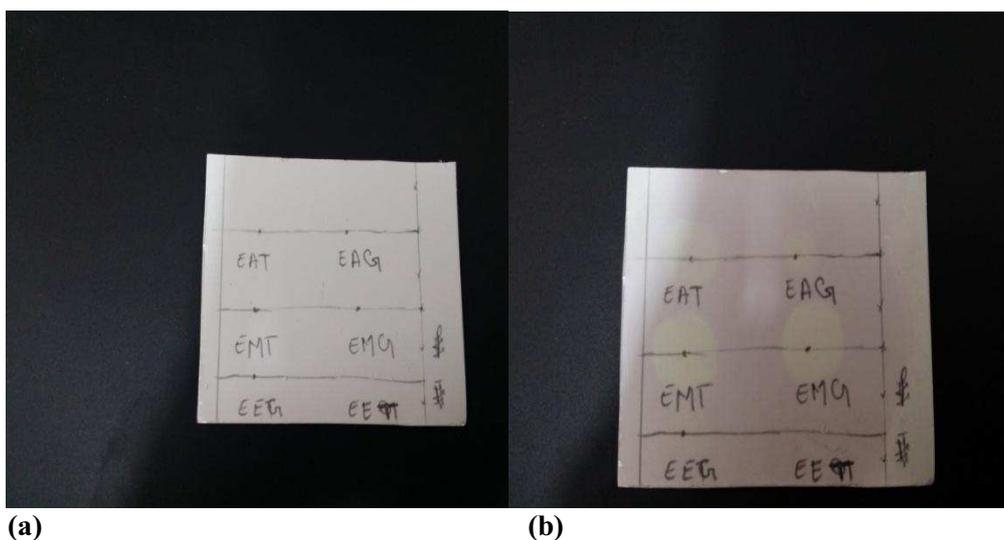


Figure 3: Illustration photographique d'une plaque CCM pulvérisée par solution de DPPH.

(a) : Avant pulvérisation, **(b)** : Après pulvérisation, **EAT**: macérât aqueux des tiges, **EMT** : macérât méthanolique des tiges, **EET**: macérât étherique des tiges, **EAG** : macérât aqueux des graines, **EMG**: macérât méthanolique des graines, **EEG**: macérât étherique des graines.

2. Test anti radicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre

Dans cette étude, nous avons testé l'activité antioxydante des différents macérâts de la plante étudiée afin de

préjuger l'extrait le plus actif. Les différentes concentrations du témoin utilisé comme référence a permis de tracer la courbe d'étalonnage dont la valeur IC_{50} trouvée était $0,194 \pm 0,0073$ mg/ml (Fig. 4).

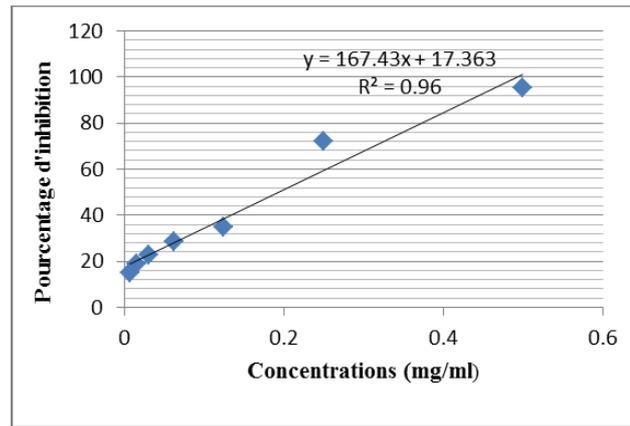


Figure 4: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.

Cependant, les valeurs obtenues de l'activité antioxydante des extraits testés ont permis de tracer des courbes ayant une

allure exponentielle qui signifie la réduction presque totale du radical DPPH en sa forme non radicalaire (Figure 5 et 6).

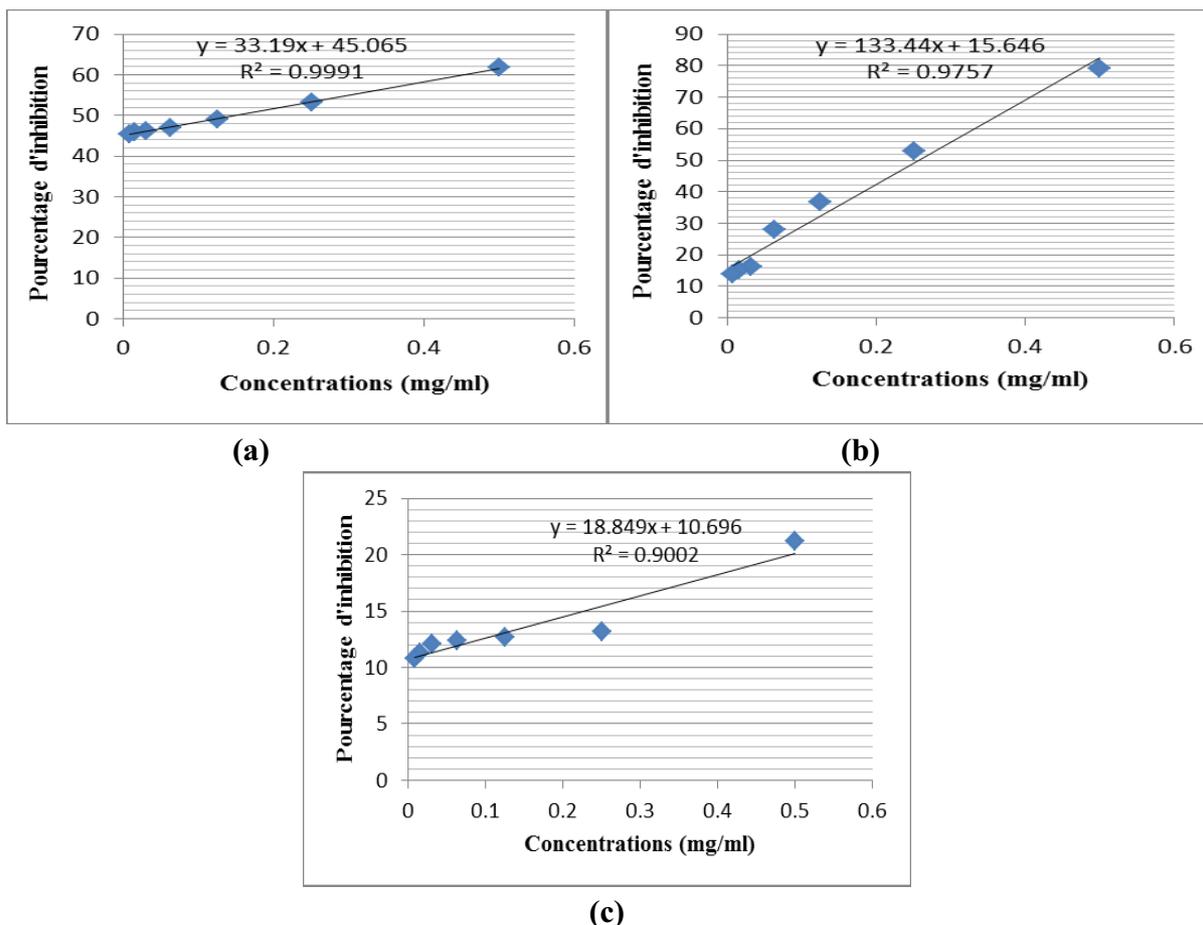


Figure 5 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations utilisées pour les macérats des graines d'*A. hierochuntica* L. **(a)** : macérât aqueux, **(b)** : macérât méthanolique, **(c)** : macérât étherique

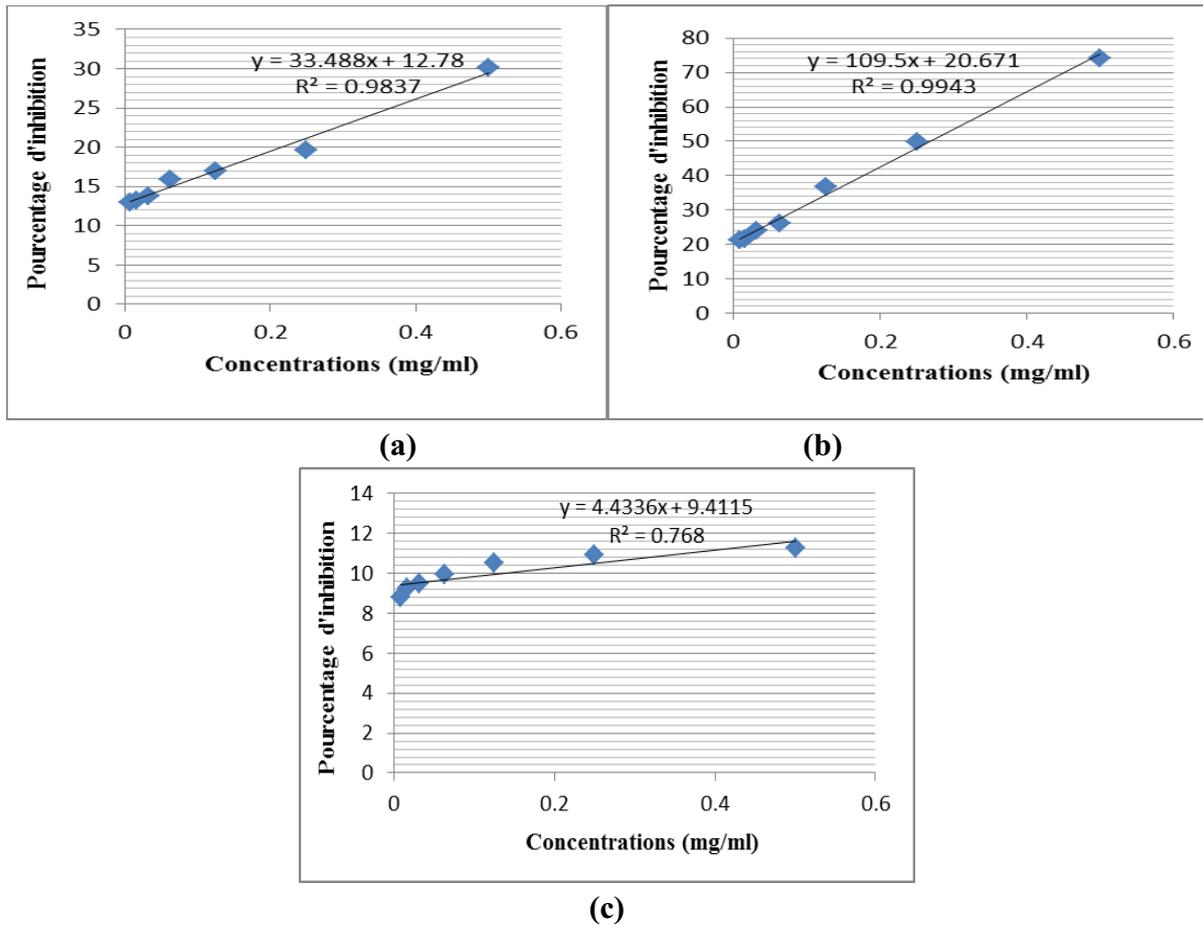


Figure 6 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations utilisées pour les macérâts des tiges d'*A. hierochuntica* L.

(a) : macérât aqueux, **(b) :** macérât méthanolique, **(c) :** macérât étherique

Le macérât méthanolique des graines a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus important par rapport aux macérâts aqueux et étheriques. À une concentration de 0,5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition des macérâts méthanoliques,

aqueux et étheriques des graines étaient 81,25 ; 59,39 et 15,26%.

Les valeurs des IC_{50} trouvées les extraits testés sont représentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 1).

Tableau 1 : Valeurs IC₅₀ des extraits de deux parties végétatives d' *A.hierochuntica* L.
Test de piégeage du radical DPPH (mg/ml).

Macérâts	Valeur moyenne ± écart-type						
	Témoins	Graines			Tiges		
	Ac. ascorbique	MA	MM	ME	MA	MM	ME
IC₅₀ (mg/ml)	0,194±0,0073	0,143± 0,0074	0,257± 0,012	0,681± 0,221	1,029± 0,115	0,358± 0,128	2,08± 0,130

MA : Macérât aqueux, **MM** : Macérât méthanolique, **ME** : Macérât étherique, **Ac.**: Acide
NB : Chaque valeur est exprimée en moyenne ± écart-type (n=3)

Les macérâts aqueux et méthanoliques des tiges ont montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH, plus important par rapport aux autres macérâts. Ceci est démontré par l'allure des graphes qui trace une courbe exponentielle qui définit la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire.

À une concentration de 0,5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition des macérâts méthanoliques, aqueux et étheriques des tiges étaient 61,65 ; 27 et 6,24%.

La capacité antioxydante des différents macérâts a été déterminée à partir des IC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur IC₅₀ est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande [20].

Les résultats expérimentaux obtenus montrent que les macérâts aqueux des graines présentent une activité anti radicalaire importante avec une valeur IC₅₀ de 0,143±0,0074mg/ml. Cette valeur est supérieure à celle de l'acide ascorbique comme une référence (IC₅₀= 0,194±0,0073mg/ml), Encore plus, nous avons remarqué que les macérâts étheriques des graines étaient moins actifs par rapport aux autres macérâts (0,681±0,221mg/ml). Tandis que les macérâts aqueux et étheriques des tiges, aucune activité anti radicalaire n'a pas été élucidée.

Les macérâts méthanoliques ont réagi positivement au test anti radicalaire DPPH. Cette activité est peut être due à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes, polyphénole, tanins et

terpènes phénoliques qui peuvent créer un système efficace contre les radicaux libres [21].

Notre résultat était en accord avec les données de Shah *et al.*, [22]; Mohamed *et al.*, [23] qui montrent que toutes les parties végétatives d' *A.hierochuntica* L., se sont avérées riches en composés phénoliques et qui peuvent créer une haute activité antioxydante par un système efficace contre les radicaux libres, tel que les flavonoïdes qui contiennent les groupes fonctionnels d'hydroxyle, responsable à l'effet antioxydant, encore les tanins qui ont un bon pouvoir antioxydant agissant à faible dose.

La capacité surélevée de piégeage des radicaux DPPH par les extraits de graines peut être dû à la présence de teneurs élevées en composés phénoliques et des flavonoïdes. Il a été rapporté que l'activité antioxydante des extraits de plantes est nombreuse proportionnellement importante à leur teneur en composés phénoliques, suggérant une relation causale entre eux [24].

Conclusion

À travers les résultats obtenus, il a été confirmé que la plante peut être largement utilisée dans la médecine traditionnelle dont elle possède un potentiel antioxydant où les graines sont dotées d'une très bonne

activité antioxydante par rapport à la tige et que les macérats aqueux et méthanoliques des graines, aussi bien le macérat méthanolique de la tige semblent plus importantes aux autres extraits testés.

Malgré l'utilisation moins fréquente de cette plante à la thérapie dans la région d'étude, *A.hierochuntica* L., s'avère être une très bonne source de substances antioxydantes et antibactériennes dont les substances qu'elle synthétise sont dotées d'un large éventail d'activités biologiques et pourrait fournir la source de candidats médicaments biologiquement actifs et donc, peut être un agent thérapeutique en prévenir ou guérir les maladies dues au stress oxydatif.

Remerciements

Nos vifs remerciements sont adressés aux membres de l'équipe des laboratoires pédagogiques de biologie et chimie de l'université Tahri Mohammed de Bechar-Algérie.

Références bibliographiques

- [1] Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R. 2005 : Mesure de la résistance aux radicaux libres. Acte du 6ème Journées de la Recherche Avicole, S Malo, les 30 et 31 Mars : 554-558.
- [2] Favier A. 2003 : Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la

compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité chimique, 108-115.

[3] **Diplock AT. 1991** : Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. The American Journal of Clinical Nutrition; 53(1 Suppl): 189-193.

[4] **Warwick SI. 1993** : Guide to wild germplasm of *Brassica* and Allied crops. Part IV. Wild species in the tribe *Brassicaceae* (Cruciferae) as sources of agronomic traits. Centre for Land and Biological Resources Research, Research Branch, Agriculture Canada, p. 1-19.

[5] **Onyilagha J., Bala A., Hallett R., Gruber M., Soroka, J., Westcott N. 2003** : Leaf flavonoids of the cruciferous species, *Camelina sativa*, *Crambe spp.*, *Thlaspi arvense* and several other genera of the family *Brassicaceae*. Biochemical Systematics and Ecology; 31, 1309-1322.

[6] **Ozenda P. 1977** : Flore du Sahara, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Paris, France, pp 250-259.

[7] **Quézel P., Santa S. 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tomme 2, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Paris, France, pp 387-398.

[8] **Bouhadjera K. 2004** : Contribution à l'étude chimique et biologique de deux

plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* et *Aristida pungens*. Thèse de Doctorat, université Abou bekr belkaid, Tlemcen (Algérie).

[9] **Nakashima S., Matsuda H., Oda Y., Nakamura S., Xu F., Yoshikawa M. 2010** : Melanogenesis inhibitors from the desert plant *Anastatica hierochuntica* in B16 melanoma cells. Bioorganic & Medicinal Chemistry; 18(6): 2337-2345. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2010.01.046>.

[10] **Sehab AS., Adam ZM. 1983** : Cytological effects of medicinal plants in Qatar III. Mitotic effect of water extract of *Anastatica hierochuntica* L. on *Allium cepa*. Cytologia; 48: 343-348.

[11] **Benyagoub E, Nabbou N, Sirat M, Belkacem A. 2015** : Etude phytochimique et évaluation du pouvoir antibactérien de quelques extraits de *Lavandula angustifolia* Mill., *in vitro* sur des espèces bactériennes isolées responsables d'infection uro-génitale chez la femme. Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products; 13: 39-49.

[12] **Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. 2005** : Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). Food chemistry; 90(3): 333-340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.022>

- [13] **Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A., Sakata K. 1994** : A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*; 58: 1780-1783.
- [14] **Blois MS. 2002** : Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*; 26: 1199-1200.
- [15] **John D. 1984** : One hundred useful drugs of the Kani tribes of Trivandum forest divisions, Kerala, India. *International Journal of Crude Drug Research*; 22: 17-39.
- [16] **Sreejayan N., Rao MNA. 1996** : Free radical scavenging activity of curcuminoids. *Drug Research*; 46: 169-178.
- [17] **Hsu CY. 2006** : Antioxidant activity of extract from *Polygonum aviculare* L. *Biological Research*; 39: 281-288.
- [18] **Fejes S., Blzovics A., Lugasi A., Lemberkovics E., Petri G., Kry A. 2000** : In vitro antioxidant activity of *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffm.) extracts. *Journal of Ethanopharmacology*; 69: 259-265.
- [19] **Yokozawa T., Chen CP., Dong E., Tanaka T., Nonaka GI., Nishioka I. 1998**: Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals. *Biochemical Pharmacology*; 56: 213-222.
- [20] **Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon MH. 2001** : Antioxidants in food: Practical applications. 1st Ed. Woolhead Publishing Limited, USA, 18, 573-463.
- [21] **Ferrari J. 2002** : Contribution à la connaissance du métabolisme secondaires des thymelaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucrata* Steud. ex *A.Rich.* Thèse de Doctorat, Université de Nice Sophia Antipolis, Lausanne.
- [22] **Shah AH., Bhandari MP., Al-Harbi NO., Al-Ashban RM. 2014**: Kaff-E-Maryam (*Anastatica hierochuntica* L.). Evaluation of Gastro- Protective Activity and Toxicity in Different Experimental Models. *Biology and Medicine*; 6(1): 1-10. <http://dx.doi.org/10.4172/0974-8369.1000197>
- [23] **Amal A Mohamed., Ashraf A Khalil., Hossam ES El-Beltagi. 2010** : Antioxidant and antimicrobial properties of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*). *Grasas y Aceites*; 61(1): 67-75. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.064509>.
- [24] **Rice-Evans CA., Miller NJ., Bolwell PG., Gramley PM., Pradham JB. 1995** : The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*; 22:375-383.