

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Année : 2016/ 2017



N° d'enregistrement :

.....

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat ès Sciences

Spécialité : Biologie

**Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de
deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien**

Présentée et soutenue publiquement

Par :

Melle HADJADJ Soumia

Le 04/ 07 / 2017

Devant le jury :

OULD EL HADJ Mohamed Didi	Professeur	Univ. Ouargla	Président
OULD EL HADJ-KHELIL Aminata	Professeur	Univ. Ouargla	Directrice de thèse
SEGNI Ladjel	Professeur	Univ. Ouargla	Examineur
SAIDI Fairouz	Professeur	Univ. Blida	Examinatrice
OUAHRANI Mohamed Ridha	Professeur	Univ. El Oued	Examineur
BOURAS Nouredine	Professeur	Univ. Ghardaïa	Examineur

Remerciements

Mes remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à *ALLAH* le tout puissant, de m'avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi-arides de l'Université KASDI Merbah- Ouargla, aux laboratoires pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université KASDI Merbah-Ouargla et à l'Unité Mixte de Recherche 6553, Ecosystèmes- Biodiversité- Evolution de l'Université de Rennes 1. Je remercie les responsables de ces laboratoires de m'avoir accordé d'y accéder afin de réaliser mes expérimentations.

Mes très profondes reconnaissances et mes sentiments les plus sincères vont à ma Directrice de thèse, Madame *OULD EL HADJ- KHELIL Aminata*, Professeur au Département des Sciences Biologiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université KASDI Merbah-Ouargla, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'encadrer ce travail, de le diriger avec tant de compétence et de gentillesse. Ses conseils et ses orientations éclairées m'ont permis de mener à terme ce travail. Je la remercie de m'avoir fait confiance et de m'avoir donné l'opportunité d'évoluer en tant que chercheuse au sein de son équipe de recherche « Valorisation des Plantes Spontanées » dans le laboratoire de « Protection des Ecosystèmes en Zones Aride et Semi-arides ».

J'exprime également mes plus vifs remerciements à Monsieur le Professeur *OULD EL HADJ Mohamed Didî* du Département des Sciences Biologiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université KASDI Merbah-Ouargla, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce Jury de thèse. Je le remercie aussi pour ses encouragements et son soutien moral et ses qualités humaines.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également aux Professeurs *SEGTI Ladjel*, *SAIDI Fairouz*, *OUAHRANI Mohamed Ridha* et *BOURAS Noureddine* pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail afin de m'aider à avancer encore vers d'autres horizons.

Je tiens à remercier Madame *ESNAULT Marie-Andrée*, HDR à l'Université de Rennes 1, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire « Unité Mixte de Recherche 6553, Ecosystèmes- Biodiversité- Evolution ». Je la remercie pour son intérêt à mon travail, pour ses conseils scientifiques, ses précieuses aides et l'encadrement de haut niveau qui ont permis

d'atteindre les objectifs visés. Sans oublier M^{lle} *BERARDOCCO Solenne* et M^f *GUYOT Sylvain* et Professeur *BOUCHEREAU Alain* qui m'ont initié aux techniques chromatographiques et qui étaient toujours disponibles. Qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements.

Je présente mes remerciements les plus sincères à tous les membres des laboratoires de « Génie des Procédés » et de « Bioressources Sahariennes, Préservation et Valorisation », de l'Université KASDI Merbah- Ouargla, pour leur aide et leur collaboration.

J'exprime mes remerciements et ma reconnaissance à tout le personnel du laboratoire des analyses médicales de l'hôpital SLIMANE AMIRAT à TOUGGOURT, de m'avoir permis de réaliser les tests de l'activité antibactérienne.

L'occasion m'est donnée ici pour exprimer ma gratitude à M^{lle} *DJAAFRI Kawther*, ingénieur d'Etat à l'INRA de Touggourt, pour son aide et sa sympathie.

Un grand merci spécial à Madame *CHAOUCH Saïda* Maître de Conférences au Département des Sciences Agronomiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université KASDI Merbah-Ouargla, pour le temps qu'elle a pu consacrer pour m'aider dans les analyses statistiques et pour ses conseils. Merci également à la famille *DJILALI*, pour leur aide dans la récolte des plantes.

Je remercie tous mes enseignants, depuis le primaire, qui ont contribué et influencé ma forte personnalité, tous mes amis, mes étudiants, mes collègues de travail et tous ceux et celles qui ont apporté aide et soutien, de près ou de loin tout au long de mes études.

Finalement, un grand merci du fond du cœur, plein d'amour et de tendresse aux membres de ma famille, ma mère « la lumière de ma vie », mes frères « *Abd'Errezak, Mohammed Lékbir, Boufatah et Fodil* », ma sœur « *Fatiha* » et mes belles sœurs, sans oublier mon cher cousin « *Mohammed El-Hadi* » qui m'a fait toujours confiance et qui m'a beaucoup encouragé pour y arriver, je lui dis « Merci beaucoup ».

HADJADJ Soumia

Liste des abréviations

ABTS	: Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique)
AUD	: Maladies auditives
CAN	: Maladies cancéreuses
CAV	: Maladies cardiovasculaires
EC ₅₀	: Concentration effective à 50%
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
DER	: Maladies dermatologiques
DIG	: Maladies digestives
DMSO	: Diméthyle sulfoxyde
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl
END	: Maladies endocrinologiques
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
GEN	: Maladies génitales
GEN10	: Gentamicine
GOU	: Maladies urologiques
MET	: Maladies métaboliques
MUS	: Maladies musculo-squelettiques
NEU	: Maladies neurologiques
OFX 5	: Ofloxocine
OPH	: Maladies ophtalmologiques
ORAC	: Oxygen radical absorbance capacity.
PAR	: Maladies parasitaires
POI	: Maladies de poisons
PPM	: Test de phosphomolybdate
R	: Coefficient de corrélation linéaire
RES	: Maladies respiratoires
TEAC	: Capacité antioxydante équivalente de Trolox

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Systématique des plantes étudiées (Cronquist, 1988)	12
II	Différentes souches bactériennes utilisées dans le test antibactérien	13
III	Paramètres géographiques des régions de récoltes des espèces sélectionnées	18
IV	Facteur de consensus informateur (F _{IC}) des différentes catégories de maladies	39
V	Fréquence de citation (F _C %) des plantes étudiées selon les maladies traitées	39
VI	Utilisations des espèces étudiées en médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Algérie)	41
VII	Résultats d'analyse tri-phytochimique des plantes étudiées	47
VIII	Contenus organique et inorganique des plantes étudiées	50
IX	Aspects, couleurs et rendements des extraits bruts des plantes étudiées	53
X	Contenu en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des plantes étudiées	54
XI	Composés phénoliques identifiés par HPLC-DAD-ESI-MS/ MS dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de <i>S. tripartita</i>	56
XII	Composés phénoliques identifiés par HPLC-DAD-ESI-MS/ MS dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de <i>L. guyonianum</i>	58
XIII	Activité antioxydante des extraits des plantes étudiées	63
XIV	Coefficients de corrélation linéaire (<i>R</i>) entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts estimées par les tests de PPM, DPPH et ABTS	65
XV	Couleurs, aspects et rendements des extraits bruts et de leurs différentes fractions	66

XVI	Teneurs des extraits bruts et de leurs différentes fractions en composés phénoliques	67
XVII	Capacité antioxydante totale des extraits bruts et de leurs différentes fractions estimées par les tests ABTS, DPPH et ORAC	70
XVIII	Coefficients de corrélation linéaire (<i>R</i>) entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts et de leurs différentes fractions estimées par les tests ABTS, DPPH et ORAC	72
XIX	Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{g}/\text{disque}$) des extraits méthanoliques et de leurs différentes fractions	75

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Situation géographique et diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен de la région de Ouargla (2010- 2015)	15
2	Différentes étapes d'extraction et de fractionnement des extraits bruts	25
3	Hydrolyse des prothocyanidines par le reactif butanol-HCl (Amarowicz et Pegg, 2006)	28
4	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH• (Michel, 2011)	31
5	Cinétique de transfert des atomes d'hydrogène d'un antioxydant au DPPH• (60 µM)	32
6	Génération et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H ⁺ (De Oliveira <i>et al.</i> , 2014)	33
7	Courbes de déclin de fluorescence dans le test ORAC	34
8	Fréquence d'utilisation des plantes selon la partie floristique utilisée	43
9	Fréquence d'utilisation des plantes selon les modes de préparation	44
10	Fréquence d'utilisation des plantes selon les formes d'administration	45
11	Chromatogramme HPLC-DAD-ESI-MS/MS de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de <i>S. tripartita</i>	56
12	Spectre de masse de la myricétine-3-O- glucoside (A) et la myricétine-3-O-rhamnoside (B) en mode négatif	57
13	Spectre de masse de la quercétine-3-O-glucoside (A) et la quercétine-3-O-rhamnoside (B) en mode négatif	57
14	Chromatogramme HPLC-DAD-ESI-MS/MS de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de <i>L. guyonianum</i>	58

15	Spectre de masse du dérivé de l'acide quinique en mode négatif	59
16	Spectre de masse de la myricétine-3-O- rutinoside en mode négatif	60
17	Spectre de masse de la myricétine-3-O-glucuronide (A) et la myricétine-3-O-pentoside (B) en mode négatif	60
18	Spectre de masse de la quercétine-3-O-glucuronide en mode négatif	61
19	Spectre de masse de l'eriodictyol -3-O- rutinoside en mode négatif	61
20	Activité antibactérienne des extraits méthanoliques et de leurs différentes fractions de <i>S. tripartita</i> (A) et <i>L. guyonianum</i> (B)	73

Sommaire

Introduction générale et problématique	02
---	----

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel biologique.....	10
I.1.1. Critères de choix des plantes étudiées.....	10
I.1.1.1. Origine géographique commune.....	10
I.1.1.2. Apports de la littérature.....	11
I.1.2. Souches bactériennes.....	13
I.2. Méthodes adoptées.....	13
I.2.1. Etude ethnobotanique.....	13
I.2.2. Technique de récolte et de séchage du matériel végétal.....	18
I.2.3. Criblage phytochimique.....	18
I.2.4. Analyses phytochimiques.....	22
I.2.4.1. Extraction et dosage des éléments minéraux.....	22
I.2.4.2. Extraction des métabolites organiques primaires.....	23
I.2.4.2.1. Dérivation et analyse des sucres solubles, polyols et acides organiques par chromatographie en phase gazeuse (GC-FID).....	23
I.2.4.2.2. Dérivation et analyse des acides aminés par chromatographie liquide ultra performance (UPLC).....	24
I.2.4.3. Extraction des composés phénoliques par macération hydro-alcooliques.....	26
I.2.4.4. Fractionnement des extraits hydrométhanoliques avec des solvants de polarités croissantes.....	26
I.2.4.5. Calcul des rendements en extraits secs.....	27
I.2.4.6. Quantification des composés phénoliques.....	27
I.2.4.6.1. Dosage des polyphénols totaux.....	27
I.2.4.6.2. Dosage des flavonoïdes.....	28
I.2.4.6.3. Dosage des tanins condensés.....	28
I.2.5. Chromatographie HPLC-DAD-ESI-MS/MS pour la caractérisation des polyphénols des extraits hydrométhanoliques.....	29

I.2.6. Evaluation des activités biologiques.....	30
I.2.6.1. Activité antioxydante.....	30
I.2.6.2. Activité antibactérienne.....	35
I.2.7. Analyse statistique.....	36

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Résultats de l'étude ethnobotanique.....	38
II.1.1. Degré d'accord des répondants.....	38
II.1.2. Maladies traitées par les plantes investiguées.....	40
II.1.3. Caractéristiques des remèdes préparés à base des plantes investiguées.....	42
II.1.4. Parties floristiques utilisées dans la préparation des recettes recensées.....	43
II.1.5. Modes de préparation des recettes recensées.....	44
II.1.6. Modes d'administration des recettes recensées.....	45
II.2. Criblage phytochimique.....	46
II.3. Composition phytochimique.....	49
II.3.1. Composition des plantes étudiées en éléments minéraux.....	49
II.3.2. Contenu des plantes étudiées en métabolites organiques primaires.....	51
II.3.3. Contenu phénolique des plantes étudiées.....	53
II.3.3.1. Rendements des extraits bruts en composés phénoliques.....	53
II.3.3.2. Contenu phénolique des extraits bruts.....	54
II.4. Identification des composés phénoliques des extraits hydro-méthanoliques par HPLC-DAD-ESI-MS/MS.....	55
II.5. Pouvoir antioxydant des extraits bruts.....	62
II.5.1. Activité antioxydante totale.....	63
II.5.2. Activité anti-radicalaire.....	63
II.5.3. Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts.....	64
II.6. Rendements des différentes fractions en composés phénoliques.....	66
II.7. Teneurs des extraits bruts et de leurs différentes fractions en composés phénoliques.....	67
II.8. Activité antioxydante des extraits bruts et de leurs différentes fractions (TEAC)....	69
II.9. Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les capacités antioxydantes des extraits bruts et de leurs différentes fractions.....	71

II.10. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques et de leurs différentes fractions.....	72
Conclusion générale et perspectives	80
Références bibliographiques	84
Annexes	I
Résumés	

*Introduction générale
et problématique*

Durant des siècles et même des millénaires, l'homme puise dans son environnement les connaissances nécessaires à sa survie et à son bien-être. Avant même de posséder l'usage du langage, il pouvait transmettre l'expérience de la médecine et de tous types de remèdes naturels pour finalement créer un lien de complémentarité avec la nature et élaborer ce que nous appelons aujourd'hui la « **médecine traditionnelle** » (Roumy, 2007).

Pour l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2000), l'expression médecine traditionnelle se rapporte à l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques basées sur les théories, croyances et expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales.

A travers le monde, la médecine traditionnelle constitue soit le mode principal de prestation de soins de santé, soit un complément à ce dernier. En effet, l'OMS (2002) estime qu'environ 80% de la population africaine dépendent encore des médecines traditionnelles pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de santé primaire. Or, dans les pays industrialisés, c'est sous forme de thérapies complémentaires que les plantes sont aujourd'hui surtout utilisées. En Europe et en Amérique du Nord, plus de 50% de la population a eu recours au moins une fois à des compléments alimentaires à base de plantes. C'est encore beaucoup plus au Canada (70 %) et en Allemagne (90%).

L'étude de ces connaissances ancestrales par les sciences modernes révèle progressivement quelques secrets de la nature qui permettent à l'homme de poursuivre son évolution. C'est dans ce cadre que des disciplines hétérogènes telles que la botanique, la phytochimie, la biologie, l'anthropologie et bien d'autres sont mises en œuvre afin de décrire et d'interpréter les « **pharmacopées traditionnelles** » (Roumy, 2007).

Dès la fin du XVIII^{ème} siècle, de nombreux scientifiques s'attachent à isoler les principes actifs des plantes. Ses recherches et notamment l'isolement de la morphine à partir du pavot (*Papaver somniferum*) par Friedrich Wilhelm Adam Sertürner (Hartmann, 2007). Par la suite, l'isolement de nombreux principes actifs tels que la quinine et la quinidine du *Cinchona* spp., ou plus récemment la digoxine du *Digitalis* spp., la vincristine et la vinblastine du *Catharanthus roseus*, l'atropine du *Atropa belladonna* et de l'artémisinine isolée à partir d'*Artemisia vulgaris*, furent en grande partie responsable des progrès de la médecine au XX^{ème} siècle (Rates, 2001).

L'émergence et la diffusion de la résistance microbienne aux antibiotiques, l'apparition des effets secondaires d'utilisation anarchique, inadéquate et abusive des médicaments issus de la synthèse chimique en médecine moderne ainsi que la concérogénicité des additifs alimentaires synthétiques actuellement disponibles dans le commerce sont devenues des problèmes de santé publique très préoccupants (Edziri *et al.*, 2012).

Plusieurs résistances ont été rapportées, en particulier celle du *Plasmodium falciparum* face aux nombreux antipaludiques (chloroquine, proguanil ou méfloquine), même aux derniers commercialisés comme les associations atovaquone-proguanil ou combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (Pradines *et al.*, 2010). Des suspicions de résistance des parasites de la bilharziose au praziquantel sont rapportées (Soliman et Ibrahim, 2005).

En terme de contre effet, le métronidazole provoque des maux de tête et nausées, il serait même cancérogène et tératogène (Calzada *et al.*, 2006). La gestion classique des douleurs accompagnant les diverses maladies utilise principalement les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et les opiacés auxquels appartiennent respectivement l'acide salicylique et la morphine. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens manifestent des effets secondaires tels que lésions et irritations gastro-intestinales, toxicité rénale tandis que l'usage des opiacés est réservé aux douleurs sévères à cause de leurs effets secondaires adverses : dépression respiratoire, dépendance, sédation (Schenone *et al.*, 2006).

A cet effet, les savoirs et les pratiques traditionnels font aujourd'hui l'objet d'un intérêt croissant de la part de la biomédecine, notamment l'industrie du médicament, qui grâce à l'étude des remèdes ancestraux découvre de nouvelles molécules actives. A titre d'exemple, une étude effectuée aux États-Unis à l'Université de l'Illinois (Chicago) en 2001 a montré que parmi les substances médicamenteuses trouvées sur le marché, 122 proviendraient de plantes (de 94 espèces différentes). Parmi ces molécules d'origine naturelle, 80% ont été utilisées aux mêmes fins ou à des fins similaires à celles pour lesquelles les plantes d'origine étaient utilisées en médecine traditionnelle (Fabricant et Farnsworth, 2001).

Une des singularités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides et acides nucléiques), ils synthétisent également une foule importante d'autres métabolites indirectement essentiels à la vie des plantes, dits « **métabolites**

secondaires » (Macheix *et al.*, 2005). Terme proposé par Albrecht Kossel en 1891, pour désigner tous les composés qui sont produits par les plantes et pour lesquels on ne connaissait pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) (Hadacek, 2002).

Ces métabolites, sont largement employés par les plantes pour leur défense, leur pollinisation et jouent ainsi un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (radiation ultra-violette, température, sécheresse, etc.) (Kutchan, 2001 ; Wink, 2003 ; Kliebenstein, 2004).

D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent souvent la base des principes actifs des plantes médicinales, l'évaluation de leurs valeurs thérapeutiques ayant fait l'objet de nombreuses recherches et amené à l'identification des principaux éléments actifs des plantes, on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une substance végétale (Newman et Cragg, 2012).

L'estimation du nombre de composés décrits à ce jour varie entre 100 000 (Hadacek, 2002) et 200 000 structures (Hartmann, 2007). Ils sont regroupés en trois classes chimiques sur la base de leurs origines biosynthétiques et caractéristiques structurales. Les **terpènes** sont tous dérivés d'un simple précurseur à cinq atomes de carbone isopentenyl pyrophosphate, d'où le nom d'**isoprénoïdes** sous lequel on les désigne également (Lamarti, 1994). Les **alcaloïdes** qui contiennent un ou plusieurs atomes d'azote (souvent inclus dans un hétérocycle), sont généralement dérivés des aminoacides (Aniszewski, 2007 ; Evans, 2009) et les **composés phénoliques**, avec plus de 8000 structures connues, constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Selon certaines estimations, nous en consommons l'équivalent d'un gramme par jour (Scalbert et Williamson, 2000).

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction, éther, ester ou hétéroside (Bruneton, 1999). Leur origine biosynthétique dérive de deux voies métaboliques, la voie du shikimate, la plus courante, qui conduit entre autre à la formation des acides phénoliques, flavonoïdes et lignines,

et la voie des polyacétates, qui est à l'origine des composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (Bruneton, 2008).

Les polyphénols ont une grande importance de par leurs nombreux effets bénéfiques pour la santé (Koechlin-Ramonatxo, 2006). En effet, grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, permettraient à l'organisme de lutter contre les agressions de l'oxygène et ses pathologies associées, ce qui suscitent un intérêt grandissant pour la prévention et le traitement des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes (Montagnier *et al.*, 1998), les cancers (Weiguang *et al.*, 2005), les maladies inflammatoires (Aruoma, 1994), cardiovasculaires (Scalbert et Williamson, 2000 ; Stoclet *et al.*, 2004 ; Leifert et Abeywardena, 2008) et neurodégénératives (Ramassamy, 2006).

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour les organismes vivant en aérobiose, parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Cependant, une partie de cet oxygène moléculaire (environ 1 à 2 %) peut capter d'une manière univalente un électron conduisant à la formation des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les **radicaux libres** ou encore les **espèces réactives de l'oxygène (ERO)** (Baudin, 2006).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) capables d'une existence indépendantes (d'où le terme libres), portant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs couches externes (Lehucher-Michel *et al.*, 2001). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de leurs électrons célibataires à se réappairer, leurs constantes de vitesse réactionnelle sont très élevées pouvant aller de 10^5 à 10^{10} mol⁻¹. L. s⁻¹ (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

Dans les circonstances quotidiennes normales, les radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense. Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires, pour réguler des fonctions cellulaires létales, telles que la mort cellulaire programmée ou apoptose. Ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la

fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes et au phénomène appelé contrôle redox des gènes (Favier, 2003).

Dans certaines situations, il apparaît un déséquilibre provoqué par une production exagérée des radicaux libres ou par une diminution des défenses antioxydantes, on parle alors de **stress oxydant** à l'origine bien souvent d'altérations moléculaires participant à la physiopathologie de nombreux processus pathologiques comme facteur déclenchant ou associé à des complications (Favier, 2003 ; Baudin, 2006). En 1956, Harman propose la théorie radicalaire du vieillissement, selon laquelle les ERO produites par les organismes aérobies induiraient des dommages oxydatifs sur les biomolécules qui, en s'accumulant, seraient responsables du vieillissement. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres interviennent dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeurs comme p53 (Favier, 2003).

Pour contourner les dommages oxydatifs, la cellule fait appel à des systèmes de défense dits antioxydants. Les **antioxydants** sont des molécules qui, lorsqu'elles sont présentes à concentration relativement faible, seraient capables d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou inhiber l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006). Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques (superoxyde dismutase, catalase, glutathions peroxydases et réductases) et systèmes non enzymatiques, renfermant des constituants endogènes (albumine, ferritine, bilirubine...) et des micronutriments exogènes apportés par l'alimentation, ce sont des composés antioxydants exclusivement végétaux et qui ont une plus grande hétérogénéité comme les vitamines, les oligoéléments, les polyphénols, les caroténoïdes... (Goudable et Favier, 1997 ; Pokorny *et al.*, 2001).

Le potentiel des plantes comme sources pour la production de nouveaux médicaments est largement inexploité (Hamburger et Hostettmann, 1991). Eu égard au nombre d'espèces de plantes à fleurs sur terre évalué à près de 240 000 à 300 000 (Anthony *et al.*, 2005), seulement 06% de ces espèces auraient été étudiées scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques et 15% auraient été évaluées sur le plan phytochimique (Verpoorte, 2000 ; Gurib-Fakim, 2006).

L'Algérie, grâce à sa situation géographique particulière, sa superficie étendue et son relief, bénéficie d'une gamme très variée de climats et de sols, favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les zones côtières, les massifs montagneux, les hauts plateaux, la steppe et les oasis sahariennes. Donc une source de matière médicale riche et abondante, représentée par 3000 espèces (Cheriti *et al.*, 2006, Saad *et al.*, 2006, Cheriti *et al.*, 2012). Au sud des Monts de l'Atlas saharien, s'étend le désert du Sahara, qui occupe plus de 2 millions de km² de la superficie de l'Algérie et dispose d'une biodiversité floristique exceptionnelle, constituée de plus de 1200 espèces (Maire, 1933, Ozenda, 1991), dont on dénombre 162 espèces endémiques dans le Sahara septentrional seul et à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes (Quezel, 1978).

Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore du Sahara septentrional Est Algérien présente un intérêt scientifique « **fondamental** » pour la connaissance et le savoir faire dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « **appliqué** » dans le domaine de la valorisation des ressources phytogénétiques.

Le laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi- Arides est parmi les peu nombreux laboratoires de recherche qui ont pris en charge la valorisation des plantes spontanées de la région Sud-est Algérienne de point de vue ethnopharmacologique, phytochimique et activités biologiques. C'est dans ce contexte que ce travail s'est consacré à l'étude phytochimique et à l'évaluation des propriétés antioxydantes et antibactériennes des extraits issus de deux plantes médicinales, *Searsia tripartita* (Ucria) Moffett et *Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss. Largement utilisées dans la pharmacopée traditionnelle de la région de Ouargla, située au Sahara septentrional Est Algérien, qui a pour objet de contribuer à la rationalisation, à la promotion de l'utilisation des plantes médicinales et pour tenter de donner une base scientifique à ces pratiques empiriques en vue de l'utilisation en thérapeutique moderne.

Le manuscrit est organisé en deux chapitres, le premier chapitre méthodologique, illustre un panorama synthétique des approches bibliographiques et techniques adoptées pour le choix des plantes étudiées, décrit les protocoles suivis pour l'extraction et les techniques d'analyse des métabolites primaires et secondaires, les tests d'évaluation des activités

antioxydantes et antibactériennes des différents extraits et la technique d'identification des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse.

Le second chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une interprétation et d'une discussion.

Enfin les conclusions essentielles sur l'ensemble de ce travail, ainsi que les perspectives de sa continuité ont été dégagées.

Chapitre I

Matériel et méthodes

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Critères de choix des plantes étudiées

De nombreuses sources naturelles sont à l'origine de découvertes de nouveaux principes actifs (microorganismes, plantes, organismes marins...etc.). Mais, les plantes sont historiquement les plus utilisées dans toutes les pharmacopées du monde. Selon Bruneton (1999), des 25 composés pharmaceutiques les plus vendus à travers le monde, 12 proviennent de produits naturels. Or on estime que seulement environ 10 % des 250 000 espèces de plantes inventoriées ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives. Il reste donc potentiellement, de nombreux principes actifs à découvrir.

La recherche et l'élaboration des composés bioactifs dans une plante sont longues et onéreuses du fait des multiples étapes nécessaires à l'isolement et à la détermination structurale d'un principe actif. Pour cela, la sélection initiale des plantes à récolter pour mener ce genre d'étude est une étape cruciale qui peut s'appuyer sur différentes approches. Celles-ci reposent le plus souvent sur le criblage aléatoire, la littérature, la chimiotaxonomie ou l'ethnopharmacologie... Dans cette optique, un certain nombre de critères ont été pris en compte pour sélectionner les plantes de cette étude.

I.1.1.1. Origine géographique commune

Dans son ensemble, le Sahara regroupe schématiquement une bande centrale de désert absolu, correspondant au Sahara central, lequel est encadré par deux bandes de désert atténuées, désignées par le Sahara méridional et le Sahara septentrional. Ce dernier est soumis à une forme extrême du climat méditerranéen (Ozenda, 1983 ; Le Houerou, 1990).

Le climat, en raison de ses composantes, tels que la température, la précipitation, le vent et l'humidité relative de l'air, contrôle de nombreux phénomènes biologiques et physiologiques. Boudy (1952), note que la répartition géographique des végétaux et des animaux et la dynamique des processus biologiques sont foncièrement conditionnées par le climat.

La végétation des zones arides, en particulier celle du Sahara, est très remarquable par son adaptation à un climat sec et à un sol salé (Trabut et Mares, 1906). Elle apparaît comme très pauvre si l'on compare le petit nombre d'espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre, elle comprend seulement 1200 espèces (Ozenda, 1983).

La flore du Sahara septentrional est relativement homogène et les pénétrations méditerranéennes font de cette zone l'une des régions les plus riches du Sahara. L'endémisme y est élevé du fait des vastes espaces impropres à la vie, on y dénombre 162 espèces endémiques (Quezel, 1978). A cette richesse spécifique est associée une originalité sur le plan

phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) et sur le plan pharmacologique. Ces ressources végétales sont exposées aux différents stress environnementaux : hydriques, salins et thermiques, induisant un stress oxydatif d'où leur richesse remarquable en métabolites secondaires dotés d'activités pharmacologiques qui leurs confèrent un intérêt médicinal (Saad *et al.*, 2006).

La capacité des halophytes à surmonter le stress oxydatif déclenché par la salinité est régie par de multiples mécanismes adaptatifs. Ces traits comprennent essentiellement la biosynthèse des osmolytes et des antioxydants, d'où l'utilisation traditionnelle de ces halophytes comme plantes à intérêts médicinales et alimentaires (Ksouri *et al.*, 2008). Par ailleurs, connaître la rareté éventuelle d'une espèce, son époque de floraison et sa disponibilité en terme de quantité peuvent également constituer des critères de choix. Cette rareté floristique est directement liée aux conditions édaphiques et climatiques contraignantes (Davi, 2015). Ces facteurs sont à l'origine du choix porté sur quelques plantes spontanées du Sahara septentrional Est Algérien, afin de contribuer à la mise en évidence de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites, élargissant ainsi la connaissance de la biodiversité de notre pays.

I.1.1.2. Apports de la littérature

L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Ce sont avant tout des domaines de recherche interdisciplinaire à l'interface des sciences humaines, comme l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie, la médecine (Gurib-Fakim, 2006).

La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de cette biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques. Les données apportées par l'ethnopharmacologie mènent souvent à sélectionner des plantes à fort potentiel pharmacologique. D'après la littérature, nous aurions ainsi plus de chances de trouver des molécules bioactives et non toxiques dans les plantes de la médecine traditionnelle que par le biais d'un criblage aléatoire (Balunas et Kinghorn, 2005). Dans ce contexte, nous avons envisagé d'exploiter les données ethnobotaniques relatives aux plantes médicinales autochtones élaborées par Maiza *et al.* (1993), Ould El Hadj *et al.* (2003), Chehma et Djébar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013), dans l'optique de sélectionner des plantes médicinales sahariennes ayant un fort potentiel d'activité du fait de leurs usages traditionnels répandus par nos ancêtres.

Tableau I. Systématique des plantes étudiées (Cronquist, 1988)

<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta (Angiospermes) Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones) Ordre : Caryophyllales Famille : Amarantacées (Chénopodiacées) Genre : <i>Atriplex</i> Espèce : <i>Atriplex halimus</i> L.</p>	
<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Sapindales Famille : Rutacées Genre : <i>Haplophyllum</i> Espèce : <i>Haplophyllum tuberculatum</i> Juss.</p>	
<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Sapindales Famille : Zygophyllacées Genre : <i>Nitraria</i> Espèce : <i>Nitraria retusa</i> (Forssk.) Asch.</p>	
<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Violales Famille : Tamaricacées Genre : <i>Tamarix</i> Espèce : <i>Tamarix gallica</i> L.</p>	
<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Sapindales Famille : Anacardiacees Genre : <i>Searsia</i> Espèce : <i>Searsia tripartita</i> (Ucria) Moffett.</p>	
<p>Règne : Plantae Division : Magnoliophyta Classe : Magnoliopsida Ordre : Plumbaginales Famille : Plumbaginacées Genre : <i>Limoniastrum</i> Espèce : <i>Limoniastrum guyonianum</i> Durieu ex Boiss.</p>	

Pour le présent travail, en tenant compte des considérations que nous avons évoqué précédemment, une liste préliminaire de 14 espèces végétales répertoriées en 11 familles a été établie comme l'indique l'annexe I. Six espèces potentiellement intéressantes ont particulièrement retenu notre attention du fait qu'elles n'ont été que rarement étudiées (Tableau I).

La mise à jour de la nomenclature botanique a été effectuée en faisant appel à la base de données The Plant List 2013.

I.1.2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans le présent travail sont des contaminants et des pathogènes, largement rencontrés dans diverses pathologies de l'homme (Tableau II). Elles sont entretenues par repiquages successifs et réguliers dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive) et conservées à 4°C.

Tableau II. Différentes souches bactériennes utilisées dans le test antibactérien

Groupes de germes	Espèces	Codes de référence
Bacille Gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
Cocci Gram +	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923

I.2. Méthodes adoptées

I.2.1. Etude ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique qui est un travail de terrain, consiste à aller à la rencontre des praticiens traditionnels pour s'enquérir de leur méthode de traitement des maladies. Ce qui nous a permis de valoriser l'expérience acquise par les autochtones, d'aboutir au témoignage sur l'utilisation des plantes dans la pharmacopée traditionnelle et de répertorier par écrit ce patrimoine culturel important menacé de déperdition, transmis par tradition orale de génération en génération.

La connaissance de l'usage traditionnel des plantes dans la médecine populaire permet de déterminer celles qui sont les plus prometteuses en tenant compte de critères basés sur le

nombre absolu de citations d'une plante et de son degré de spécificité pour une maladie précise (Cheriti *et al.*, 2005).

I.2.1.1. Cadre géographique et socio-économique de la zone d'étude

Notre étude est entreprise dans le Sud-est Algérien, dans la Wilaya de Ouargla, située à 790 Km de la capitale Alger et s'étend sur une superficie de 163.230 km². Elle est limitée au Nord par les wilayas de Djelfa, Biskra et El-Oued, à l'Est par la Tunisie, au Sud par les wilayas de Tamanrasset et d'Illizi et à l'Ouest par la wilaya de Ghardaïa (Figure 01). La région de Ouargla se trouve encaissée au fond d'une cuvette très large de la basse vallée de l'Oued M'ya, à une altitude de 157 m, latitude de 32° 45' Nord et 31° 45' Sud et longitude de 5° 20' Est et 5° 45' Ouest (Rouvillois-Brigol, 1975).

D'un point de vue climatique, la ville de Ouargla est caractérisée par un climat de type saharien. L'aridité est importante. Elle se manifeste par des températures élevées en été, des précipitations très faibles et surtout par une forte évaporation due à la sécheresse de l'air. La température moyenne annuelle selon l'Office National de la Météorologie (ONM) pour la période allant de 2010 à 2015, est d'environ 24°C, avec 36.68°C en Juillet pour le mois le plus chaud et 12.22°C en Janvier pour le mois le plus froid (Annexe II).

La lecture des données relative aux précipitations illustrées dans la figure 01 montre qu'elles sont très réduites et irrégulières à travers les saisons et les années, leur répartition est marquée par une sécheresse presque absolue du mois de Mai jusqu'au mois d'Août, la hauteur moyenne des précipitations enregistrées sur 6 ans (2010-2015) est de l'ordre de 38 mm. Les mois les moins arrosés sont Juillet 0.340 mm et Août 0.338 mm. Ainsi, l'humidité varie sensiblement en fonction des saisons de l'année. Durant l'été elle chute jusqu'à 21.22 %, en Juillet sous l'effet d'une forte évaporation due aux vents chauds, alors qu'en hiver, elle s'élève au-dessus de 50% sans jamais dépasser 60% sur une moyenne de 6 ans.

Le relief de la wilaya est un sous ensemble de composants géographiques dont les principaux sont le grand Erg oriental (véritable mer de sable ou les dunes), les Hamadas (vaste plateau rocheux), les Vallées (la vallée fossile d'Oued M'ya et la vallée d'Oued Righ), les Regs (Plaines de graviers et de fragments rocheux) et les Dépressions (dayas, lits d'oueds, sebkhas et chotts).

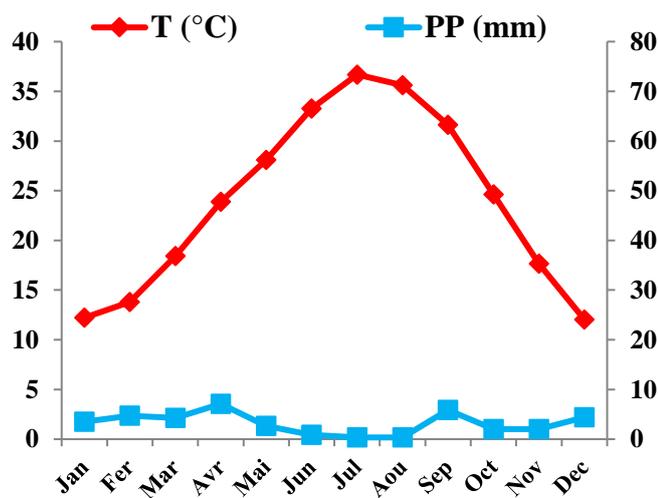
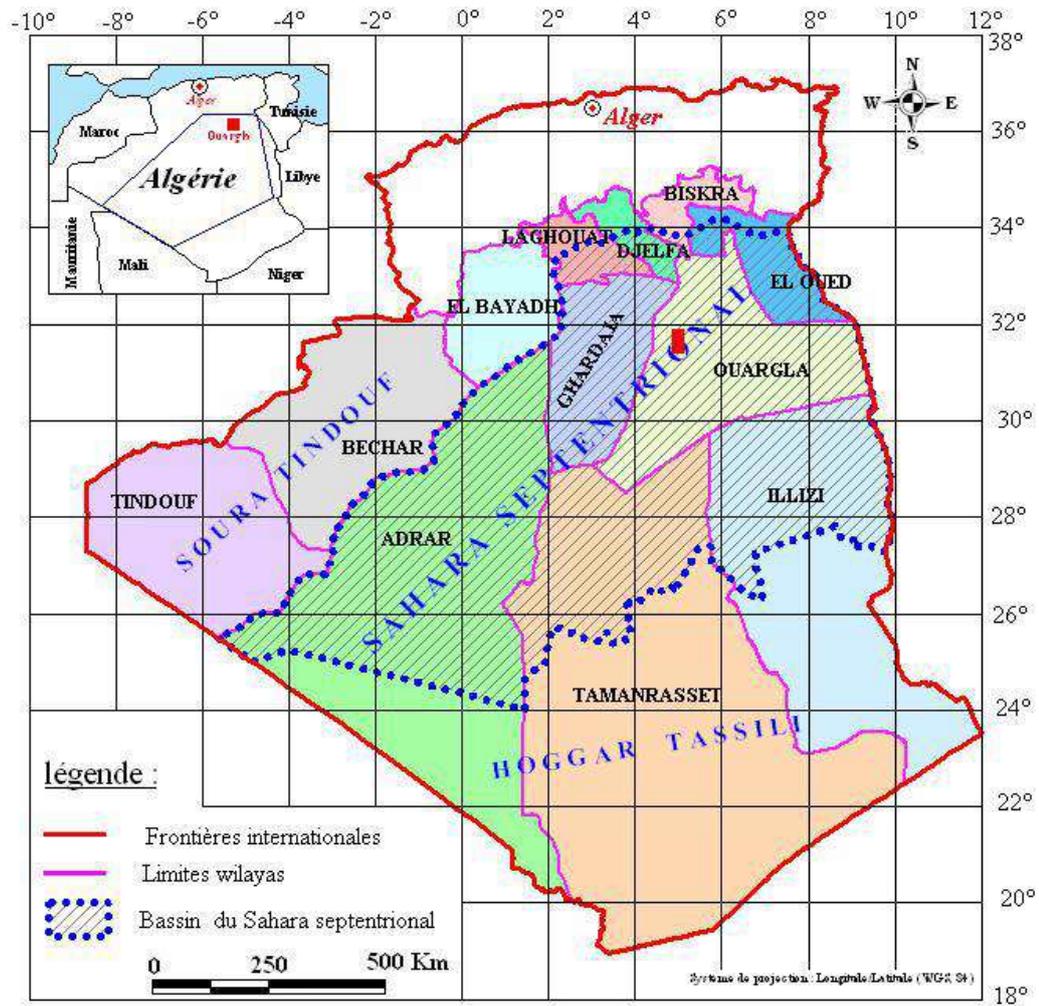


Figure 01. Situation géographique et diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен de la région de Ouargla (2010- 2015)

Le réseau hydrographique de la région de Ouargla se constitue essentiellement de trois grands éléments hydrologiques, Oued M'Ya, Oued N'Sa et Oued M'Zab. Ces deux derniers Oueds participent dans une certaine mesure à l'alimentation en eau des nappes phréatiques malgré la faiblesse des précipitations et de leur caractère orageux (Rouvillois-Brigol, 1975).

La population totale résidant dans la région est estimée à près de 558 563 habitants, soit une densité de 3.4 habitants/ km². Les habitants sont ethniques multiples, berbère, arabe, africaine et métisse venue de mariages mixtes. La caractéristique principale de la région, est la jeunesse de la population, car la majorité de la population a moins de 25 ans avec un taux d'accroissement naturel de l'ordre de 2.15%.

Le travail de la terre avait toujours constitué pour les habitants de la région, la principale source d'activité et de revenu. C'est un espace à activité agro-pastorale fortement dominée par la phoeniciculture et la céréaliculture sous pivot grâce à son climat et à la mobilisation de la ressource hydrique. En addition, la zone d'étude a un patrimoine floristique de diverses espèces méditerranéennes et tropicales qui se sont adaptées au désert (ANDI, 2013).

I.2.1.2. Collecte des données

Afin de connaître l'éventuel usage des espèces végétales (*Atriplex halimus* L., *Searsia tripartita* (Ucria) Moffett, *Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss., *Haplophyllum tuberculatum* Juss., *Tamarix gallica* L. et *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch.), dans la pharmacopée traditionnelle de la dite région, une recherche ethnobotanique auprès des populations (tradipraticiens, herboristes, guérisseurs, nomades, médecins, pharmaciens...) a eu lieu durant la période allant de Décembre 2011 à Mars 2013. Un total de 200 informants (45% des femmes et 55% des hommes), dont l'âge varie entre 20 et 80 ans ont participé à cette étude.

L'enquête a été réalisée à l'aide d'une fiche remplie par interrogation orale (Annexe IV). Le questionnaire a été axé sur les informations relatives aux personnes interrogées (âge, sexe et fonction) et leurs habitudes thérapeutiques (le nom local, les parties utilisées de la plante, les indications thérapeutiques, les formes de préparations ainsi que les modes d'administration). Tous les entretiens ont été conduits dans la langue originaire de la zone d'étude (Arabe).

I.2.1.3. Analyse des données

Les données inscrites sur des fiches brutes ont été saisies et traitées par le logiciel tableur Excel Version 2013 qui a permis d'établir leurs valeurs du Facteur de Consensus Informateur (Fic) et les Fréquences de Citation (Fc) pour être présentés sous forme des tableaux et des histogrammes.

I.2.1.3.1. Facteur de consensus informateur (F_{IC})

Vu la variabilité des maladies et des recettes médicamenteuses, les recettes recensées ont été regroupées en 15 catégories de maladies : dermatologiques (DER), auditives (AUD), respiratoires (RES), neurologiques (NEU), génitales (GEN), métaboliques (MET), cardiovasculaires (CAV), digestives (DIG), urologiques (GOU), musculo-squelettiques (MUS), ophtalmologiques (OPH), endocrinologiques (END), poisons (POI), cancéreuses (CAN) et parasitaires (PAR).

Le degré d'accords des informateurs sur les thérapies rapportées a été appréhendé par le calcul du facteur de consensus informateur (F_{IC}) défini par Heinrich *et al.* (1998). Les valeurs du Fic varient entre 0 et 1. Une valeur élevée (plus proche de 1) est obtenue quand une seule ou un nombre réduit d'espèces est citée par une grande proportion d'informateurs pour une catégorie de maladie. À l'inverse, sa valeur sera d'autant plus faible (plus proche de 0) qu'une grande diversité d'espèces est citée pour un même usage. Cela indique que les répondants sont en désaccord sur les thérapies proposées pour la catégorie de maladie donnée (Canales *et al.*, 2005).

Le F_{IC} est calculé de la façon suivante :

$$F_{IC} = \frac{Nur - Nt}{Nur - 1}$$

Nur : nombre de citations pour chaque catégorie et *Nt* : nombre total des espèces utilisées pour cette même catégorie.

I.2.1.3.2. Fréquence de citation (F_C)

Pour chaque catégorie d'usage, la fréquence de citation (F_C) (nombre de fois où une espèce végétale est citée par les 200 personnes interrogées) est déterminée suivant la formule ci-dessous:

$$F_C = \frac{\text{Nombre de citations d'une espèce pour une catégorie de maladie}}{\text{Nombre de citation d'une espèce pour toutes les catégories}} \times 100$$

I.2.2. Technique de récolte et de séchage du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes fleuries des espèces sélectionnées pour la présente étude. Elles sont récoltées dans différentes régions du Sahara septentrional Est Algérien entre les mois de Mai et Mars des années 2009 à 2016 (Tableau III). Leur identification botanique a été réalisée selon la flore du Sahara Ozenda (1983) et à l'aide de leur comparaisons avec les spécimens disponibles dans l'herbarium de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'universitaire de Ouargla.

Tableau III. Paramètres géographiques des régions de récoltées des espèces sélectionnées

Espèce	Région de récolte	Longitude	Latitude	Altitude (m)
<i>A. halimus</i>	Biskra	005° 24' 43.5" E	34° 45' 14.3" N	2
<i>S. tripartita</i>	Ghardaïa	003° 30' 00.1" E	32° 13' 09.1" N	519
<i>L. guyonianum</i>	Ouargla	006° 07' 59.6" E	33° 12' 30.9" N	299
<i>H. tuberculatum</i>	Ghardaïa	003° 29' 59.9" E	32° 13' 19.3" N	314
<i>T. gallica</i>	Ouargla	006° 01' 55.5" E	33° 17' 12.5" N	1
<i>N. retusa</i>	Ouargla	006° 02' 39" E	33° 13' 02.9" N	1

Après la récolte, les parties aériennes débarrassées des débris (mauvaises herbes et poussières) sont séchées à l'abri de la lumière à l'air libre et à la température ambiante pendant 2 à 3 semaines, ensuite broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique de type Culatti MFC et de référence 9109138 et tamisée avec un tamis à ouverture de maille de 0.5 mm. Les poudres sont conservées dans des flacons hermétiques en verre, à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'aux leurs analyses.

I.2.3. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de colorations et/ ou de précipitations par des réactifs spécifiques. C'est l'un des outils indispensables qui permet de déceler la présence des différents groupes des phytocomposés dans une plante donnée. C'est ainsi que ces plantes investiguées sont passées au screening phytochimique en se référant aux techniques décrites dans les travaux de Sofowora (1982),

Dahou *et al.* (2003), Békro *et al.* (2007) et Bruneton (2009). Cherchant à éclairer les prescriptions des tradipraticiens et à sélectionner des matières premières représentatives des métabolites secondaires.

I.2.3.1. Recherche des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) a permis de caractériser les polyphénols. A 2ml d'infusé à 5 % de poudre végétale on ajoute 2 gouttes de solution alcoolique de FeCl_3 à 2%. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols (Bruneton, 2009).

I.2.3.2. Recherche des tanins

La recherche des tanins est réalisée par le réactif de Stiasny qui permet de différencier les tanins catéchiques condensés des tanins galliques hydrolysables (Bruneton, 2009). Dans un tube à essai, mettre 5 ml d'infusé à 5% et 15 ml du réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% et 5 ml HCl), le mélange est maintenu au bain- Marie à 80°C pendant 30 min sous la hotte. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérise les tanins catéchiques.

Concernant les tanins galliques, la solution précédente est filtrée. Le filtrat est recueilli et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 1% aux 2 ml de surnageant prélevé provoque l'apparition d'une coloration bleue noire intense dénotant la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

I.2.3.3. Recherche des flavonoïdes

I.2.3.3.1. Flavonoïdes libres ou génines

Les flavonoïdes sont recherchés par la réaction à la cyanidine (Bruneton, 2009). On introduit dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5% et on le mélange avec 5 ml d'alcool chlorhydrique (4 ml d'éthanol et 1 ml HCl concentré) et 1 ml d'alcool isoamylique puis on ajoute 2 ou 3 copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de précipitation pendant quelques minutes. L'apparition au niveau de la couche surnageante d'alcool isoamylique d'une coloration :

- ✓ Rose orangée indique la présence de flavones.
- ✓ Rose violacée caractérise les flavanones.
- ✓ Rouge indique la présence de flavonols et de flavanonols.

I.2.3.3.2. Leucoanthocyanes

Les leucoanthocyanes sont également révélées par la réaction à la cyanidine sans adjonction de copeaux de magnésium. Une prise de 5 ml d'infusé à 5% est additionnée à 5 ml d'alcool chlorhydrique. Après chauffage au bain- Marie à 50 °C pendant 15 min, l'apparition d'une coloration rouge est caractéristique de leur présence (Bruneton, 2009).

I.2.3.4. Anthocyanes

Les anthocyanes sont révélées par addition de 5 ml d'acide sulfurique à 10% aux 5 ml d'infusé à 5%. L'apparition d'une coloration rose- rougeâtre en milieu acide qui vire au bleu violacé lorsqu'on ajoute 5 ml d'une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) diluée à 50%, atteste la présence des anthocyanes (Bruneton, 2009).

I.2.3.5. Recherche des dérivés anthracéniques

I.2.3.5.1. Caractérisation des dérivés anthracéniques libres

La présence des dérivés anthracéniques est mise en évidence à l'aide du réaction de Borntraëger (Bekro *et al.*, 2007). Un extrait chloroformique à base de 1 g de poudre végétale et 10 ml de chloroforme est préparé. Après un chauffage au bain- Marie durant 3 min et une filtration à chaud, 1 ml de cet extrait est agité avec 1 ml de NH₄OH diluée à 50%. L'apparition d'une coloration rouge témoigne de la présence des anthracéniques libres.

I.2.3.5.2. Caractérisation des dérivés anthracéniques combinés

I.2.3.5.2.1. O-hétérosides (anthraquinones)

Le résidu de la poudre végétale préalablement épuisée par le chloroforme servira à mettre en évidence les deux formes hétérosidiques (O-hétérosides et C-hétérosides) (Bruneton, 2009). Un aliquote de résidu est hydrolysé à chaud dans 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après refroidissement, l'hydrolysate est repris avec 10 ml de chloroforme. A la phase organique récupérée, on ajoute 1 ml de NH₄OH diluée à 50%, suivi d'une agitation. L'apparition d'une teinte allant du rouge au violet dans la phase aqueuse alcaline indique la présence de génines des O-hétérosides.

I.2.3.5.2.2. O-hétérosides à génines réduites

La réaction négative ou faiblement positive avec les O-hétérosides conduit à la recherche des O-hétérosides à génines réduites en présence d'un oxydant le FeCl₃. A 5 ml d'hydrolysate préparé précédemment, on ajoute 3 à 4 gouttes de FeCl₃ à 10% et le tout est porté

au bain-Marie à 90 °C pendant 5 min. Après refroidissement et homogénéation avec 10 ml de chloroforme, la phase organique est récupérée et alcalinisée avec 1 ml de NH₄OH diluée à 50%. En présence des produits d'oxydation des anthranols ou anthrones la coloration rouge est plus intense que précédemment.

I.2.3.5.2.3. C-hétérosides

Les C- hétérosides sont caractérisés par ajout à la phase aqueuse obtenue précédemment avec les O-hétérosides, 10 ml d'eau distillée et 1 ml de FeCl₃ à 10%, le mélange est porté à ébullition durant 30 min au bain-Marie. Après refroidissement sous courant d'eau, on extrait avec 5 ml de chloroforme. La phase organique est séparée et on la mélange avec 1 ml de NH₄OH diluée à 50%. Une coloration rouge plus ou moins intense indique une réaction positive.

I.2.3.6. Recherche des alcaloïdes

La caractérisation des alcaloïdes est effectuée en utilisant des réactifs de Burchard et de Dragendorff (Sofowora, 1982). Dans un erlenmeyer de 250 ml, introduire 10 g de la poudre végétale et 100 ml d'une solution aqueuse acidifiée par H₂SO₄ à 10%. Le mélange est agité et macéré pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire. Il est ensuite filtré sur papier filtre et lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 100 ml de filtrat.

Dans deux tubes à essai sont introduit 2 ml de filtrat à 10 % puis on ajoute 3 gouttes des réactifs de Burchard (2.5 g d'iode, 5 g d'iodure de potassium et 100 ml H₂O) dans le premier tube et de Dragendorff dans le second. L'apparition d'un précipité brun rougeâtre et orange respectivement dans les deux tubes, confirme la présence des alcaloïdes par leur extraction.

I.2.3.7. Recherche des stérols et des polyterpènes

La recherche des stérols et des polyterpènes est fondée sur la réaction de Libermann-Burchard. 1 g de broyat est mis à macérer dans 20 ml d'éther diéthylique pendant 24 heures, le mélange est ensuite filtré et complété à 20 ml. 10 ml de filtrat est évaporé à sec sur bain de sable, le résidu sec est dissous dans un mélange de 1 ml d'anhydride acétique et 1ml de chloroforme et ensuite partagé entre deux tubes. L'un servant de témoin et le second contenant préalablement 1 à 2 ml de H₂SO₄ concentré. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette à la couche surnageante révèlent la présence des stérols et des polyterpènes (Bruneton, 2009).

I.2.3.8. Recherche des saponosides

La mise en évidence des saponosides repose sur leur faculté à former une mousse (Dahou *et al.*, 2003). Dans un bécher, on ajoute 100 ml d'eau distillée à une quantité de 2 g de broyat végétal, puis la solution est portée à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, on filtre le mélange et on ajuste le filtrat à 100 ml avec l'eau distillée.

Dans une série de dix tubes à essai, sont introduits successivement 1, 2,...10 ml du décocté aqueux à 2% puis le volume est ajusté dans tous les tubes à 10 ml avec l'eau distillée. Chaque tube est agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur. Après un repos de 15 min, la hauteur de la mousse est mesurée, si cette dernière est égale à 1 cm, la dilution de la substance dans ce tube correspond à l'indice de mousse recherché, il est égal à $1000/n^{\circ}$ tube. Un indice supérieur à 100 est considéré comme une réaction positive témoignant d'une richesse de la plante en saponosides.

I.2.4. Analyses phytochimiques

I.2.4.1. Extraction et dosage des éléments minéraux

Des quantités connues (25 g) de poudre végétale sont préalablement desséchées à l'étuve et mises à minéraliser dans un four à moufle pendant 4 heures à 500 °C. Les cendres sont dissoutes dans 25 ml d'acide chlorhydrique (0.5N) et complétées à 50 ml avec l'eau bidistillée. Les différents dosages se font sur le filtrat de l'extraction acide à froid (Bangood, 1984).

Les teneurs en sodium (Na^+), potassium (K^+) et calcium (Ca^{2+}) sont déterminées par spectrophotométrie à flamme en émission (Photomètre Jenway), reposant sur le fait que certains composés chimiques peuvent être dissociés thermiquement dans une flamme et que les atomes produits sont excités à des niveaux d'énergie élevés. L'émission énergétique correspond à la transition inverse. Le retour à l'état fondamental se fait avec émission de radiations électromagnétiques. Ils restituent l'énergie acquise en émettant une radiation caractéristique de l'élément que l'on recherche, il y a alors émission d'une série de raies que l'on peut sélectionner au moyen de filtres interférentiels (Pere, 1999).

Pour une température de flamme constante, l'intensité de la lumière émise est proportionnelle à la concentration de l'élément présent dans la solution. La quantification est effectuée par comparaison à une solution étalon traitée dans les mêmes conditions. Les teneurs sont exprimées en micromole par gramme de matière sèche ($\mu\text{mol/g}$ de MS).

Le chlorure (Cl^-) est dosé par colorimétrie à l'aide d'un colorimètre (Sherwood) à 470 nm en présence d'alun ferrique et de thiocyanate mercurique (Kr, 2011).

Le sulfate (SO_4^{2-}) est dosé par turbidimétrie à 495 nm, sur le trouble obtenu après précipitation sous forme de sulfate de baryum par le chlorure de baryum, stabilisé par la gélatine (Kr, 2011).

I.2.4.2. Extraction des métabolites organiques primaires

Une masse de 11 mg d'échantillon en poudre est mise en suspension dans 400 μl de solution méthanolique contenant 200 μM d'acide β -aminobutyrique (BABA) et 400 μM d'adonitol (étalons internes pour les acides aminés et les sucres, respectivement) sous agitation pendant 15 min, puis 200 μl de chloroforme sont ajoutés et placés sous agitation pendant 10 min. Le mélange obtenu est par la suite ajusté avec de l'eau ultra pure à un volume final de 1 ml et agité 20 secondes. L'extrait est récupéré après centrifugation durant 5 min à 12000 g. On obtient une meilleure séparation des deux phases : une phase supérieure (surnageant) contenant les sucres solubles, les protéines et d'autres composés solubles et une phase inférieure contenant les lipides, les chlorophylles et les autres pigments. Des aliquotes de 50 μl des extraits polaires sont transférées dans des Eppendorfs et immédiatement évaporées au speedvac pendant 1 heure. Les résidus secs sont stockés au congélateur pour analyse des métabolites primaires.

I.2.4.2.1. Dérivation et analyse des sucres solubles, polyols et acides organiques par chromatographie en phase gazeuse (GC-FID)

L'analyse des sucres solubles, polyols et acides organiques par chromatographie en phase gazeuse (CPG) requiert une étape de préparation d'échantillon, en particulier la dérivation des fonctions hydroxyles, amines et carboxyliques libres.

La dérivation consiste à modifier chimiquement les composés qui ne peuvent être directement analysés en CPG (température d'ébullition ou stabilité à la température inadaptée, sélectivité ou seuil de détection trop faible,...etc.) par réaction de méthylation, silylation, triméthyl-silylation. On synthétise un sous-produit dont les propriétés facilitent son analyse par une technique spécifique. Les dérivés triméthylsilylés sont les plus populaires et les plus utilisés. La triméthyl-silylation se réalise par la substitution d'atomes d'hydrogène actifs par un groupement triméthylsilyle. Les produits qu'on obtient, sont généralement moins polaires, moins thermolabiles et plus volatiles (Kattan *et al.*, 2012).

La dérivation de nos extraits est réalisée sur la base des procédures décrites par Roessner (2000). 50 μl d'extraits séchés à l'avance ont été dissous dans 0.5 ml de 20 mg/ml de méthoxyamine dans la pyridine à 30°C pendant 90 min. Ensuite, 50 μl de N-méthyl-N-

triméthyl-silyl-trifluoroacétamide (MSTFA) ont été ajoutés et le mélange a été incubé pendant 30 min à 37°C.

Après une stabilisation pendant au moins 4 heures à la température ambiante, le mélange dérivé a été injecté en CPG Agilent Technologies (6890 N) série CN 10714005 pour analyser selon la méthode modifiée par Adams *et al.* (1999). Un volume de 01 µl de métabolites triméthylsilylés est injecté en mode *split* (20 :01) à 260°C sur une colonne composée de 5% diphenyle et 95% diméthyle polysiloxane (DB-5) (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm) et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) à 300°C. Le gaz vecteur est l'hélium, utilisé à un débit 1.5 ml/min. La température du four a été programmée comme suite : un isotherme à 70°C pendant 5 min, une augmentation à 300°C (5°C/min) puis un isotherme à 300°C pendant 5 min. Les métabolites ont été identifiés par comparaison de chromatogrammes des échantillons à ceux de mélange d'étalons de concentration connue et quantifiés en micromole par gramme de matière sèche (µmol/ g de MS).

I.2.4.2.2. Dérivation et analyse des acides aminés par chromatographie liquide ultra performante (UPLC)

Les détecteurs en chromatographie liquide (LC) sont couramment l'Ultra-violet ou la fluorescence. Les acides sont peu chromophores et une étape de dérivation peut être nécessaire en LC pour améliorer la limite de détection.

La dérivation des acides aminés a été réalisée par réaction de 5 µl d'extraits réhydratés dans l'eau ultra pure, 35 µl de tampon borate 1M (pH 9) et 10 µl de réactif AccQ. Tag (6-aminoquinolyl-N-hydroxy succinimidyl carbamate) dissous dans l'acétonitrile dans un tube Eppendorf. Le milieu réactionnel est maintenu à 55°C sous agitation pendant 10 min. Ensuite, le contenu du tube (environ 50 µl) est transféré dans un vial UPLC en vue de leur analyse à l'aide d'un système Acquity™ UPLC (Waters Corporation, Milford, États-Unis) (Jubault *et al.*, 2008). 0.8 µl du mélange réactionnel est injecté sur une colonne Acquity™ UPLC BEH C18 (1.7 µm, 2.1 mm x 100 mm) chauffée à 55 °C. Les acides aminés sont élués avec un mélange de Tag AccQ™, éluant A dilué 10 fois dans l'eau ultra pure et l'acétonitrile pure, éluant B, à un taux de 0,7 ml/min selon le gradient suivant: initiale, 99.9% A; 0.54 min, 99.9% A; 6.50 min, 90.9% A; 8.50 min, 78.8% A; 8.90 min, 40.4% A; 9.50 min, 40,4% A; 9.60 min, 99.9% A; 10.10 min, 99.9% A. Les dérivés en acides aminés sont détectés à 260 nm en utilisant un détecteur à réseau de photodiodes. Les métabolites sont identifiés par comparaison de chromatogrammes des échantillons à ceux de mélange d'étalons de concentration connue et quantifiés en micromole par gramme de matière sèche (µmol/ g de MS).

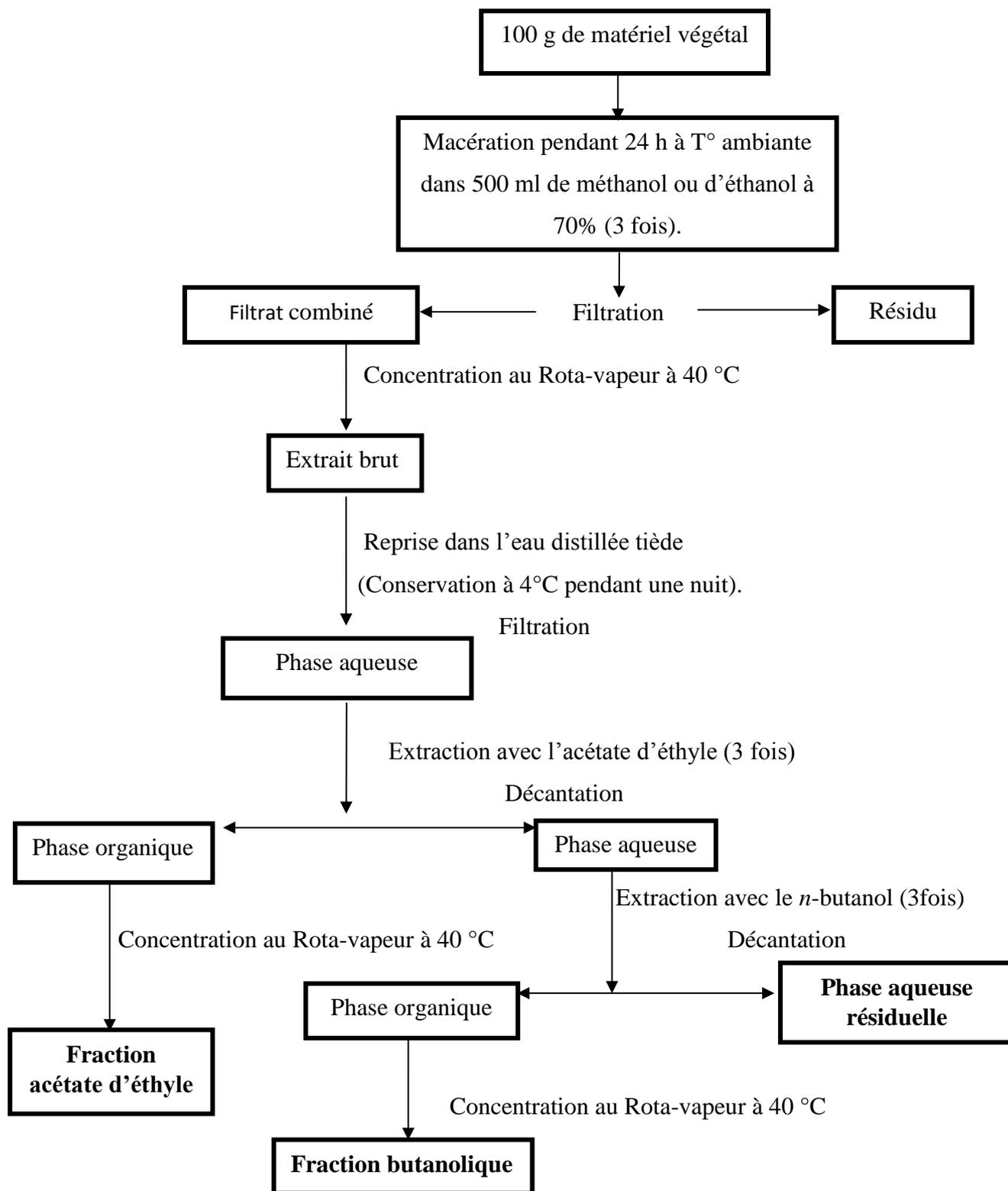


Figure 02. Différentes étapes d'extraction et de fractionnement des extraits bruts

I.2.4.3. Extraction des composés phénoliques par macération hydro-alcooliques

L'extraction par macération est l'une des méthodes d'extraction les plus utilisées pour l'obtention des métabolites secondaires des plantes médicinales. Pour cela, nous avons opté pour le protocole décrit par Chaabi et *al.* (2008) en y apportant quelques modifications : 100 g de poudre végétale est mise à macérer individuellement dans 500 ml de mélanges hydro-alcooliques méthanol/eau et éthanol/eau (70/30 : V/V), pendant 24 heures sous agitation à température ambiante.

Les extraits hydro-alcooliques sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman N°1 de 125 μ m de porosité et les résidus obtenus sont repris pour une deuxième et une troisième extraction avec un même volume des mélanges hydro-alcooliques, d'une durée respective de 24 heures. Les filtrats sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rota-vapeur de type K HB4 basie IKA®-WERKE et de référence 01.452784 à 40 °C permettant ainsi d'obtenir des résidus secs qui sont considérés comme étant les extraits bruts (Figure 02).

I.2.4.4. Fractionnement des extraits hydrométhanoliques avec des solvants de polarités croissantes

Après concentration sous vide, les extraits bruts sont repris avec l'eau distillée tiède à raison de 200 ml pour 25 g du résidu sec et on laisse les solutions une nuit à 4°C pour accélérer la diffusion des molécules dans les solvants. Après filtration, les solutions aqueuses ainsi obtenues sont épuisées successivement par séparation liquide- liquide avec une série de solvants organiques de polarités croissantes (Figure 02). Elles sont initialement mélangées avec l'acétate d'éthyle (V/V) dans une ampoule à décanter, après décantation, les phases organiques supérieures sont récupérées pour obtenir des phases organiques contenant les aglycones et les mono glycosides. Cette étape est refaite trois fois. Les phases aqueuses restantes sont soumises à une autre étape de fractionnement par le *n*-butanol pour récupérer notamment les flavonoïdes di et tri glycosides, en suivant les mêmes étapes que la première étape de fractionnement par l'acétate d'éthyle. Les raffinats restants représentent les fractions aqueuses résiduelles contenant surtout les flavonoïdes glycosylés plus polaires. Les trois fractions récoltées sont concentrées par évaporation à basse pression à 40 °C et conservées à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation.

Les extraits secs ainsi obtenus sont pesés en vue d'évaluer leur rendement. Ils sont repris, soit dans le méthanol pour le dosage des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante, soit dans le DMSO pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

I.2.4.5. Calcul des rendements en extraits secs

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage du principe actif dissout dans le solvant organique utilisé pour l'extraction. Déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre utilisée pour l'extraction (Abe *et al.*, 2010).

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R (\%) = [M_1 / M_0] \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche,

M₁ : quantité d'extrait récupérée exprimée en g,

M₀ : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

I.2.4.6. Quantification des composés phénoliques

I.2.4.6.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux des différents extraits est effectué selon une technique spectrophotométrique décrite par Lister et Wilson (2001), *via* le réactif de Folin- Ciocalteu, qui est basé sur la réduction en milieu basique de la mixture d'acide phosphotungestique H₃P(W₃O₁₀)₄ et d'acide phosphomolybdique H₃PM_{O12}O₄ par les groupements oxydables des composés phénoliques présents dans l'échantillon. Les produits de réduction oxydes métalliques de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₃) de couleur bleue, possèdent une absorption maximale au environ de 750 nm dont l'intensité est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans l'échantillon.

Une prise de 100 µl d'extrait ou standard (préparés dans le méthanol à 80%) avec des dilutions convenables sont ajoutés à 500 µl de réactif de Folin- Ciocalteu (dilué 10 fois) et 1000 µl d'eau distillée. Après agitation vigoureuse de la préparation et d'incubation 5 min à la température ambiante, 1500 µl d'une solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (20%) sont additionnées au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est lue à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible de type SHIMADZU contre un blanc contenant le solvant dans lequel est solubilisé l'extrait. Trois lectures sont faites par échantillon. Les teneurs en composés phénoliques sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique de concentration massique croissante allant

de 0.04 à 0.32 mg/ml préparées dans le méthanol à 80 %. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g de MS).

I.2.4.6.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de Quettier-Deleu *et al.* (2000) est utilisée pour déterminer les teneurs en flavonoïdes de nos échantillons en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif. La méthode est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif, entraînant la formation du complexe flavonoïde- aluminium stable de couleur jaunâtre, détectable dans le visible à 430 nm.

Une prise de 1ml d'extrait ou standard (préparés dans le méthanol à 80%) est additionnée à 1 ml d'une solution fraîchement préparée d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 min de réaction, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la rutine de concentration massique croissante allant de 0.01 à 0.09 mg/ml préparées dans le méthanol à 80 %. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de rutine par gramme de matière sèche (mg ER/g de MS).

I.2.4.6.3. Dosage des tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés (procyanidols totaux) contenus dans les extraits hydroalcooliques ont été estimées par la méthode de dépolymérisation acide en milieu butanolique décrit par Porter *et al.* (1986). Les anthocyanidines formées pendant l'hydrolyse peuvent être déterminées colorimétriquement en utilisant un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 540 nm (Figure 03).

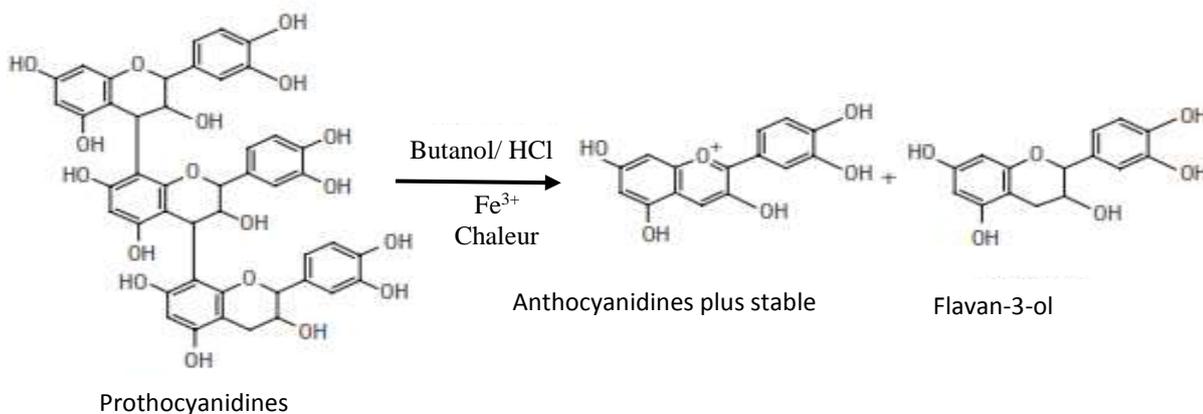


Figure 03. Hydrolyse des prothocyanidines par le reactif butanol-HCl (Amarowicz et Pegg, 2006)

Un volume de 100 µl d'extrait est placé dans un tube à essai, dans lequel sont ajoutés 2.5 ml de butanol-HCl 95/5 (v/v) et 100 µl de réactif ferrique (ammonium fer (III) sulfate dodécahydraté $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) à 2 % dans HCl 2M. Le mélange réactionnel est placé dans un bain-Marie à 95°C pendant 40 min sous agitation intermittente toute les 5 min. Après refroidissement et homogénéisation, l'absorbance à 540 nm de la coloration rouge formée est lue au spectrophotomètre contre le blanc réactif, où on remplacera l'échantillon par le solvant. Les quantifications en milligramme équivalent de polymère d'épicatéchine environ 20 unités DP20 par gramme de matière sèche (mg EPE/g de MS) sont effectuées par rapport aux absorbances obtenues dans l'équation de la gamme d'étalonnage de 0.0125 à 0.4 mg/ml.

I.2.5. Chromatographie HPLC-DAD-ESI-MS/MS pour la caractérisation des polyphénols des extraits hydrométhanoliques

L'analyse qualitative des composés phénoliques des extraits hydrométhanoliques est réalisée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse (MS). Système munie d'un dégazeur de solvant SCM 1000 (ThermoQuest, San Jose, CA, USA), un système d'injection automatique (ThermoFinnigan, San Jose, CA, USA), une pompe binaire de séries 1100 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), un détecteur à barrettes de diodes UV 6000LP (ThermoFinnigan) réglé à la longueur d'onde d'absorption de 280 nm et un spectromètre de masse à trappe d'ions LCQ Deca (ThermoFinnigan) équipé d'une source d'ionisation électrospray (ESI).

Deux microlitres des extraits sont séparés sur une colonne Zorbax Eclipse XDB-C18 (2.1 mm x 150 mm, 3.5 µm, Agilent Technologies) thermostaté à 30 °C. Le système d'éluant est un gradient de solvant aqueux à 0.1% d'acide formique dans l'eau ultra pure v/ v (solvant A) et de l'acétonitrile acidifié par 0.1% d'acide formique v/ v (solvant B). Le gradient suivant est appliqué à un débit de 0.2 ml/ min : 97-91% A, 0-5 min ; 91-84% A, 5-15 min ; 84-50% A, 15-45 min ; 50-10% A, 45-48 min ; 48-51 min isocratique suivi de reconditionnement de la colonne pendant 15 min.

L'analyse par spectrométrie de masse est effectuée en mode d'ionisation négative, dans les conditions suivantes : tension d'ions de spray à 5kV, tension du capillaire à 12 V, sources de gaz fixées à 67 unités arbitraires (gaz de nébulisation) et à 5 unités arbitraires (gaz d'auxiliaire) et température du capillaire (240 °C). Le gaz appliqué en sortie du capillaire pour évaporer la phase mobile est l'azote. Les expériences de MS/ MS sont réalisées avec l'hélium

comme gaz de collision. L'énergie de collision est optimisée entre 25 et 35 % (unités arbitraires) afin d'obtenir ensemble l'ion parent et ses principaux ions fils.

Les données enregistrées d'un rapport masse/ charge (m/z) de 50 à 2000 unités de masse atomique (u) sont traitées à l'aide du logiciel Xcalibur (version 2.1). Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés à des données de la littérature afin d'identifier la nature des métabolites.

I.2.6. Evaluation des activités biologiques

I.2.6.1. Activité antioxydante

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être évaluée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la potentialité antioxydante de l'échantillon à tester (Sánchez-Moreno, 2002). C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de quatre tests chimiques : test de phosphomolybdate (test PPM), le piégeage des différents radicaux, le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (test de DPPH), sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) (test d'ABTS) ainsi que le peroxyde ROO[•] (test d'ORAC) (oxygen radical absorbance capacity).

I.2.6.1.1. Test de phosphomolybdate

Pour dépister l'activité antioxydante totale des extraits bruts des plantes testées, le test de phosphomolybdate est utilisé selon la méthode décrite par Prieto *et al.* (1999). Ce test est basé sur la réduction du molybdène Mo⁶⁺ (VI) en molybdène Mo⁵⁺ (V) par les agents antioxydants et formation d'un complexe vert, phosphate/Mo⁵⁺ (V) à pH acide avec une absorbance maximale à 695 nm.

Un volume de 4 ml de la solution réactive contenant 4 mM de molybdate d'ammonium, 28 mM de phosphate de sodium et 600 mM d'acide sulfurique est mélangé avec 0,4 ml de chaque extrait convenablement dilué dans le méthanol à 80%. Le mélange réactionnel est incubé pendant 60 min dans un bain- Marie à 90 °C.

L'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait. L'absorbance du mélange réactionnel de l'échantillon est comparée à celle d'une gamme étalon d'acide ascorbique aux différentes concentrations (0.04 à 0.32 mg/ml) dans le méthanol à 80%. Les résultats sont exprimés en micromole équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g de MS).

I.2.6.1.2. Test de DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre relativement stable à température ordinaire, de couleur violette et qui présente une bande d'absorption maximale à 515 nm dans le méthanol. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), il est réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPHH) et change de couleur en virant au jaune (Figure 04). La réduction du DPPH[•] est suivie par la mesure de la diminution de son absorbance à 515 nm, selon le protocole décrit par Brand-Williams *et al.* (1995).

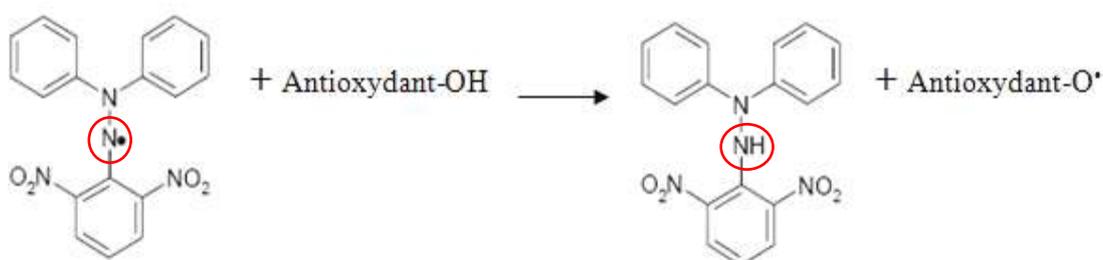


Figure 04. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH[•] (Michel, 2011)

Dans une microplaque à 96 puits, 10 µl d'extrait sont mélangés avec 290 µl d'une solution méthanolique de DPPH[•] fraîchement préparée (60 µM). Après agitation vigoureuse, la diminution de l'absorbance à 515 nm est mesurée (contre le méthanol) toutes les minutes jusqu'à l'obtention du plateau au moyen d'un lecteur de microplaques VERSAmax (durée nécessaire pour le transfert de tous les atomes d'hydrogène labiles).

La cinétique de la réaction est tracée (Figure 05). A partir de cette courbe, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] à l'équilibre (plateau) est calculé en appliquant l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ Inhibition DPPH}^{\bullet} = [(Abs_{\text{Témoin}} - Abs_{\text{Echantillon}}) / Abs_{\text{Témoin}}] \times 100.$$

Abs_{Témoin} désigne l'absorbance du témoin négatif (sans extrait),

Abs_{Echantillon} désigne l'absorbance de la solution d'extrait.

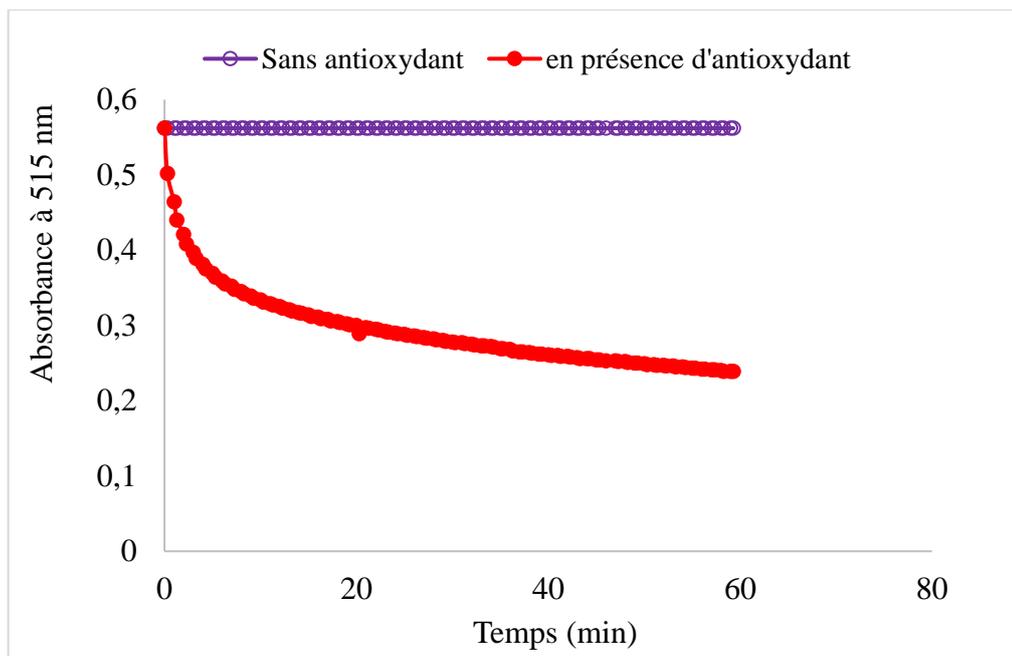


Figure 05. Cinétique de transfert des atomes d'hydrogène d'un antioxydant au DPPH• (60 µM)

L'activité anti radicalaire est exprimée soit en terme de concentration effective à 50% (EC₅₀) concernant les extraits bruts, soit en terme de capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC) pour les fractions.

La valeur d'EC₅₀ est déterminée graphiquement par la régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés. EC₅₀ exprime la concentration de l'extrait testé requise pour le piégeage de 50% des moles de la solution radicale de DPPH•. Plus la valeur d'EC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny *et al.*, 2001).

La TEAC est calculée en se référant à une gamme étalon de concentrations connues en Trolox (4 à 32 mM) grâce à la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition DPPH}^{\bullet} = f([\text{Trolox}] \mu\text{mol/l}).$$

Les résultats sont rapportés en microgramme par millilitre (µg/ml) et en micromole équivalent de Trolox par gramme de matière sèche (µmol ET/g MS), respectivement pour EC₅₀ et TEAC.

I.2.6.1.3. Test d'ABTS

Le radical cation (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique) (ABTS^{•+}), de couleur bleu vert (absorbant à 734 nm), est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS en présence de persulfate de potassium (Re, 1999). L'addition d'un antioxydant (donneur de H[•]) à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction, l'atome d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTS⁺, ce qui provoque la décoloration du mélange et une diminution de l'absorbance (Figure 06) (Lien *et al.*, 1999).

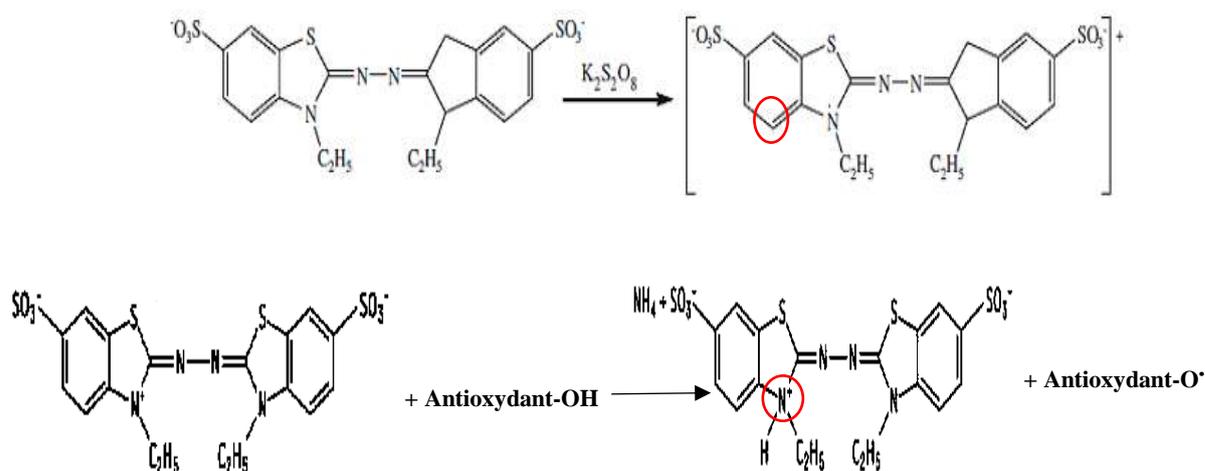


Figure 06. Génération et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (De Oliveira *et al.*, 2014)

L'estimation de cette activité anti-radicalaire est mesurée moyennant la méthode de Re *et al.* (1999). Le radical cation ABTS^{•+} est généré en mélangeant 5 ml d'une solution aqueuse d'ABTS 7 mM et 88 µl de persulfate de potassium 140 mM (2.45 mM final de K₂S₂O₈) suivi d'une incubation à l'obscurité et à la température ambiante pendant 12 à 16 h avant utilisation. La solution radicalaire ABTS^{•+} est diluée au 1/50 pour obtenir une absorbance de 0.7 ± 0.02 à 734 nm.

Dans une microplaque de 96 puits, 10 µl d'extrait sont combinés avec 290 µl d'une solution ABTS^{•+} diluée et incubée à l'abri de la lumière pendant 5 min. L'absorbance est mesurée à 734 nm en utilisant un lecteur de microplaques VERSAMAX avec le logiciel SoftMax Pro.

De la même manière que le test précédent, l'activité anti-radicalaire est exprimée soit en terme de concentration efficace (EC₅₀) concernant les extraits bruts, soit en terme de capacité antioxydante équivalente de Trolox (TEAC) pour les fractions.

I.2.6.1.4. Test ORAC

La méthode ORAC mesure la perte de fluorescence du sel disodique de fluorescéine. Cette sonde fluorescente émet vers 528 nm suite à une excitation vers 485 nm, mais perd ses propriétés spectrales une fois oxydée par des radicaux peroxydes ROO[•] générés par l'AAPH (2,2'-azobis [2-amidinopropane] dihydrochloride) en milieu tampon (pH 7.4). La présence d'un antioxydant ralentit la décomposition de la fluorescéine et ce déclin de l'intensité de la fluorescence est quantifié à l'aide d'un spectrofluorimètre (Cao, 1993 ; Prior *et al.*, 2005). L'antioxydant est évalué pour sa capacité à empêcher l'oxydation de la fluorescéine par les radicaux peroxydes en suivant la cinétique de leur dégradation sous la méthode adaptée par Ou *et al.* (2001).

Le test ORAC est effectué dans une microplaque noire opaque de 96 puits, à 37 °C et à pH 7.4. En bref, 20 µl d'une solution antioxydante ont été mélangés avec 180 µl de fluorescéine 120 nM et incubées pendant 15 min à 37°C. La fluorescence a été contrôlée toutes les minutes pendant 2 h à l'aide d'un spectrofluorimètre SAFAS FLX-Xenius après l'addition de 100 µl d'une solution d'AAPH 12 mM. Des courbes de décroissance sont tracées (Figure 07), l'intensité de fluorescence en fonction du temps (pour chaque antioxydant) et l'aire sous la courbe (AUC nette) est calculée en soustrayant l'AUC obtenue en présence d'un antioxydant à l'AUC du blanc préparé en remplaçant les 20 µl d'extraits par une solution tampon phosphate de potassium 75 mM (pH 7.4) (AUC extraits - AUC blanc).

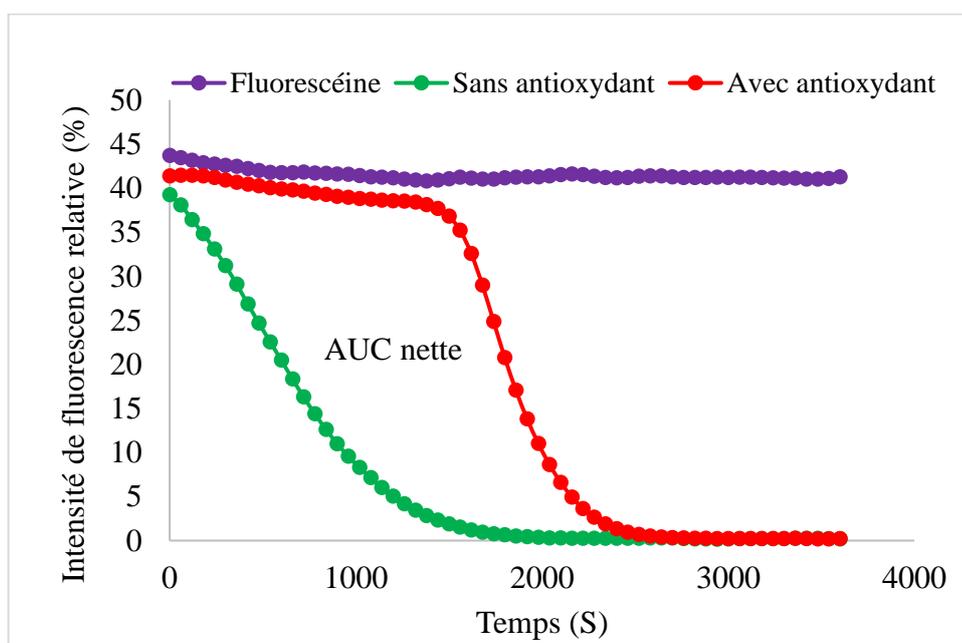


Figure 07. Courbes de déclin de fluorescence dans le test ORAC

La quantification du pouvoir antioxydant est effectuée par report aux AUC dans l'équation de la gamme d'étalonnage de Trolox pour des concentrations comprises entre 01 et 07 μ M). Les valeurs ORAC sont exprimées en micromole équivalent de Trolox par gramme de matière sèche (μ mol ET/g de MS).

Le calcul des aires sous la courbe est la seule méthode qui combine à la fois le pourcentage d'inhibition de la réaction d'oxydation et sa variation dans le temps en une seule mesure. Elle donne une mesure globale de la capacité antioxydante. L'avantage majeur du test ORAC est de proposer une mesure standardisée et adaptée aux matrices hydrophiles et lipophiles.

I.2.6.2. Activité antibactérienne

La méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton (antibiogramme) cité par Rahal (2005), est utilisée pour rechercher l'activité antibactérienne des extraits de plantes étudiées au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Slimane Aamirat à Touggourt.

I.2.6.2.1. Préparation des inoculums

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 h afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées qui ont servi par la suite à préparer les inoculums en les plaçant dans des tubes contenant 10 ml d'eau physiologique stérile pour chaque souche. La densité optique des suspensions a été ajustée de 0.08 à 0.1, lue à 625 nm, ce qui correspond à une densité cellulaire voisine à celle de 0,5 McFarland. On obtient alors des inoculums estimés à 10⁶ à 10⁸ unités formant colonies par millilitre (UFC/ ml).

I.2.6.2.2. Méthode d'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits

Après l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, un écouvillon est trempé dans la suspension et son contenu est étalé à la surface entière de la gélose Mueller-Hinton à trois reprises. Après chaque application, on a tourné la boîte de 60° environ en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum.

Des disques de papier Wattman N°3 stériles de 5 mm de diamètre, imprégnés chacun de 10 μ l d'extrait ou de fraction dissoute dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO), ou de solution mère (100 mg/ml) ou de solution fille (gamme de concentration de 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16), correspondant respectivement à 1000, 500, 250, 125 et 62.5 μ g d'extraits par disque, sont déposés à l'aide d'une pince à la surface du milieu gélosé. Ils doivent être parfaitement

appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement au-dessus de la surface des disques. Les boîtes de Pétri sont d'abord laissées pendant 30 min à la température ambiante pour une prédiffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h.

Des témoins négatifs (disques imprégnés par le DMSO) et positifs (antibiotiques) ont été testés. Tous les essais sont répétés trois fois.

L'Ofloxocine (OFX 5) et Gentamicine (GEN 10) sont les antibiotiques choisis en raison de leur spectre d'action assez large et de leur utilisation fréquente en milieu hospitalier pour le traitement des infections causées par la plupart des germes de notre étude.

I.2.6.2.3. Expressions des résultats

A la sortie de l'étuve, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour du disque d'un halo translucide correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et *al.*, 2006). La lecture s'effectue par la mesure du diamètre d'inhibition observé et les résultats sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues \pm l'écart type. L'action d'un antibiotique ou d'un extrait sur une souche bactérienne aboutit à deux états possibles : l'arrêt de l'augmentation de la population c'est l'effet bactériostatique, ou la destruction des bactéries (il persiste moins de 0.01% de survivants) après 18 à 24 heures d'incubation c'est l'effet bactéricide (Boulahbal, 1993). Cette méthode permet donc d'évaluer qualitativement et surtout quantitativement l'activité d'un extrait.

I.2.7. Analyse statistique

Toutes les analyses sont effectuées en triple exemplaire et les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm d'écart type des trois mesures parallèles. L'analyse statistique est exécutée à l'aide du logiciel statistique XLSTAT 2009 en utilisant l'analyse de la variance à un seul critère (ANOVA), suivie du test de Tukey. L'analyse de corrélation entre les activités antioxydantes et les composés phénoliques est effectuée suivant le test de Bravais-Pearson. Les valeurs de probabilité $p \leq 0,001$ donnent un effet très hautement significatif, $p \leq 0,01$ un effet hautement significatif, $p \leq 0,05$ un effet significatif et pour une $p > 0,05$, on considère que l'effet n'est pas significatif.

Chapitre II

Résultats et discussions

II.1. Résultats de l'étude ethnobotanique

Les études ethnobotanique et ethnomédicinale sont aujourd'hui reconnues comme des méthodes de choix pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations (Farnsworth, 1986 ; Adjanahoun *et al.*, 1991). Ces études sont indispensables dans la mesure où elles nous permettent de nous orienter afin de sélectionner les plantes à étudier et de cibler certains tests biologiques (Jones *et al.*, 2000).

II.1.1. Degré d'accord des répondants

La présente étude ethnobotanique a enrôlé 200 personnes dont 45% de femmes et 55% d'hommes. L'âge des personnes questionnées varie entre 20 et 80 ans et la classe modale est de 41 à 60 ans dont 43.41% affirment utiliser les plantes médicinales.

Les plantes investiguées sont utilisées dans le traitement d'une gamme de symptômes très variés regroupés en 15 catégories d'affections, ce qui traduit l'importance thérapeutique de ces plantes pour les personnes enquêtées, auxquelles elles avaient recours pour résoudre les problèmes de santé primaire et répondre aux besoins de la médecine domestique.

D'après le tableau IV, le niveau de similitude entre les répondants pour les thérapies rapportées est élevé. Il présente une valeur F_{IC} moyenne de 0.93.

Un indice de consensus maximum ($F_{IC}= 1,00$) a été enregistré pour les maladies cancéreuses et parasitaires, suivies des pathologies digestives ($F_{IC}= 0.99$), des troubles dermatologiques et nerveux ($F_{IC}= 0.97$) et des maladies métaboliques et génitales ($F_{IC} = 0.96$). Les troubles endocrinologiques ($F_{IC}= 0.85$) et musculo-squelettiques ($F_{IC}= 0.84$) présentent les degrés de consensus les plus faibles (Tableau IV).

La convergence d'information concernant l'usage thérapeutique des plantes investiguées traduit la conscience des populations sur l'importance à donner aux informations crédibles en vue de la conservation de leurs savoirs ancestraux. Les connaissances phytothérapeutiques sont des traditions laissées par des personnes d'âge mûr et qui se perpétuent de génération en génération par le biais des coutumes et de la tradition orale (Ndjouondo *et al.*, 2015). Anyinam (1995) et Bakiri *et al.* (2016) vont dans le même sens en montrant que la connaissance des propriétés et d'usages des plantes médicinales est acquise suite à une longue expérience accumulée et transmise d'une génération à l'autre.

Tableau IV. Facteur de consensus informateur (F_{IC}) des différentes catégories de maladies

Catégories de maladies	DER	AUD	RES	NEU	GEN	MET	CAV	DIG	GOU	MUS	OPH	END	POI	CAN	PAR
Nombre des espèces utilisées (Nt)	6	4	6	6	4	6	6	6	6	6	3	4	4	1	1
Nombre de citations rapportées (Nur)	154	35	48	144	83	129	79	449	42	33	17	21	30	10	23
F _{IC}	0.97	0.91	0.89	0.97	0.96	0.96	0.94	0.99	0.88	0.84	0.88	0.85	0.90	1.00	1.00

Tableau V. Fréquence de citation (F_C %) des plantes étudiées selon les maladies traitées

Espèces	DER	AUD	RES	NEU	GEN	MET	CAV	DIG	GOU	MUS	OPH	END	POI	CAN	PAR
<i>A. halimus</i>	2.78	0.35	2.43	1.04	15.97	7.99	3.13	38.54	7.29	2.43	1.04	5.56		3.47	7.99
<i>S. tripartita</i>	11.27	1.41	2.11	1.41	0.70	2.11	10.56	66.90	0.70	0.70	0.70	1.41	/	/	/
<i>L. guyonianum</i>	36.91	4.03	18.12	4.70	0.67	20.81	2.68	6.04	0.67	1.34	/	/	4.03	/	/
<i>H. tuberculatum</i>	2.69	7.76	1.49	38.81	10.45	1.79	5.07	26.27	1.49	2.99	/	/	1.19	/	/
<i>T. gallica</i>	5.04	/	1.26	0.42	/	23.95	10.50	47.48	3.78	1.26	/	0.84	5.46	/	/
<i>N. retusa</i>	37.24	/	2.07	0.69	/	6.21	6.21	22.76	3.45	6.90	8.97	0.69	4.83	/	/

DER : dermatologiques, AUD : auditives, RES : respiratoires, NEU : neurologiques, GEN : génitales, MET : métaboliques, CAV : cardiovasculaires, DIG : digestives, GOU : urologiques, MUS : musculo-squelettiques, OPH : ophtalmologiques, END : endocrinologiques, POI : poisons, CAN : cancéreuses, PAR : parasitaires.

II.1.2. Maladies traitées par les plantes investiguées

L'estimation des fréquences d'utilisation des plantes étudiées pour les différentes catégories de maladies fait ressortir une indication massive de ces espèces pour le traitement des pathologies digestives (449), suivies des problèmes dermatologiques (154) et nerveux (144) (Tableau IV).

Parmi les espèces utilisées dans le traitement des maladies suscitées, *A. halimus* (38.54), *T. gallica* (Fc= 47.48%) et *S. tripartita* (Fc= 66.9%) sont très appréciées pour combattre les maladies du tube digestif, alors que *L. guyonianum* (Fc= 36.91%) et *N. retusa* (Fc= 37.24%) sont les mieux employées pour soigner les pathologies dermiques. *H. tuberculatum* s'avère l'espèce médicinale la plus utilisée dans les soins du système nerveux, avec un fréquence de citation Fc de 38.81% (Tableau V).

L'utilisation des plantes investiguées par les populations de la région de Ouargla, essentiellement dans le traitement des affections digestives et dermiques pourrait être en relation avec la prédominance de ces pathologies dans la région. La forte incidence de ces maladies pourrait être favorisée par des facteurs tels que les polluants, l'exposition prolongée au soleil ou à d'autres radiations, la mauvaise qualité des eaux consommées et les habitudes alimentaires des autochtones, qui ont l'habitude de consommer des aliments riches en graisses.

Ces résultats s'accordent avec ceux de Ould El Hadj *et al.* (2003), dans leurs travaux menés dans la région de Ouargla, démontrant une prédominance des troubles digestifs (26.38%), des algies diverses (15.27%) et des dermatoses (13.88 %). Récemment, Sarri *et al.* (2015) rapportent dans leur étude menée dans la région Sud-est de M'sila, que les maladies les plus largement traités sont les maladies digestives (32%), les maladies rhumatismales (15%) et les affections de la peau (12%).

La vertu thérapeutique de Rue pour le traitement du système nerveux a été soulignée par certains chercheurs. Par exemple, les feuilles de cette plante en infusion dans le vinaigre ont été données aux nourrissons pour lutter contre la convulsion et d'autres troubles nerveux (Perry, 1980). Selon Al-Said *et al.* (1990), l'extrait éthanolique des parties aériennes de *Ruta chalepensis* L. sert à inhiber la dépression du système nerveux central chez les rats albinos. Au Maroc, les feuilles de *Ruta montana* sont employées en fumigation ou en inhalation dans certains cas de maladies affectant le système nerveux (El Alami *et al.*, 2016).

Tableau VI. Utilisations des espèces étudiées en médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Algérie)

Famille	Nom scientifique	Nom vernaculaire	Additives	Indications traditionnelles
Amarantacées	<i>Atriplex halimus</i> L.	G'ttaf القطف	Miel, sel gemme avec miel, huile, lait, beurre locale (Dhan) et <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck (laymoune).	Catarrhe stomacal, constipation, diarrhée, gaz, ballonnement, kyste hydatique, fibrome, hypertension. Antiseptique, brûlures, diabète, fièvre, jaunasse, anémie, maladie cardiaque, otites, rhumatisme, toux, obésité, tumeur, fatigue, diurétique, vermifuge, urine involontaire, vomissement, blessures et ulcères, angines et goîtres, maladie des vésicules biliaires, calmant, fortifier la gencive, stérilité, prostate, chute du placenta, lithiase rénale, hypercholestérolémie.
Anacardiées	<i>Searsia tripartita</i> (Ucria) Moffett	Djedari الجداري	Miel, huile, lait et <i>Origanum vulgare</i> L. (Zaatar).	Diabète, ballonnement, fièvre, maladies du rein, lésions cutanées, migraines, diarrhée, anémie, douleurs des règles, maladies cardiaques, otites, inflammation de la bouche, jaunasse, gaz, lèpre, catarrhe stomacal, céphalée, hypertension, manque d'appétit, grippe, prostate, hémorroïdes, rhumatisme, faiblesse de vision.
Plumbaginacées	<i>Limoniastrum guyonianum</i> Durieu ex Boiss.	Zeta الزيتة	<i>Punica granatum</i> L. (reman)	Antiseptique, brûlure, lèpres, blessures et ulcères, fortifiant, diabète, ictère, anémie, toux, constipation, gaz, maladie de rein, maux de la tête, hypertension, obésité, pique des scorpions, angines et grippe, fortifier la gencive, maladie du foie.
Rutacées	<i>Haplophyllum tuberculatum</i> Juss.	Fidjel الفيجل	Sel gemme avec miel, huile, beurre locale, <i>Punica granatum</i> L. (reman), <i>Artemisia campestris</i> L. (dgouft), <i>Allium cepa</i> L. (el-besla) et <i>Carum carvi</i> L. (karwya).	Antiseptique, blessures et ulcères, Calmant, hypnotique neurologique, stérilité, diabète, ballonnement, fièvre, maladies du foie, otites, rhumatisme, vermifuge, obésité, constipation, colon, diarrhée, gaz, hypertenseur, douleur du règle, maladie cardiaque, piques des scorpions, grippe, vomissement, inflammation de la gorge, stérilité. Sueur, angines, toux, manque d'appétit.
Tamaricacées	<i>Tamarix gallica</i> L.	Tarfa الطرفة	Sel gemme avec miel et vinaigre.	Antiseptique, brûlure, lèpres, blessures et ulcères, piques des scorpions et des insectes, maladies du rein, diarrhée, anémie, jaunasse, inflammation la gencive et de la bouche, ulcère gastrique, céphalée, hypertension, diabète, maladie des articulations, hémorragie, diurétique, inflammation du pancréas.
Zygophyllacées	<i>Nitraria retusa</i> (Forssk.) Asch.	Ghardaq الغردق	Miel, blanc d'œuf, huile, lait, <i>Lawsonia inermis</i> L. (el-hana) et <i>Allium cepa</i> L. (el-besla).	Antiseptique, lésions cutanées, brûlure, diabète, fièvre, constipation, laxatif, diarrhée, maladie cardiaque, pique des scorpions, toux, ulcère gastrique, céphalée, hypertension, manque d'appétit, colon, prostate, douleurs articulaires, conjonctivite, affections des yeux et des paupières, faiblesse de vision, fortifier la gencive.

II.1.3. Caractéristiques des remèdes préparés à base des plantes investiguées

Dans les recettes recensées, les plantes sont préparées seules mais souvent combinées avec d'autres ingrédients. A cet effet, *H. tuberculatum* est mélangée avec 07 suppléments, *A. halimus* et *N. retusa* avec 06, *S. tripartita* avec 04, *T. gallica* avec 02 et *L. guyanianum* avec 01. Les recettes combinées peuvent renfermer des suppléments de nature végétale (huile, vinaigre et plante), animale (beurre local, lait, miel, viande et blanc d'œuf) ou même minérale (sel gemme). Le supplément qui occupe le premier rang est l'huile, mélangée avec 04 espèces suivi du miel, du sel gemme avec miel et du lait, additionnés qu'à 03 espèces, la viande de Mouton et le beurre local (Dhan) en troisième position, sont mélangées avec 02 espèces et en dernier rang (le vinaigre, le blanc d'œuf et autres plantes) ne sont mélangés qu'avec une seule espèce (Tableau VI).

Les conseils d'association sont dictés dans un souci de diminuer le caractère irritant ou annuler l'effet toxique d'un composant ou au contraire renforcer son activité ou soit encore de créer une dynamisation des effets curatifs des divers constituants afin d'aboutir à une synergie thérapeutique (Bigendako-Polygenis et Lejoly, 1990). Cette synergie qui existe à l'intérieur d'une même plante peut encore être améliorée et renforcée par l'action concertée de plusieurs substances naturelles. En outre, les additifs tels que l'huile, le miel, le sel gemme avec miel, le lait, le beurre local (Dhan), le vinaigre et le blanc d'œuf sont communément admis pour servir de véhicule de remèdes. Ces résultats sont conformes à ceux d'El Rhaffari et Zaid (2002), signalant qu'en pharmacopée traditionnelle des Oasis du Sud-est du Maroc, les recettes phytothérapeutiques sont préparées seules dans 85.3 % des cas ou mélangées avec d'autres ingrédients (14.7 % des cas).

II.1.4. Parties floristiques utilisées dans la préparation des recettes recensées

Différentes parties de la plante sont utilisées pour la préparation des différentes recettes thérapeutiques (feuilles, tiges, écorces, fruits, graines, racines, fleurs,...etc.) (Figure 08).

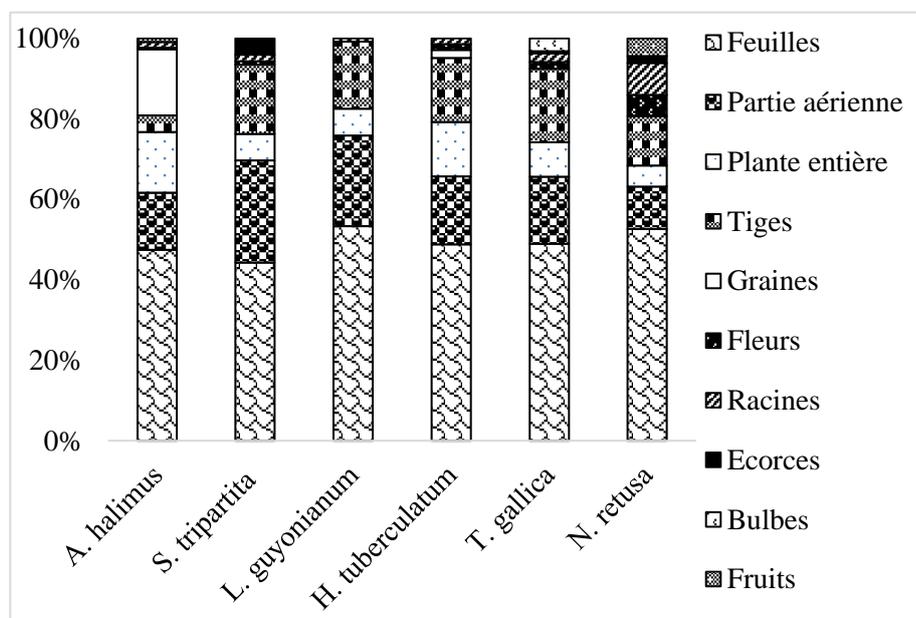


Figure 08. Fréquence d'utilisation des plantes selon la partie floristique utilisée

Il ressort de la figure 08 que les feuilles sont les parties majoritairement utilisées de toutes les espèces, allant de 44.26% pour *S. tripartita* à 53.33% pour *L. guyonianum*. Les parties aériennes viennent en second lieu, avec un minimum de 10.53% enregistré pour *N. retusa* et un maximum de 25.41% pour *S. tripartita*. Les autres parties sont utilisées avec des fréquences inférieures à 20%.

La prédominance d'utilisation d'un organe par rapport à un autre dans le domaine de la phytothérapie émane de la variation dans la concentration en principes actifs dans cet organe. Les feuilles sont les plus utilisées car connues comme le siège des réactions photochimiques qui favorisent la biosynthèse et parfois le stockage des métabolites secondaires et donc, la concentration en principes actifs dans cet organe (Bahassan *et al.*, 2014). Mais aussi et surtout, par le fait que le prélèvement de 50% des feuilles d'un arbre n'affecte pas de façon significative sa survie (N'Guessan *et al.*, 2009). En revanche, le prélèvement des parties souterraines et des écorces tue l'arbre (Jansen *et al.*, 2005) et peut mettre en péril sa conservation (Olivier et Sanou,

2001). Ces résultats sont comparables à ceux signalés par Ould El Hadj *et al.* (2003) et Jdaïdi et Hasnaoui (2016), qui indiquent que les feuilles sont les plus utilisées dans 37% et 35% des cas, respectivement.

II.1.5. Modes de préparation des recettes recensées

Afin de faciliter l'administration du principe actif, plusieurs modes de préparations sont employés, à savoir les extraits aqueux (décoction, infusion, macération,...), les extraits dans d'autres solvants (huile, vinaigre,...), la poudre et la torréfaction. Les utilisateurs cherchent toujours la méthode la plus simple pour préparer les phyto-médicaments. La décoction constitue le mode de préparation le plus courant pour toutes les espèces étudiées (plus de 40% des recettes sont enregistrées chez *L. guyonianum* et *N. retusa* pour s'élever à plus de 50% sans dépasser 82% pour les autres taxons), suivi de la poudre pour les espèces *T. gallica*, *S. tripartita*, *N. retusa* et *L. guyonianum* et l'infusion pour *H. tuberculatum* et *A. halimus* (Figure 09).

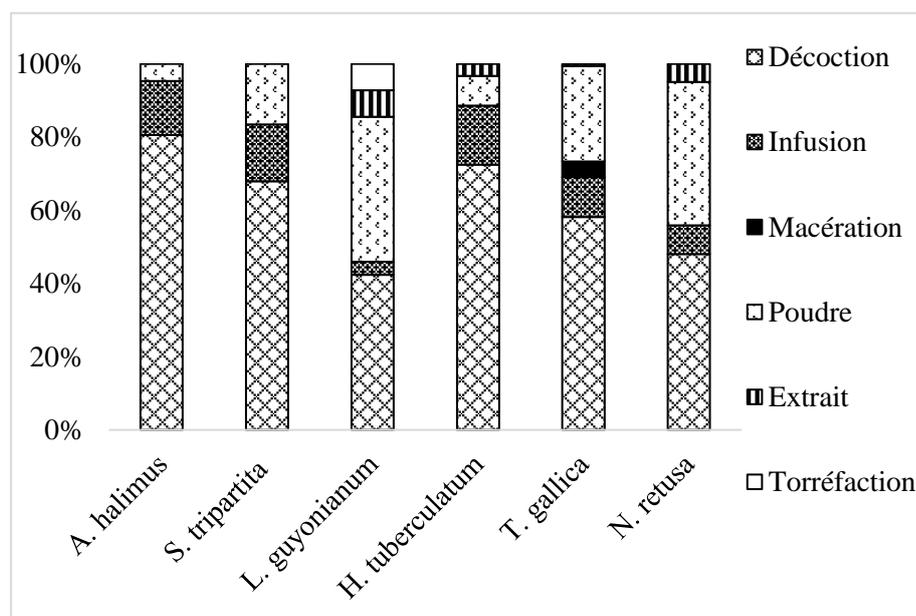


Figure 09. Fréquence d'utilisation des plantes selon les modes de préparation

L'intérêt de l'infusion dans la préparation des remèdes à base de plantes a aussi été signalé par Ajibesin *et al.* (2008), Nadembega *et al.* (2011) et Jdaïdi et Hasnaoui (2016), ayant souligné que ce mode appliqué aux organes délicats de la plante (feuilles, sommités fleuries et fleurs) préserve mieux les principes actifs.

Pour Lori et Devan (2005), l'infusion est probablement la meilleure façon de préparer un produit puissant lorsqu'on recherche un effet léger, alors que pour les organes durs et compacts (écorces, tiges, rameaux et racines) qui ne délivrent leurs principes actifs que sous l'action prolongée de la chaleur, la décoction est le mode de préparation bénéfique permettant d'extraire une quantité maximale de principes actifs et d'atténuer ou annuler l'effet toxique de certaines recettes.

II.1.6. Modes d'administration des recettes recensées

Pour le traitement des différentes maladies précitées, divers modes d'administration des remèdes à base des plantes investiguées sont signalés (Figure 10). La boisson est le mode le plus pratiqué, avec une moyenne allant de 44% pour *L. guyonianum* et *N. retusa* à 76% pour les autres taxons, suivi de l'instillation auditive pour *H. tuberculatum* (11%), de l'ingestion concernant *A. halimus* (14%), de l'application locale (cataplasme et pansement) pour *S. tripartita* (14%), *N. retusa* (32%) et *L. guyonianum* (42%) et de ces deux derniers modes pour *T. gallica* avec des taux similaires (13 et 12 % respectivement).

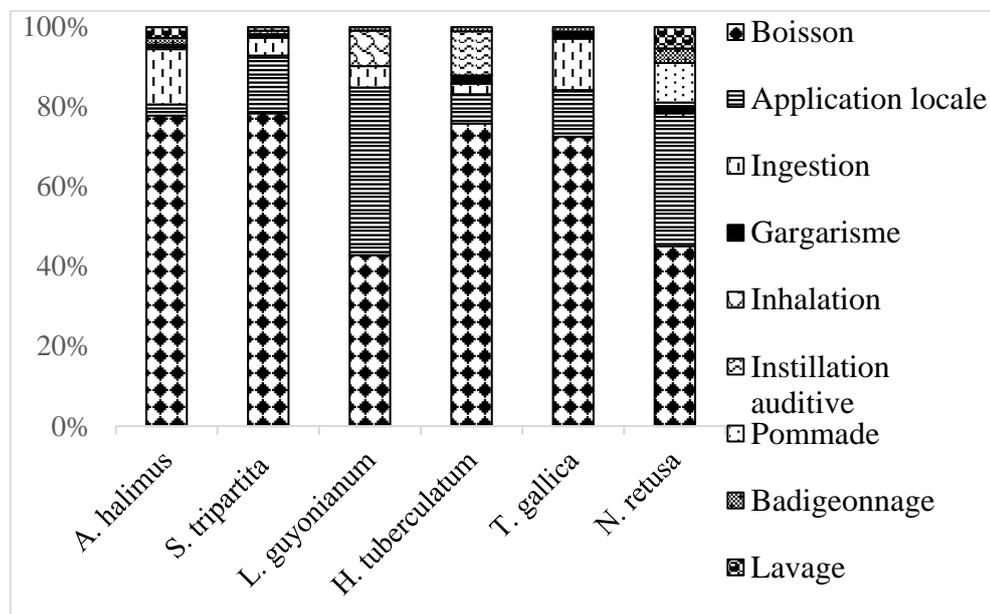


Figure 10. Fréquence d'utilisation des plantes selon les formes d'administration

La variation des modes d'utilisation est directement liée aux proportions de maladies recensées. La prédominance des altérations de l'appareil digestif explique la fréquence élevée de l'administration orale, qui regroupe la majorité des formes de préparation (décoction,

infusion, macération...), les extraits dans d'autres solvants (huile, vinaigre,...) et la poudre. Aussi, l'importante d'usage de cataplasme et de pansement est en accord avec l'importance d'utilisations populaires des plantes pour soigner les affections de la peau. Ceci confirme les observations faites par El Rhaffari et Zaid (2002) et Ould El Hadj *et al.* (2003).

II.2. Criblage phytochimique

Les résultats des tests de détection de quelques groupes chimiques responsables des effets thérapeutiques, effectués sur les poudres issues des espèces testées sont regroupés dans le tableau VII.

Il ressort des analyses effectuées la présence de polyphénols et des saponosides et l'absence des alcaloïdes, des anthocyanes et des dérivés anthracéniques libres et O combinés dans tous les échantillons (Tableau VII).

Les tests de caractérisation des flavonoïdes, des stérols et des polyterpènes se sont révélés positifs dans tous les extraits des plantes testées, à l'exception de ceux d'*A. halimus*. Nous enregistrons aussi l'abondance des tanins catéchiques dans tous les extraits testés, excepté ceux de *H. tuberculatum*. En revanche, les tanins galliques ne sont présents que dans les extraits de *T. gallica*. Les autres métabolites secondaires (leucoanthocyanes, catéchols et dérivés anthracéniques C et G combinés), varient d'une plante à une autre. En effet, les leucoanthocyanes sont détectés chez *T. gallica*, *S. tripartita* et *N. retusa*, mais pas chez les autres espèces. Les catéchols n'ont été révélés que chez *L. guyonianum*, alors que les dérivés C et G ont été mis en évidence chez trois des plantes testées, soient *T. gallica*, *S. tripartita* et *L. guyonianum* (Tableau VII).

Les principes actifs mis en évidence par le criblage phytochimique dans les extraits des plantes analysées expliqueraient en partie les indications thérapeutiques des préparations traditionnelles à base de ces plantes. De nombreux exemples issus des travaux scientifiques tirés de la bibliographie étayent notre hypothèse (N'Guessan *et al.*, 2009 ; Yinyang *et al.*, 2014 ; Ngene *et al.*, 2015).

Les polyphénols possèdent un effet de rétention du potassium, ils présentent donc une activité diurétique (Lazurevskii *et al.*, 1966). Les flavonoïdes sont des antioxydants réputés par excellence (Torel *et al.*, 1986; D'abrosca *et al.*, 2007). Outre leur pouvoir antioxydant, ils sont des antiulcéreux, antitumoraux, antispasmodiques, antisécréteurs et antidiarrhéiques (Di Carlo, 1999), anti-allergiques, anti-inflammatoires, hypotenseurs et protègent du cancer et de la cataracte (Bruneton *et al.*, 2007). Ils sont également doués de vertus aphrodisiaques (Boua *et*

Tableau VII. Résultats d'analyse tri-phytochimique des plantes étudiées

Groupes chimiques			<i>L. guyonianum</i>	<i>H. tuberculatum</i>	<i>T. gallica</i>	<i>S. tripartita</i>	<i>A. halimus</i>	<i>N. retusa</i>
Composés phénoliques	Polyphenols		+++	++	+++	+++	+	++
	Tanins	Catéchiques	+++	-	+++	+++	++	+++
		Galliques	-	-	+++	-	-	-
	Flavonoïdes	Flavonoïdes libres	++	++	+++	++	-	+
		Leucoanthocyanes	-	-	+++	+++	-	++
		Catéchols	++	-	-	-	-	-
	Anthocyanes		-	-	-	-	-	-
	Dérivés anthracéniques	Libres		-	-	-	-	-
		Combinés	O	-	-	-	-	-
C			+++	-	+++	+	-	-
G	++		-	++	++	-	-	
Composés Azotés	Alcaloïdes		-	-	-	-	-	
Sterols et polyterpènes	Sterols		+++	++	++	++	-	+++
	Polyterpènes		+++	++	++	++	-	+++
	Saponosides (indice)		111.11	250	166.66	500	142.85	500

Précipité ou coloration : (très abondant : +++++ ; abondant : +++ ; moyen : ++, louche : +).

al., 2008). Selon Ybert *et al.* (2000), les tanins permettent de lutter contre les infections et pour drainer les sécrétions excessives comme la diarrhée, ainsi leurs effets antiseptiques et leurs propriétés de renouvellement des tissus pourraient expliquer l'emploi de la plante contre les plaies. Les tanins manifestent les propriétés de la vitamine P, ils renforcent les vaisseaux sanguins et contribuent à l'accumulation de la vitamine C dans l'organisme (Lazurevskii *et al.*, 1966). Leurs propriétés vasoconstrictrices sur les petits vaisseaux approuve la recommandation de ces espèces pour le traitement de l'anémie et des hémorroïdes par les thérapeutes (Bruneton, 1993 ; Sereme *et al.*, 2008).

Les saponosides ont un effet cicatrisant et les stérols et les polyterpènes ont des propriétés bactéricides (Lazurevskii *et al.*, 1966).

Selon Bruneton (1999), les composés anthracéniques sont doués de propriétés laxative et purgative. Ainsi, la présence des dérivés anthracéniques C et G combinés chez *T. gallica*, *L. guyonianum* et *S. tripartita* ferait de ces espèces un moyen de soulagement contre la constipation et les affections gastro-intestinales (Hernández *et al.*, 2003).

L'étude ethnobotanique a permis de mettre en évidence une richesse socioculturelle et une diversité des pratiques phytothérapeutiques de la région de Ouargla. En effet, les espèces investiguées sont toutes utilisées essentiellement dans le traitement des pathologies digestives, dermiques et même nerveuses. La partie feuillée est la plus utilisée pour la préparation des remèdes phytothérapeutiques. Elles sont administrées sous forme d'extraits aqueux (décoction, infusion, macération...) et plus rarement sous forme de poudre. Ces taxons peuvent être utilisés seuls ou associés à des ingrédients ou à d'autres plantes.

La diversité du contenu aérien de nos plantes en métabolites secondaires justifie leur utilisation en pharmacopée traditionnelle, un savoir populaire, considéré comme un héritage inestimable, qui pourra constituer une base de données pour les recherches ultérieures dans le domaine de la phytochimie dans le but d'identifier de nouveaux principes actifs naturels utilisables en phytopharmacologie.

Parmi les espèces investiguées, *S. tripartita* et *L. guyonianum* ont attiré notre attention pour l'étude phytochimique et biologique, compte tenu de leur fréquence d'emploi, sachant que *S. tripartita* est bien réputée par son action efficace dans la thérapie de l'appareil digestif (ballonnement, diarrhée, inflammation de la bouche, gaz, catarrhe stomacal et manque d'appétit) et *L. guyonianum* est principalement destinée au traitement des troubles dermiques (antiseptique, brulure, lèpres, blessures et ulcères).

II.3. Composition phytochimique

II.3.1. Composition des plantes étudiées en éléments minéraux

Le Sahara algérien est un endroit où les conditions climatiques atteignent leur plus grande âpreté. Dans cet écosystème caractérisé par des pluies rares et irrégulières et par des températures souvent élevées, une grande partie des ressources végétales est exposée aux différents stress environnementaux (température extrême, salinité, sécheresse, irradiation UV, ... etc.) qui induisent un stress oxydatif. Ces espèces de plantes ont développé de multiples mécanismes adaptatifs pour faire face à ces conditions extrêmes, comprenant essentiellement la biosynthèse des osmolytes et des antioxydants.

Dans ce travail, les marqueurs physiologique et biochimique du stress ont été analysés dans les extraits des parties aériennes de *S. tripartita* et *L. guyonianum*, échantillonnées à partir d'un écosystème aride, le Sahara septentrional Est Algérien.

Les résultats d'analyse des solutés inorganiques sont consignés dans le tableau VIII. Les espèces étudiées sont caractérisées par du statut ionique comparable évalué à $4214.37 \mu\text{mol/g}$ de MS pour *S. tripartita* et $4234.57 \mu\text{mol/g}$ de MS pour *L. guyonianum*. Caractérisé par les fortes teneurs en sodium et en chlorure et les faibles teneurs en calcium, dont les teneurs sont estimées à $(1717.41 \pm 401.48$ et $1854.45 \pm 763.94 \mu\text{mol/g}$ de MS), $(1694.58 \pm 42.29$ et $1643.28 \pm 509.16 \mu\text{mol/g}$ de MS) et $(86.07 \pm 8.69$ et $100.81 \pm 6.09 \mu\text{mol/g}$ de MS) respectivement.

Les sulfates sont également présents en quantité comparable de $432.54 \pm 158.27 \mu\text{mol/g}$ de MS pour *S. tripartita* et $429.71 \pm 213.86 \mu\text{mol/g}$ de MS pour *L. guyonianum*. La teneur en potassium est légèrement plus élevée dans les extraits de *S. tripartita* ($283.77 \pm 20.73 \mu\text{mol/g}$ de MS) comparativement à ceux de *L. guyonianum* ($206.32 \pm 12.81 \mu\text{mol/g}$ de MS).

L'aptitude de nos plantes à accumuler de grandes quantités de Na^+ et Cl^- au niveau de leurs parties aériennes est une stratégie spécifique d'ordre adaptatif aux conditions contraignantes des écosystèmes arides. Ceci implique nécessairement l'intervention d'un mécanisme de compétition ionique et de compartimentation vacuolaire. De ce fait, l'ajustement osmotique apparaît comme un des facteurs décisifs pour le maintien des plantes en vie dans des conditions de déficit hydrique (Rathinasabapathi, 2000).

Les ions minéraux prennent de l'ampleur dans les relations hydriques des plantes adaptées à la sécheresse, où ils sont requis pour abaisser le potentiel hydrique. Ces ions comptent pour 60 à 70% environ de l'osmolarité, ce qui en fait les contributeurs majeurs du potentiel osmotique et de son ajustement (Pitman, 1981).

Tableau VIII : Contenus organiques et inorganiques des plantes étudiées

Composé ($\mu\text{mol/ g de MS}$)	<i>S. tripartita</i>	<i>L. guyonianum</i>
Sodium	1717.41 \pm 401.48 a	1854.45 \pm 763,94 a
Potassium	283.77 \pm 20.73 a	206.32 \pm 12.81 b
Calcium	86.07 \pm 8.69 a	100.81 \pm 6.09 a
Chlorure	1694.58 \pm 42.29 a	1643.28 \pm 509.16 a
Sulfate	432.54 \pm 158.27 a	429.71 \pm 213.86 a
Σ Solutés inorganiques	4214.37	4234.57
Hydroxyproline	7.76 \pm 0,97 a	4.55 \pm 1.70 a
Histidine	3.32 \pm 0,07 b	11.73 \pm 0,97 a
Asparagine	29.17 \pm 8.95 a	66.42 \pm 8.46 a
Serine	5.02 \pm 1.18 b	28.90 \pm 8.14 a
Glutamine	34.76 \pm 11.28 a	105.55 \pm 34.83 a
Arginine	7.67 \pm 0,66 a	19.42 \pm 2.48 a
Glycine	5.53 \pm 2.27 a	5.49 \pm 1.04 a
Aspartate	1.36 \pm 0,25 b	4.81 \pm 0,38 a
Glutamate	2.05 \pm 0,07 b	3.27 \pm 0,12 a
Beta-alanine	3.54 \pm 0,39 a	4.01 \pm 1.21 a
Threonine	7.08 \pm 0,88 b	20.47 \pm 1.00 a
Alpha-alanine	9.05 \pm 0,19 b	25.30 \pm 2.25 a
GABA	21.72 \pm 0,24 a	22.57 \pm 1.66 a
Proline	533.88 \pm 16.18 a	200.61 \pm 51.35 b
Methylcystine	0.35 \pm 0.19 a	0.28 \pm 0.09 a
Ornithine	1.37 \pm 0,13 a	0,30 \pm 0.07 b
Cystine	NQ	12.51 \pm 3.93
Lysine	0,75 \pm 0,08 b	3.98 \pm 0.98 a
Tyrosine	12.71 \pm 0,98 a	5.82 \pm 0,20 b
Methionine	0.66 \pm 0,09	NQ
Valine	24.90 \pm 1.89 a	13.47 \pm 0,96 b
Isoleucine	NQ	5.61 \pm 0.61
Leucine	2.29 \pm 0,14 b	5.08 \pm 0.48 a
Phenylalanine	6.76 \pm 1.46 a	9.68 \pm 2.53 a
Tryptophane	12.99 \pm 0,51 a	2.73 \pm 1.03 b
Σ Acides aminés	734.69	582.56
Malate	05.31 \pm 0.11 b	14.12 \pm 0.85 a
Citrate	04.99 \pm 0,15 b	23.54 \pm 0,30 a
Quinate	42.33 \pm 0,43	NQ
Σ Acides organiques	52.63	37.66
Glucose	98.06 \pm 4.03 a	12.70 \pm 5.99 b
Galactose	06.27 \pm 0,84	NQ
Fructose	91.95 \pm 2.93 a	17.88 \pm 6.10 b
<i>Myo</i> -inositol	48.37 \pm 1.72 a	03.39 \pm 0.01 b
Saccharose	36.48 \pm 0.15 a	22.75 \pm 2.49 b
Raffinose	01.10 \pm 0,21	NQ
Σ Carbohydrates et polyols	282.23	56.72

NQ : non quantifiable.

II.3.2. Contenu des plantes étudiées en métabolites organiques primaires

L'analyse chromatographique des aminoacides extraits des parties aériennes des deux taxons étudiées permet de mettre en évidence une différence quantitative des teneurs en composés azotés de *S. tripartita* (734.69 $\mu\text{mol/g}$ de MS) et de *L. guyonianum* (582.56 $\mu\text{mol/g}$ de MS) (Tableau VIII).

La proline est l'acide aminé majoritaire, ses teneurs sont significativement plus élevées chez *S. tripartita* que *L. guyonianum* avec 533.88 ± 16.18 contre 200.61 ± 51.35 $\mu\text{mol/g}$ de MS, ($p=0.004$). Les aminoacides basiques (glutamine et asparagine) viennent après la proline, ils sont estimés respectivement à 34.76 ± 11.28 et 29.17 ± 8.95 $\mu\text{mol/g}$ de MS chez *S. tripartita* et 105.55 ± 34.83 et 66.42 ± 8.46 $\mu\text{mol/g}$ de MS chez *L. guyonianum*. Les autres acides aminés quantifiés chez ces deux espèces sont relativement faibles (Tableau VIII).

Concernant les carbohydrates et polyols, les données figurant dans le tableau VIII, montrent que les teneurs de *S. tripartita* en ces métabolites sont significativement supérieures à celles de *L. guyonianum*. Au total, elles sont estimées à 282.23 $\mu\text{mol/g}$ de MS chez la première espèce contre 56.72 $\mu\text{mol/g}$ de MS chez la deuxième. Ces composés sont surtout représentés par le glucose (98.06 ± 4.03 $\mu\text{mol/g}$ de MS), le fructose (91.95 ± 2.93 $\mu\text{mol/g}$ de MS) et le *myo*-inositol (48.37 ± 1.72 $\mu\text{mol/g}$ de MS) chez *S. tripartita*. Alors que, chez l'halophyte *L. guyonianum*, les hydrates de carbone sont représentés majoritairement par le saccharose (22.75 ± 2.49 $\mu\text{mol/g}$ de MS) et en moindre partie par ses monomères fructose et glucose avec 17.88 ± 6.10 et 12.70 ± 5.99 $\mu\text{mol/g}$ de MS respectivement. Le galactose et le raffinose sont présents en petite quantité et exclusivement chez *S. tripartita* (06.27 ± 0.84 et 01.10 ± 0.21 $\mu\text{mol/g}$ de MS respectivement) (Tableau VIII).

Les teneurs des extraits des plantes testées en acides organiques (malate et citrate) varient d'une espèce à l'autre. Le contenu de ces extraits en malate est moins élevé chez *S. tripartita* (05.3 ± 0.11 $\mu\text{mol/g}$ de MS) que chez *L. guyonianum* (14.12 ± 0.85 $\mu\text{mol/g}$ de MS). Cette différence est significative ($p=0.005$). Il est de même pour citrate dont la teneur chez *S. tripartita* est de 04.99 ± 0.15 et de 23.54 ± 0.30 $\mu\text{mol/g}$ de MS chez *L. guyonianum*. Cette différence est également significative ($p=0.000$). Alors que l'acide quinique n'a été détecté que chez *S. tripartita* à une concentration relativement importante (42.33 ± 0.43 $\mu\text{mol/g}$ de MS).

Les deux espèces étudiées dont le contenu minéral est comparable semblent adopter de différence face aux différentes contraintes environnementales. Celle-ci est mise en évidence par des voies des acides aminés, des carbohydrates et polyols et des acides organiques.

Chez *S. tripartita*, les contenus en acides aminés, carbohydrates et polyols en comparaison à ceux de *L. guyonianum* suggèrent que cette espèce privilège les voies métaboliques de ces composés pour faire à la contrainte environnementale contrairement à elle *L. guyonianum* qui semble privilège la voie des acides organiques.

Le rapprochement qui peut être fait entre l'évolution du contenu en ces molécules et les données climatiques enregistrées (Annexe II et III) laisse penser que l'accumulation des osmolytes est directement liée au déficit hydrique et à l'action des hautes températures. En effet, ces solutés par leur concentration assurent l'ajustement osmotique entre le cytosol et la vacuole et par leur structure chimique, qui contient des fonctions polyalcool et aminoacide manifestent des affinités pour les groupements carbonés des protéines, elles aident ainsi ces dernières dans la stabilisation et le maintien de leur intégrité structurale, ce qui lui confère un rôle osmoprotecteur (Heller *et al.*, 1998 ; Calu, 2006). Par ailleurs, il apparaît comme un mécanisme clé dans l'adaptation des espèces sahariennes aux conditions contraignantes des écosystèmes arides. Il a été observé chez nombreuses espèces végétales et dans différentes situations de stress au déficit hydrique, chez *Sesuvium portulacastrum* (Slama *et al.*, 2004) et *Triticum durum* Desf. (Chahbar et Belkhodja, 2016) et à la salinité, chez *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* (Purch) Nutt (Hadjadj *et al.*, 2011) et *Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa* (Lepengue *et al.*, 2012).

L'évaluation des contenus inorganique et organique des plantes étudiées révèle leur variation d'une espèce à l'autre. Les statuts ioniques des espèces étudiées sont comparables. Ils se caractérisent par de fortes teneurs en sodium et en chlorure, des faibles teneurs en calcium et des quantités comparables en sulfates. Nos plantes ont aussi l'aptitude à accumuler des quantités importantes de solutés organiques à des concentrations différentes. Les acides aminés et les carbohydrates et polyols sont les plus accumulés chez *S. tripartita* alors que les acides organiques (malate et citrate) ont été détectés en plus grandes quantités chez *L. guyonianum*. L'accumulation de ces métabolites primaires témoigne de la capacité des espèces étudiées à surmonter les agressions édapho-climatiques auxquelles elles sont soumises. Cette aptitude est régie par de différentes stratégies physiologiques, notamment l'ajustement osmotique, représentant le processus majeur qui permet le maintien de la pression de turgescence, de l'homéostasie ionique et la protection des structures les plus sensibles à une déshydratation fatale. Cette stratégie repose sur l'accumulation contrôlée des osmoticums et des osmoprotecteurs.

II.3.3. Contenu phénolique des plantes étudiées

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal. L'importance croissante de ces composés, due à leurs effets bénéfiques sur la santé est à l'origine de leur choix afin d'évaluer les espèces investiguées.

II.3.3.1. Rendements des extraits bruts en composés phénoliques

Pour optimiser une technique d'extraction, la réponse conventionnelle est le rendement d'extraction, qui estime la masse de molécules extraites par rapport au matériel de départ. Les résultats des rendements massiques en extraits bruts sont reportés dans le tableau IX.

Tableau IX. Aspects, couleurs et rendements des extraits bruts des plantes étudiées

Espèces	Solvant	Aspect	Couleur	Rendement (%)
<i>S. tripartita</i>	Méthanol	Pâteux	Marron foncé	36.20
	Ethanol	Pâteux	Marron foncé	23.79
<i>L. guyonianum</i>	Méthanol	pâteux	Marron clair	21.50
	Ethanol	pâteux	Marron clair	14.80

Il ressort à travers l'observation des rendements d'extraction (Tableau IX) que le méthanol aqueux à 70% donne le meilleur rendement d'extraction de 36.20 et 21.50 % versus 23.79 et 14.80% pour l'éthanol aqueux à 70%, soit une amélioration de l'ordre de 34.28 et 31.16 % chez *S. tripartita* et *L. guyonianum* respectivement.

L'amélioration du rendement d'extraction des composés phénoliques par l'utilisation du méthanol peut s'expliquer par le simple fait que cet alcool (polarité de 6.6) est plus polaire que l'éthanol (polarité de 5.2). C'est pourquoi, il est connu par la plus grande efficacité pour extraire des quantités maximales de composants d'intérêt (Bourgou *et al.*, 2016).

De plus, l'addition de 30% d'eau distillée aux solvants purs augmente leur pouvoir extractant (Mohammedi et Atik, 2011). La présence de l'eau, ayant un moment dipolaire plus fort que celui des alcools, déstabilise les parois cellulaires. Par conséquent, en pénétrant plus profondément dans la matrice végétale, le solvant peut entrer au contact avec une quantité plus grande du soluté, favorisant ainsi l'extraction (Penchev *et al.*, 2010). D'autre part, un rapport

de 70% de solvant au minimum est nécessaire pour inactiver les polyphénols oxydases, des enzymes intervenant dans l'oxydation des polyphénols, conduisant au phénomène de brunissement (Chirinos *et al.*, 2007).

II.3.3.2. Contenu phénolique des extraits bruts

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives très recherchées, car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologique (antioxydantes, antimicrobiennes,... etc.). Pour ces raisons, les extraits bruts, obtenus par extraction solide-liquide ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre pour leur contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés. Les résultats du dosage sont décrits dans le tableau X.

Tableau X. Contenu en phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des plantes étudiées

Espèces	Solvant	Phénols totaux (mg EAG/ g de MS)	Flavonoïdes (mg ER/ g de MS)	Tanins condensés (mg EPE/ g de MS)
<i>S. tripartita</i>	Méthanol	402.11± 9.17 a	53.61± 1.76 a	349.07± 5.77 a
	Ethanol	403.29± 14.19 a	21.75± 1.12 b	344.60± 8.34 a
<i>L. guyonianum</i>	Méthanol	121.51± 4.51 a	8.65± 0.11 a	44.57± 0.93 a
	Ethanol	98.62± 0.30 b	7.74± 0.19 b	27.91± 1.70 b

L'examen des résultats obtenus montre que les extraits des parties aériennes de *L. guyonianum* possèdent des teneurs en phénols totaux significativement différentes en relation étroite avec la nature du solvant d'extraction. Le méthanol à 70% présente le meilleur pouvoir extractant, ayant permis la quantification de 121.51± 4.51 mg EAG/ g de MS, alors qu'en présence de l'éthanol à 70%, le contenu phénolique n'est que de 98.62± 0.30 mg EAG/ g de MS.

La nature du solvant d'extraction ne semble avoir aucun effet sur le contenu phénolique des extraits de *S. tripartita*. En effet, la teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique est de 402.11± 9.17 mg EAG/ g de MS et celle de l'extrait éthanolique est de 403.29± 14.19 mg EAG/ g de MS. La différence étant non significative ($p=0.910$).

Les extraits de *L. guyonianum* et *S. tripartita* montrent des teneurs variables en flavonoïdes et en tanins condensés, qui dépendent de la polarité du solvant d'extraction. Le méthanol permet une meilleure extraction des flavonoïdes et des tanins condensés que l'éthanol.

Ces composés atteignent des teneurs respectives de 53.61 ± 1.76 mg ER/ g de MS et 349.07 ± 5.77 mg EPE/ g de MS dans l'extrait méthanolique de *S. tripartita* contre 21.75 ± 1.12 mg ER/ g de MS et 344.60 ± 8.34 mg EPE/ g de MS dans son extrait éthanolique et 8.65 ± 0.11 mg ER/ g de MS et 44.57 ± 0.93 mg EPE/ g de MS dans l'extrait méthanolique de *L. guyonianum* contre 7.74 ± 0.19 mg ER/ g de MS et 27.91 ± 1.70 mg EPE/ g de MS dans son extrait éthanolique.

La variabilité dans les quantités des composés phénoliques entre les extraits peut être attribuée à la nature du solvant utilisé pour l'extraction. En règle générale, la solubilité des composés phénoliques dépend principalement de la polarité du solvant d'extraction, du degré de polymérisation des molécules à extraire, de la longueur des chaînes carboniques et du nombre et de la position des groupements hydroxyles (Naczki et Shahidi, 2004 ; Iloki-Assanga *et al.*, 2015). L'interaction possible de ses molécules de base avec d'autres constituants et la formation probable de complexes insolubles peuvent aussi influencer la solubilisation de ces composés (Djeridane *et al.*, 2006).

II.3.4. Identification des composés phénoliques des extraits hydro-méthanoliques par HPLC-DAD-ESI-MS/MS

L'analyse qualitative des composés phénoliques des extraits hydrométhanoliques a été réalisée en utilisant une HPLC-DAD-ESI-MS/ MS en mode d'ionisation négative. Le mode d'ion négatif a été sélectionné en raison de sa plus grande sensibilité et sélectivité par rapport au mode positif. En outre, les polyphénols sont des composés faiblement acides, ce qui indique que la dissociation est plus facile que la protonation (Friedrich *et al.*, 2000; Plazonic *et al.*, 2009).

Les molécules détectées ont été identifiées sur la base des spectres de fragmentation MS/ MS en comparaison avec ceux rapportés dans la littérature. Le chromatogramme de l'extrait brut de *S. tripartita* est représenté dans la figure 11.

Les caractéristiques chromatographiques des principaux composés détectés dans l'extrait méthanolique de *S. tripartita* et les hypothèses structurales de ces composés sont rapportés dans le tableau XI.

Les spectres de fragmentation de l'extrait brut de *S. tripartita* font ressortir quatre flavonols glycosylés : la myricétine-3-O-glucoside, la myricétine-3-O-rhamnoside, la quercétine-3-O-glucoside et la quercétine-3-O-rhamnoside.

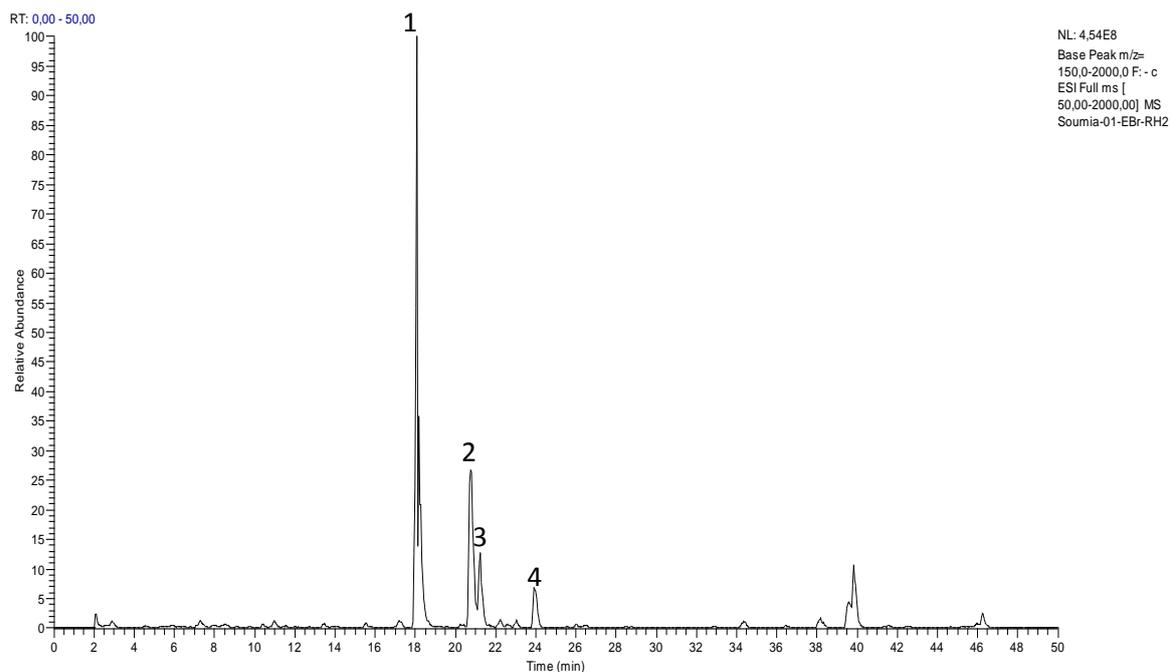


Figure 11. Chromatogramme HPLC-DAD-ESI-MS/MS de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *S. tripartita*

Tableau XI. Composés phénoliques identifiés par HPLC-DAD-ESI-MS/ MS dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *S. tripartita*

Pic	Molécule proposée	t_R (min)	λ max (nm)	$[M - H]^-$ (m/z)	Ions majoritaires MS/ MS (m/z) produits
1	Myricétine-3-O- glucoside	18.02	256, 357	479	317, 316
2	Myricétine-3-O- rhamnoside	20.76	255, 350	463	316
3	Quercétine-3-O-glucoside	21.23	254, 355	463	300
4	Quercétine-3-O-rhamnoside	23.95	263, 349	447	300

Les molécules (pics 1 et 2), éluées à 18.02 et 20.76 min, présentent respectivement un rapport m/z de 479 et 463 en mode négatif $[M-H]^-$ et des ions fragments m/z à 317 et 316, correspondant à des pertes respectives d'un hexose ($[M-H-162]^-$) et d'un désoxyhexose ($146 u + H$). Ces deux molécules pourraient correspondre à la myricétine-3-O- glucoside et la myricétine-3-O- rhamnoside respectivement (Figure 12).

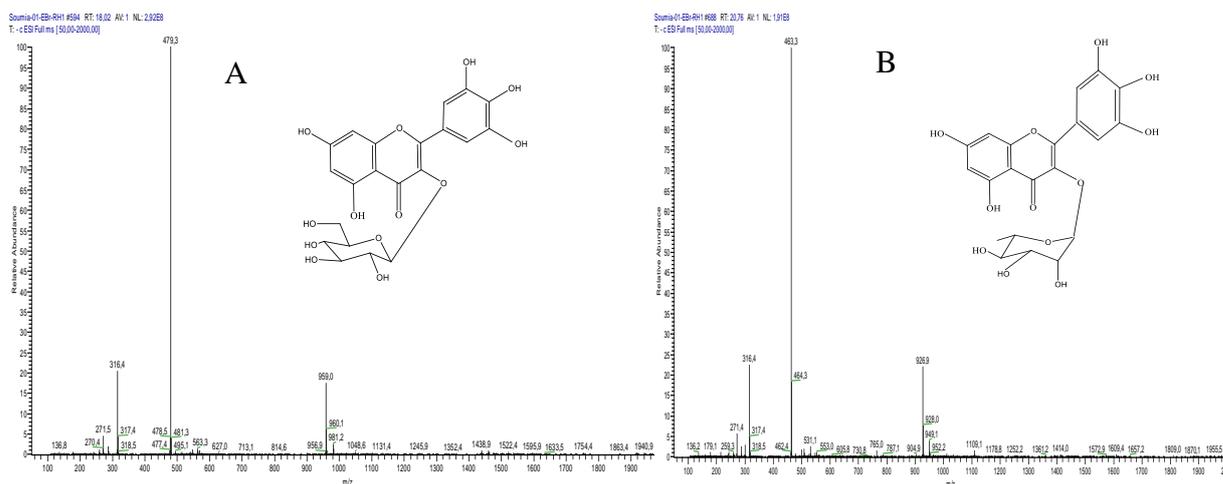


Figure 12. Spectre de masse de la myricétine-3-O- glucoside (A) et la myricétine-3-O- rhamnoside (B) en mode négatif

La quercétine-3-O-glucoside et la quercétine-3-O-rhamnoside ont donné des masses respectives à m/z 463 et 447 (Figure 13) et des ions fils de m/z à 300, indiquant la libération d'un hexose ($162 u + H$) dans le pic 3 et d'un désoxyhexose ($146 u + H$) dans le pic 4.

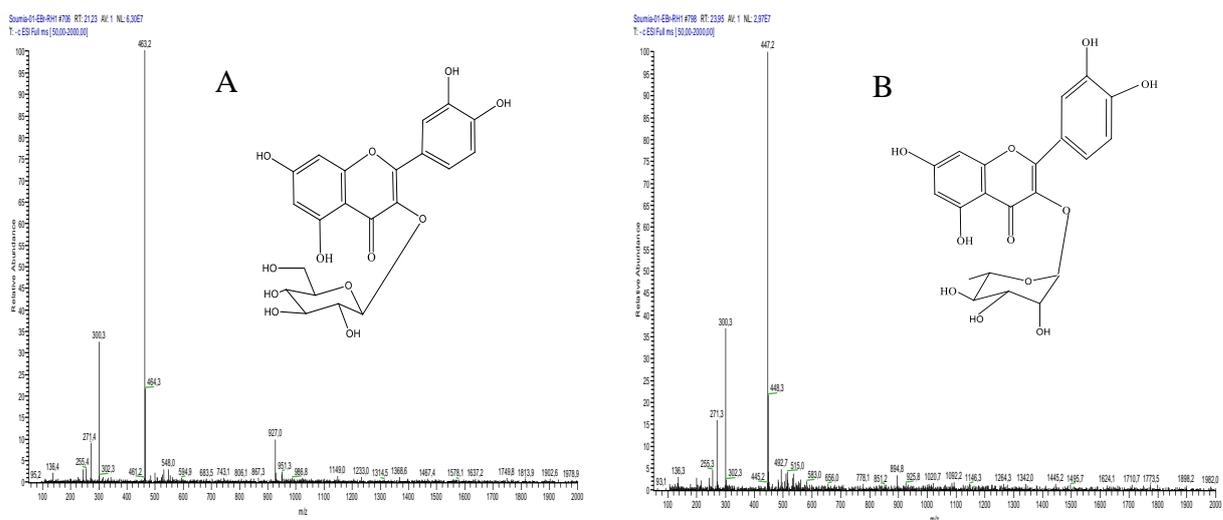


Figure 13. Spectre de masse de la quercétine-3-O-glucoside (A) et la quercétine-3-O-rhamnoside (B) en mode négatif

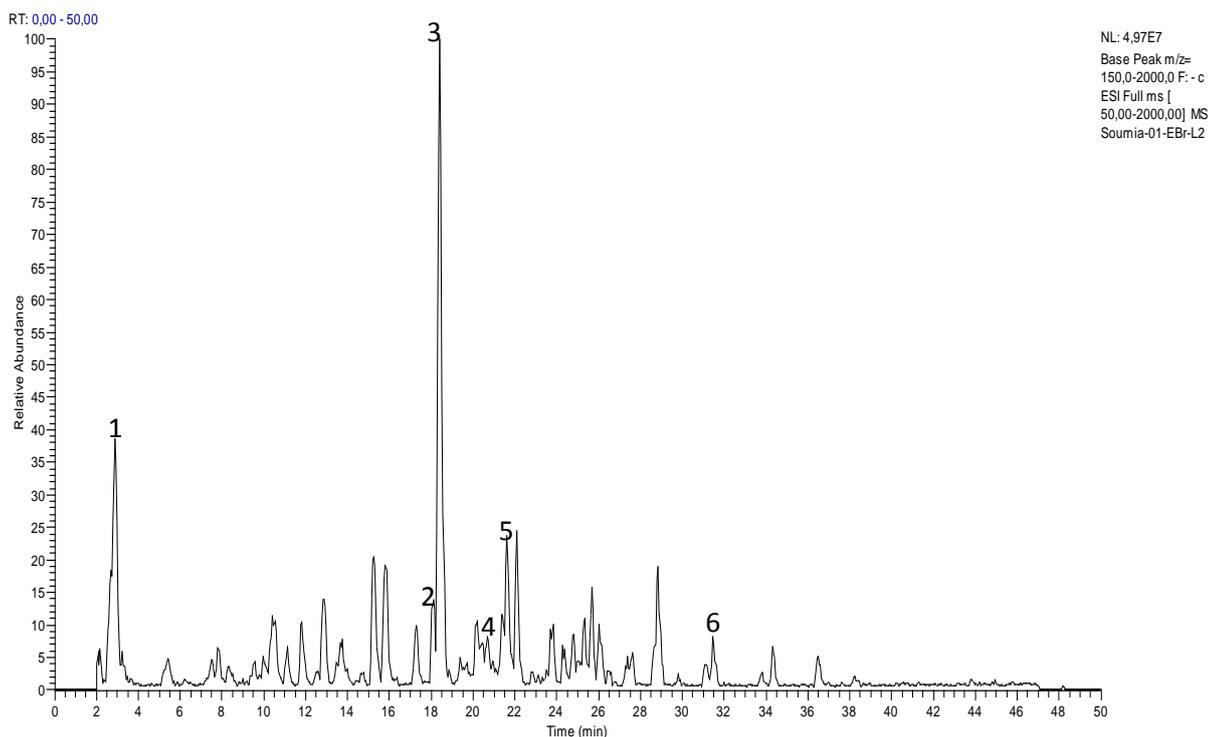


Figure 14. Chromatogramme HPLC-DAD-ESI-MS/MS de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *L. guyonianum*

Tableau XII. Composés phénoliques identifiés par HPLC-DAD-ESI-MS/MS dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *L. guyonianum*

Pic	Molécule proposée	t _R (min)	λ max (nm)	[M - H] ⁻ (m/z)	Ions majoritaires MS/ MS (m/z) produits
1	Dérivé d'acide quinique	2.84	269	619	405, 191, 111
2	Myricétine-3-O- rutinoside	18.09	263, 354	625	479, 316, 317
3	Myricétine-3-O- glucuronide	18.36	263, 356	493	317, 316
4	Myricétine-3-O- pentoside	20.68	264, 350	449	316, 317
5	Quercétine-3-O- glucuronide	21.62	263, 354	477	301
6	Eriodictyol-7-O- rutinoside	31.49	283	595	287

Le chromatogramme de l'extrait brut de *L. guyonianum* est représenté dans la figure 14.

Les caractéristiques chromatographiques des principaux composés détectés dans l'extrait méthanolique de *L. guyonianum* et les hypothèses structurales de ces composés sont rapportés dans le tableau XII.

Les profils des spectres de fragmentation de l'extrait brut de *L. guyonianum* ont révélé la présence d'un dérivé d'acide quinique, d'un flavanone glycosylé l'eriodictyol-7-O- rutinoside et de quatre flavonols glycosylés : la myricétine-3-O- rutinoside, la myricétine-3-O- glucuronide, la myricétine-3-O- pentoside et la quercétine-3-O- glucuronide (Figure 14).

Le spectre de masse du dérivé de l'acide quinique affiche des ions parents $[M-H]^-$ m/z à 619 avec un ion fragment à m/z 191 (correspondant à l'acide quinique) (Figure 15).

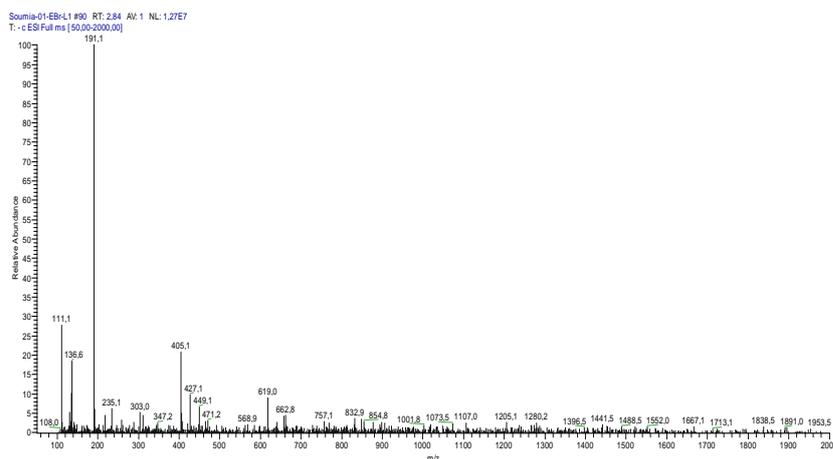


Figure 15. Spectre de masse du dérivé de l'acide quinique en mode négatif

Le pic 2 élué à 18.09 min, marqué par une masse m/z égale à 625 est identifié comme étant la myricétine-3-O- rutinoside. En effet, le spectre MS/ MS affiche des ions fragments m/z à 479, 317 et 316 correspondant à l'élimination respectives d'un désoxyhexose (146 u), d'un disaccharide (308 u) et d'une molécule de disaccharide+ H (Figure 16).

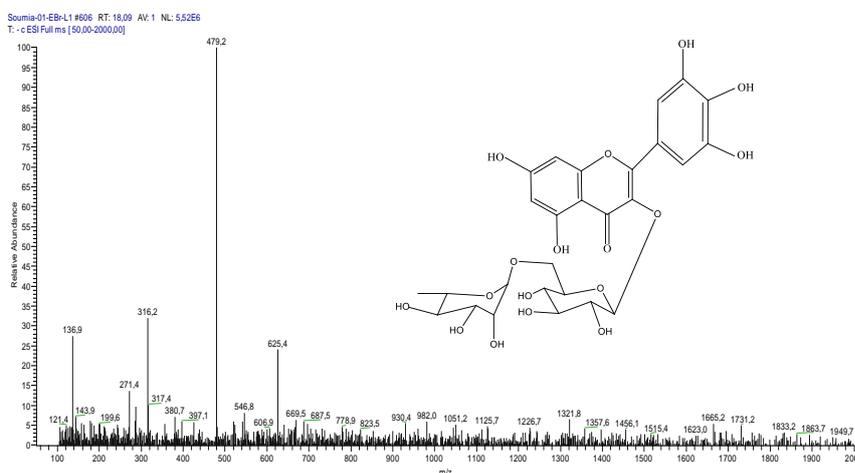


Figure 16. Spectre de masse de la myricétine-3-O- rutinoside en mode négatif

Les deux ions moléculaires avec un rapport m/z de 493 et 449, présentant tous des ions fragments à m/z de 317, indiquent la libération d'un glucuronide (-176 u) et d'un pentose (-132 u), confirmant ainsi la présence respective de la myricétine-3-O-glucuronide et la myricétine-3-O- pentoside (Figure 17).

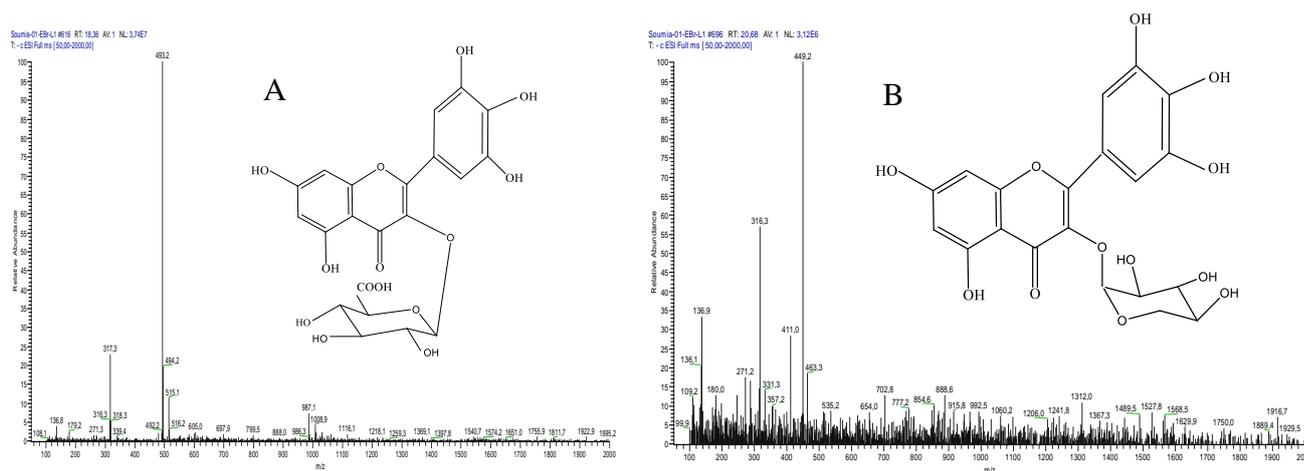


Figure 17. Spectre de masse de la myricétine-3-O-glucuronide (A) et la myricétine-3-O-pentoside (B) en mode négatif

La quercétine-3-O-glucuronide (pic 5), a donné un ion moléculaire à m/z 477 et un ion fils caractéristique de flavonole aglycone, la quercétine m/z à 301, indiquant la libération d'un glucuronide (176 u) (Figure 18).

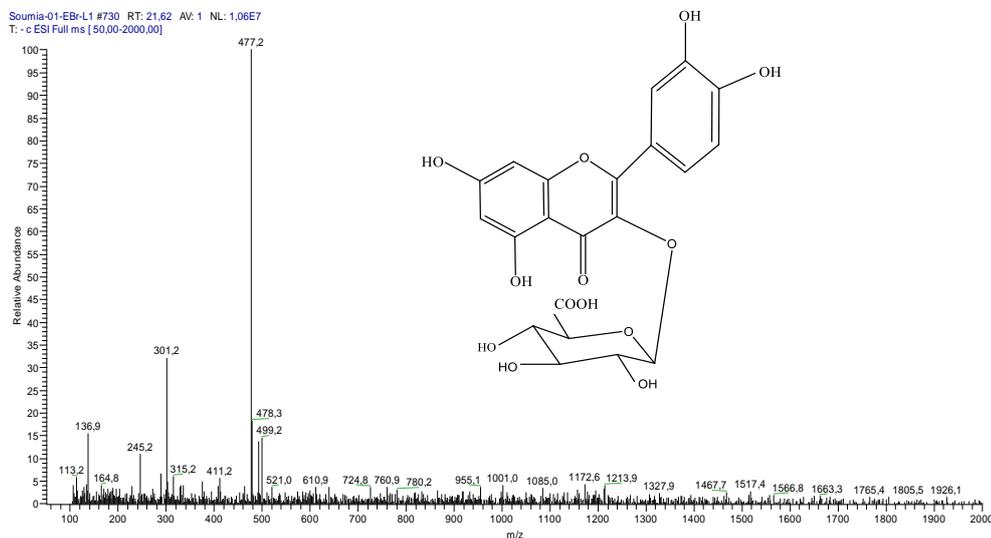


Figure 18. Spectre de masse de la quercétine-3-O-glucuronide en mode négatif

Le pic détecté à 31.49 min est caractérisé par une masse m/z à 595 (aglycone+ disaccharides) et d'un ion fils m/z à 287 caractérisant le flavanone aglycone eriodictyol, qui peut être attribué à l'élimination d'un rutinoside, a été identifiée comme étant l'eriodictyol -7-O- rutinoside (Figure 19).

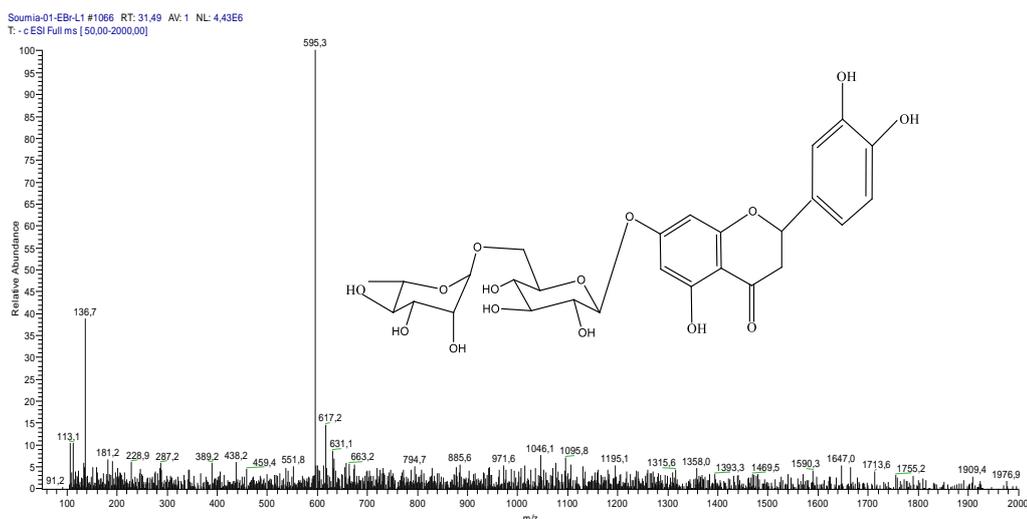


Figure 19. Spectre de masse de l'eriodictyol -7-O- rutinoside en mode négatif

Les quatre flavonols glycosylés (myricétine-3-O-glucoside, myricétine-3-O-rhamnoside, quercétine-3-O-glucoside et la quercétine-3-O-rhamnoside) mis en évidence dans l'extrait hydrométhanolique de *S. tripartita* par l'analyse chromatographique sont rapportés pour la première fois dans cette espèce. Dans leur investigation phytochimique sur *Rhus tripartita*, Mahjoub *et al.* (2010) ont isolé un nouveau biflavonoïde masazinoflavanone (S1) dans l'extrait chloroformique et trois autres molécules : myricétine (S1), (-) - lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside (S3) et (-)-méthyl shikimate (S4) dans l'extrait acétate d'éthyle/méthanol. Récemment, Abd El-Salam (2015) a isolé six molécules bioactives de l'extrait alcoolique des feuilles de *R. tripartita* : gallocatéchine, quercétine, myricétine, kampferol-3-O- α -L-rhamnopyranoside, kampferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside et β -sitosteryl-3-O- β -glucopyranoside.

Les composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique de *L. guyonianum* ont été signalés dans plusieurs études antérieures réalisées sur différentes espèces de *Limonium* telles que *L. axillare* (Bashir *et al.*, 1994 ; Ahmed *et al.*, 1999), *L. wrightii* (Aniya *et al.*, 2002) et *L. brasiliense* (Murray *et al.*, 2004). Chaabi *et al.* (2008) ont isolé quatre flavonoïdes des feuilles de *L. feei*, à savoir les flavonols aglycones, la myricétine-3-O- β -galactopyranoside, la myricétine-3-O- α -rhamnopyranoside, la quercétine et la myricétine.

Trabelsi *et al.* (2013) ont identifié dans des fractions 3, 4 et 5 de l'extrait acétate d'éthyle de *L. guyonianum* un nombre plus important de molécules ; un acide phénolique (acide *p*-coumarique), deux flavonoïdes (catéchine et épigallocatechine-3-O-gallate) dans la fraction 3, quatre composés phénoliques (gallo- catéchine, acide sinapique) et deux acides phénoliques amides (N-E-cafféoyl tyramine (1) et N-E-féruloyl tyramine) dans la fraction 4 et un dimère acide phénolique amide (Limoniastamide) dans la fraction 5.

L'analyse chromatographique des composés phénoliques extraits des deux taxons a révélé que l'espèce la moins pourvue en ces composés est celle qui représente une meilleure diversité.

II.5. Pouvoir antioxydant des extraits bruts

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits hydroalcooliques des espèces étudiées trois tests PPM, DPPH et ABTS ont été réalisées.

II.5.1. Activité antioxydante totale

Les résultats d'évaluation de l'activité antioxydante totale par le test PPM regroupés dans le tableau XIII indiquent que les extraits méthanoliques exhibent la capacité la plus élevée à réduire le molybdène avec des valeurs atteignant 180.62 ± 7.92 et 55.57 ± 5.99 mg EAA/g de MS chez *S. tripartita* et *L. guyonianum* respectivement, correspondant à une supériorité respective de l'ordre de 10.05 et 17.96% comparativement à celles obtenues avec l'éthanol à 70%.

Tableau XIII. Activité antioxydante des extraits des plantes étudiées

Espèces	Solvant	PPM (mg EAA/g de MS)	DPPH (EC ₅₀ µg/ml)	ABTS (EC ₅₀ µg/ml)
<i>S. tripartita</i>	Méthanol	180.62 ± 7.92 a	10.35 ± 0.14 a	8.20 ± 0.41 a
	Ethanol	162.47 ± 7.59 b	10.64 ± 0.15 a	8.55 ± 0.20 a
<i>L. guyonianum</i>	Méthanol	55.57 ± 5.99 a	31.10 ± 0.25 a	22.71 ± 0.28 a
	Ethanol	45.59 ± 3.04 a	23.25 ± 0.62 b	21.25 ± 0.42 b
Trolox		/	4.13 ± 0.03	4.34 ± 0.08

La différence du potentiel antioxydant entre les extraits testés peut être expliquée par la dépendance de ce dernier de la nature physico-chimique des composés présents dans les extraits et par la différence de sélectivité du solvant pour extraire certains groupes d'antioxydants (Djeridane *et al.*, 2006).

II.5.2. Activité anti-radicalaire

Les données figurant dans le tableau XIII montrent que, la sélectivité d'extraction des antioxydants à partir des parties aériennes de *S. tripartita* est identique quel que soit le solvant utilisé. Les EC₅₀ enregistrées avec les extraits bruts hydrométhanolique et hydroéthanolique sont similaires et estimées à 10.35 ± 0.14 et 10.64 ± 0.15 µg/ml et à 8.20 ± 0.41 et 8.55 ± 0.20 µg/ml, *vis-à-vis* du DPPH et de l'ABTS respectivement. A l'opposé, chez *L. guyonianum*, la nature du solvant affecte de façon significative l'activité anti-radicalaire. L'extrait hydroéthanolique a montré une importante capacité à scavenger les radicaux libres DPPH et ABTS, dont les valeurs d'EC₅₀ les plus faibles sont de l'ordre de 23.25 ± 0.62 et 21.25 ± 0.42 µg/ml par rapport à celles de l'extrait hydrométhanolique qui sont de 31.10 ± 0.25 et 22.71 ± 0.28 µg/ml respectivement.

Les valeurs d'EC₅₀ estimées par le test DPPH pour les extraits méthanolique et éthanolique sont nettement supérieures à celles obtenues avec le test ABTS. Une différence de

l'ordre de 20.77 et 19.64 % est notée dans les extraits de *S. tripartita* et de 26,97 et 8,60% dans ceux de *L. guyonianum*, mettant ainsi en évidence un meilleur piégeage de l'ABTS par nos extraits. Cependant, ses activités restent nettement inférieures à celle de l'antioxydant de référence (le trolox), qui présente une EC₅₀ moyenne de 4.24 µg/ml.

La différence du pouvoir anti-radicalaire entre les deux systèmes oxydants DPPH et ABTS pourrait être attribuée à la faible sélectivité du test ABTS. Le radical cation ABTS a l'avantage d'être plus polyvalent que le DPPH parce qu'il est soluble dans l'eau et les solvants organiques, ce qui permet l'évaluation de l'activité anti-radicalaire pour les échantillons hydrophiles et lipophiles (Gulcin, 2012). En revanche, le DPPH est plus sélectif car il ne réagit pas avec les flavonoïdes qui ne contiennent pas de groupes hydroxyles dans le cycle B (Yokozawa *et al.*, 1998), ainsi que les acides aromatiques comportant un seul groupe hydroxyle (Von Gadov *et al.* 1997). Ces observations corroborent avec les travaux de Samaniego Sanchez *et al.* (2007), qui ont montré que la meilleure méthode pour la détermination de la capacité antioxydante de l'huile d'olive vierge est le test ABTS qui donne une haute reproductibilité et des coefficients de corrélation acceptables.

Il est important de noter que les extraits de *S. tripartita* sont les plus aptes à réduire le molybdène et à piéger les radicaux libres DPPH et ABTS que ceux de *L. guyonianum*, bien que cette dernière présente une meilleure diversité de composés phénoliques. Ceci laisse supposer que la présence du dérivé d'acide quinique et l'eriodictyol-7- O- rutinoside dans les extraits de *L. guyonianum* peuvent conduire à un comportement compétitif voire antagoniste entre les métabolites phénoliques en mélange. À la base de ce concept, Peyrat-Maillard *et al.* (2003) ont rapporté que l'association de tocophérols et de composés phénoliques, comme les acides caféique et rosmarinique, conduit à un antagonisme lors de l'oxydation d'une dispersion aqueuse d'acide linoléique induite par 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydro- chloride (AAPH).

II.5.3. Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts

L'étude de la corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts a été réalisée par la détermination du coefficient de corrélation linéaire (*R*), dit coefficient de Bravais-Pearson. Ce dernier est compris entre -1 et +1. Lorsqu'il est proche de zéro, les deux variables sont linéairement indépendantes, tandis qu'une liaison

linéaire est d'autant plus marquée que le coefficient s'approche de -1 ou de +1. En outre, la corrélation d'une variable avec elle-même est égale à 1 (Rakotomalala, 2015).

Les investigations sur les relations entre les composés phénoliques et la capacité antioxydante fournissent des preuves claires sur les effets de ces constituants en tant qu'agents antioxydants. En effet, les contenus en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés sont positivement corrélés à l'activité antioxydante (Tableau XIV).

Tableau XIV. Coefficients de corrélation linéaire (*R*) entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts estimées par les tests de PPM, DPPH et ABTS

Composés phénoliques	PPM		DPPH		ABTS	
	R	<i>P</i>	R	<i>P</i>	R	<i>p</i>
Polyphénols	0.99	<0.0001	0.86	<0.0001	0.97	<0.0001
Flavonoïdes	0.84	<0.0001	0.68	0.001	0.76	0.000
Tanins condensés	0.99	<0.0001	0.87	<0.0001	0.98	<0.0001

Des coefficients de corrélation très hautement significatifs ont été établis entre les teneurs en ces métabolites et celles des activités antioxydantes déterminées par les méthodes de PPM, DPPH et ABTS ($0.84 \leq R \leq 0.99$), ($0.68 \leq R \leq 0.87$) et ($0.76 \leq R \leq 0.98$) respectivement.

La corrélation positive mise en évidence entre les contenus phénoliques et l'activité antioxydante des extraits testés peut être expliquée par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques dans la structure de ces composés, portant un ou plusieurs substituants hydroxyles pouvant céder facilement un électron ou un proton pour stabiliser les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Sakihama *et al.*, 2002). Les composés phénoliques semblent donc être les principaux contributeurs à la capacité antioxydante de nos extraits. Dans ce sens, Mahjoub *et al.* (2010) ont indiqué que les quatre composés isolés à partir de *Rhus tripartitum* : masazino-flavanone (S1), myricetin (S1), (-) - lyoniresinol 3 α -O- β -D-glucopyranoside (S3) et (-)-méthyl shikimate (S4) présentent une activité anti-radicalaire remarquable *via* l'ABTS. Chaabi *et al.* (2008) ont également démontré que le flavonol aglycone (la myricétine) isolé des feuilles de *L. feei* a un important pouvoir à piéger le radical superoxyde.

L'analyse des extraits hydroalcooliques des parties aériennes des plantes étudiées a montré que ces espèces sont une source potentielle de composés phénoliques, sachant que le mélange méthanol/eau s'est montré plus efficace pour l'extraction de ces composés.

Les profils chromatographiques des extraits brut des espèces testées a révélé une plus grande diversité des molécules détectées dans l'extrait de *L. guyonianum*, bien que ce dernier soit le moins pourvu en composés phénoliques.

Les extraits bruts ont des activités remarquables à réduire le molybdène et à piéger les radicaux libres DPPH et ABTS. La meilleure activité est obtenue en piégeant le radical ABTS. Ces activités sont positivement corrélées avec les contenus phénoliques de ces extraits qui semblent être les principaux contributeurs à cette capacité antioxydante.

II.6. Rendements des différentes fractions en composés phénoliques

L'extraction successive par des solvants de polarités croissantes est l'une des étapes clés permettant de réduire la complexité du matériel de départ et donc, faciliter l'identification des molécules actives. De ce fait, l'étude s'est portée sur des extraits bruts hydrométhanoliques et de leurs différentes fractions : la fraction acétate d'éthyle, la fraction butanolique et la fraction aqueuse résiduelle. Les couleurs, les aspects ainsi que les rendements des extraits bruts et de leurs différentes fractions après évaporation des solvants sont représentés dans le tableau XV.

Tableau XV. Couleurs, aspects et rendements des extraits bruts et de leurs différentes fractions

	Espèces	Couleur	Aspect	Rendement (%)
<i>S. tripartita</i>	Extrait brut	Marron foncé	Pâteux	36.20
	Fraction acétate d'éthyle	Vert	Poudre	52.5
	Fraction butanolique	Marron	Poudre	04.75
	Fraction aqueuse	Marron verdâtre	Pâteux	02.25
<i>L. guyonianum</i>	Extrait brut	Marron clair	Pâteux	21.50
	Fraction acétate d'éthyle	Vert jaunâtre	Poudre	08.07
	Fraction butanolique	Marron	Pâteux	03.75
	Fraction aqueuse	Marron	Pâteux	51.17

Il ressort des résultats obtenus que le rendement de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut de *S. tripartita* évalué à 52.5 % est plus important que ceux des fractions butanolique et aqueuse qui ne sont que de 4.75 et 2.25% respectivement. A l'opposé, la fraction aqueuse de l'extrait brut de *L. guyonianum* représente le rendement le plus important (51.17%),

alors que ceux des fractions acétate d'éthyle et butanolique ne sont que de 8.07 et 3.75% respectivement.

La différence constatée dans les rendements d'extraction en fonction des espèces pourrait s'expliquer par la nature des molécules constituant les différentes fractions. En effet, une grande partie des composants de l'extrait brut de *S. tripartita* sont entraînés par le solvant le moins polaire (acétate d'éthyle), alors que pour *L. guyonianum* la majeure partie des composés de son extrait brut ont été solubilisés par le solvant le plus polaire (eau). Ceci suggère la richesse de la première espèce en molécules moyennement polaires et la seconde en molécules très polaires.

Les rendements estimés par Kosar *et al.* (2007) à partir de l'extrait hydrométhanolique des fruits de *Rhus coriaria* et de ses différentes fractions, jugés différents des nôtres, laissent penser que ce paramètre n'est que relatif et semble être lié aux facteurs génétiques des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage, de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées. La nature et le volume du solvant, la masse de la poudre et le temps de contact avec le solvant et le nombre d'étapes d'extraction sont aussi des facteurs influençant ces rendements (Abe *et al.*, 2010).

II.7. Teneurs des extraits bruts et de leurs différentes fractions en composés phénoliques

Afin de caractériser quantitativement les différentes fractions préparées à partir des extraits bruts, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. Les teneurs en ces métabolites secondaires sont consignées dans le tableau XVI.

Tableau XVI. Teneurs des extraits bruts et de leurs différentes fractions en composés phénoliques

Composés phénoliques		Espèces	
		<i>S. tripartita</i>	<i>L. guyonianum</i>
Polyphénols (mg EAG/g de MS)	Extrait brut	402.11± 9.17 a	121.51± 4.51 a
	Fraction acétate d'éthyle	55.50±4.86 a	3.07±0.34 b
	Fraction butanolique	26.75±0.84 a	1.21±0.17 b
	Fraction aqueuse	14.89±3.63 a	10.15±1.35 a
Flavonoïdes (mg ER/g de MS)	Extrait brut	53.61±1.76 a	8.65± 0.11 b
	Fraction acétate d'éthyle	44.19±0.77 a	1.82±0.19 b
	Fraction butanolique	13.77±1.33 a	0.21±0.01 b
	Fraction aqueuse	0.34±0.08 a	1.45±0.07 b

L'examen des résultats révèle une variation considérable des contenus des polyphénols totaux et des flavonoïdes des espèces étudiées et ce, aussi bien dans les extraits bruts que dans leurs différentes fractions (Tableau XVI). Il apparaît clair que les fractions organiques de l'extrait brut de *S. tripartita* sont plus riches en composés phénoliques que la fraction aqueuse. Pour *L. guyonianum*, la fraction aqueuse est la plus dotée en phénols totaux, alors que les teneurs en flavonoïdes des fractions aqueuse et acétate d'éthyle de cette même espèce sont comparables.

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait brut de *S. tripartita* (402.11 ± 9.17 mg EAG/g de MS) sont près de 4 fois plus élevées que celles de l'extrait brut de *L. guyonianum* (121.51 ± 4.51 mg EAG/g de MS). Cette différence est plus remarquable dans les fractions acétate d'éthyle et butanolique où l'on note des valeurs de 55.50 ± 4.86 et 26.75 ± 0.84 mg EAG/g de MS respectivement pour *S. tripartita* alors qu'elles ne dépassent pas 3.07 ± 0.34 et 1.21 ± 0.17 mg EAG/g de MS pour *L. guyonianum*.

Seules les fractions aqueuses des deux espèces présentent des contenus comparables en polyphénols totaux 14.89 ± 3.63 mg EAG/g de MS pour *S. tripartita* et 10.15 ± 1.35 mg EAG/g de MS pour *L. guyonianum*.

La richesse de *S. tripartita* par rapport à *L. guyonianum* est également constatée pour les flavonoïdes. En effet, l'extrait brut de ce taxon présente une teneur de 53.61 ± 1.76 mg ER/g de MS alors que le second (*L. guyonianum*) ne contient que 8.65 ± 0.11 mg ER/g de MS.

Les fractions organiques : acétate d'éthyle (44.19 ± 0.77 mg ER/g de MS) et butanolique (13.77 ± 1.33 mg ER/g de MS) de l'extrait brut de *S. tripartita* sont aussi plus riches que celles de l'extrait brut de *L. guyonianum* (1.82 ± 0.19 et 0.21 ± 0.01 mg ER/g de MS respectivement). Cependant, la fraction aqueuse de l'extrait brut de *L. guyonianum* contient près de 4 fois plus de flavonoïdes (1.45 ± 0.07 mg ER/g de MS) que celle de l'extrait brut de *S. tripartita* (0.34 ± 0.08 mg ER/g de MS).

La richesse de l'extrait brut de *S. tripartita* en composés phénoliques comparé à celui de *L. guyonianum* suggère l'intervention des facteurs intrinsèques (génotype, organe,...) et extrinsèques (édaphiques et environnementaux) (Lisiewska *et al.*, 2006), comme elle peut être liée à l'affinité de ces composés aux solvants d'extraction.

La richesse de la fraction acétate d'éthyle de l'extrait brut de *S. tripartita* en polyphénols et en flavonoïdes, pourrait être en relation avec la richesse de cet extrait en composés moyennement polaire (les aglycones, les monoglycosylés).

La présence de plus fortes teneurs en composés phénoliques dans la fraction aqueuse de l'extrait brut de *L. guyonianum* que dans les fractions organiques suggère la richesse de cette espèce en polyphénols glycosylés hydrolysables.

De nombreux travaux antérieurs rapportent la variabilité existant dans le contenu en composés phénoliques entre les espèces végétales et au sein de la même espèce, en fonction de la nature du solvant utilisé pour l'extraction, dépendant étroitement de sa polarité. Ksouri *et al.* (2008), ayant travaillé sur *L. monopetalum*, Kim *et al.* (2010) sur *Rhus verniciflua* et Hamdoon *et al.* (2013) sur *L. guyonianum* ont montré que les teneurs en phénols totaux sont inversement proportionnelles à la polarité des solvants d'extraction et de fractionnement.

II.8. Activité antioxydante des extraits bruts et de leurs différentes fractions (TEAC)

Selon les trois tests (ORAC, ABTS et DPPH), l'activité antioxydante varie selon les espèces, et au sein d'une même espèce, selon les fractions (Tableau XVII).

L'extrait brut de *S. tripartita* et ses différentes fractions, ayant montré des teneurs élevées en composés phénoliques se sont avérés les plus actifs, détenant des TEAC plus puissantes que celles de l'extrait brut et des différentes fractions de *L. guyonianum*.

Tous les essais ont permis de mettre en évidence une activité anti-radicalaire plus élevée dans l'extrait brut de *S. tripartita* que dans ses différentes fractions. Les valeurs de TEAC de cet extrait atteignent 1243.1 ± 46.4 $\mu\text{mol ET/g}$ de MS *via* le test ORAC, 551.9 ± 3.9 $\mu\text{mol ET/g}$ de MS *via* le test DPPH et 214.7 ± 5.2 $\mu\text{mol ET/g}$ de MS *via* le test ABTS. Ces activités sont 3 à 16 fois plus fortes que celles de l'extrait brut de *L. guyonianum* dont les valeurs sont respectivement de 369.5 ± 85.7 , 33.0 ± 0.9 et 14.2 ± 1.0 $\mu\text{mol ET/g}$ de MS (Tableau XVII).

Les capacités antioxydantes des fractions de l'extrait brut de *S. tripartita*, évaluée plus faible que celle de l'extrait dont elles sont issues est inversement proportionnelle à la polarité des solvants utilisés. Les fractions organiques de l'extrait brut de *L. guyonianum* exhibent les plus faibles pouvoirs antioxydants, la fraction butanolique étant toujours la moins active (Tableau XVII).

La variabilité des activités antioxydantes des différentes fractions peut être reliée à la nature des molécules contenues dans chacune d'elles. En effet, le pouvoir solubilisant et extractant des phytomolécules peut différer selon la nature du solvant. Selon Cowan (1999), au

Tableau XVII. Capacité antioxydante totale des extraits bruts et de leurs différentes fractions estimées par les tests ABTS, DPPH et ORAC

Extraits	ABTS ($\mu\text{mol ET/g de MS}$)		DPPH ($\mu\text{mol ET/g de MS}$)		ORAC ($\mu\text{mol ET/g de MS}$)	
	<i>S. tripartita</i>	<i>L. guyonianum</i>	<i>S. tripartita</i>	<i>L. guyonianum</i>	<i>S. tripartita</i>	<i>L. guyonianum</i>
Extrait brut	214.7 \pm 5.2 a	14.2 \pm 1.0 b	551.9 \pm 3.9 a	33.0 \pm 0.9 b	1243.1 \pm 46.4 a	369.5 \pm 85.7 b
Fraction acétate d'éthyle	158.6 \pm 3.2 a	01.5 \pm 0.1 b	234.3 \pm 7.8 a	05.1 \pm 0.1 b	786.5 \pm 14.3 a	43.8 \pm 2.1 b
Fraction butanolique	64.8 \pm 1.2 a	01.4 \pm 0.1 b	163.1 \pm 2.3 a	02.0 \pm 0.0 b	283.8 \pm 1.0 a	21.2 \pm 0.8 b
Fraction aqueuse	18.2 \pm 1.0 a	05.9 \pm 0.5 b	57.6 \pm 0.6 a	09.7 \pm 0.5 b	48.1 \pm 2.2 a	52.3 \pm 2.2 a

cours de l'extraction liquide-liquide, les phytomolécules sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité. Par conséquent, le changement de la nature du solvant modifie son efficacité pour extraire un groupe spécifique des antioxydants, ce qui influence les propriétés antioxydantes des extraits (Chernane *et al.*, 2014).

Il semble important de souligner que, selon les procédures d'évaluation adoptées, les valeurs de TEAC estimées par la méthode ORAC sont nettement plus élevées comparativement à celles obtenues par les méthodes DPPH et ABTS. L'explication la plus probable de cette divergence, c'est l'existence d'une hétérogénéité structurale au sein des composés phénoliques, qui se traduit par des propriétés différentes. Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants peut s'opérer selon deux types de mécanismes, la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques) ou la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes). C'est pourquoi, en effectuant des tests de mesure de la cinétique de l'activité antioxydante, on peut générer une évaluation plus globale des propriétés des échantillons étudiés (Popovici *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et de la nature des antioxydants (Falleh *et al.*, 2008).

Nos résultats corroborent avec ceux de Mahjoub *et al.* (2010) qui indiquent une valeur de TEAC des extraits méthanoliques de *Rhus tripartitum* égale de 1.20 mM ET/ mg d'extrait selon l'essai ABTS. Wu *et al.* (2013) rapportent que la capacité antioxydante totale des extraits éthanolique et aqueuse acidifiés par 1% d'HCl de lyophilisats des fruits de *Rhus hirta* L. sont estimées respectivement à 1544 ± 125 et 802 ± 58 $\mu\text{mol ET/g}$ de MS *via* le test ORAC.

II.9. Corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et les capacités antioxydantes des extraits bruts et de leurs différentes fractions

Les données de la régression linéaire des activités antioxydantes et les contenus en composés phénoliques des extraits bruts et de leurs différentes fractions démontrent l'existence d'une excellente corrélation linéaire et positive entre les teneurs en composés phénoliques des différents extraits et leurs pouvoirs antioxydants (Tableau XVIII). Des coefficients de corrélation très hautement significatifs sont établis entre les valeurs de TEAC des tests réalisés (ORAC, DPPH et ABTS) et leurs teneurs en polyphénols ($R= 0.77$, $R= 0.79$ et $R= 0.61$) et en flavonoïdes ($R= 0.95$, $R= 0.86$ et $R= 0.98$) respectivement.

Tableau XVIII. Coefficients de corrélation linéaire (R) entre les teneurs en composés phénoliques et les activités antioxydantes des extraits bruts et de leurs différentes fractions estimées par les tests ABTS, DPPH et ORAC

Composés phénoliques	ABTS		DPPH		ORAC	
	R	P	R	P	R	p
Polyphénols	0.61	<0.0001	0.79	<0.0001	0.77	<0.0001
Flavonoïdes	0.98	<0.0001	0.86	<0.0001	0.95	<0.0001

Les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal. Leur rôle d'antioxydants naturels est dû à leurs propriétés redox qui leur permettent d'agir soit comme des agents réducteurs (donneurs d'hydrogène), piègeurs de l'oxygène singulet ou des chélateurs de métaux (Rice-Evans *et al.*, 1997 ; Ahmadi *et al.*, 2007).

Nos résultats concordent avec ceux Kosar *et al.* (2007) ; Chaabi *et al.* (2008) et Wu *et al.* (2013), qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante.

II.10. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques et de leurs différentes fractions

Les tests antibactériens des extraits des plantes étudiées et de leurs fractions ont été réalisés par la technique de diffusion en milieu gélosé, qui est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques contenant les extraits à tester. Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries en présence des extraits et de leurs fractions et des antibiotiques de référence sont consignés dans la figure 20.

Il ressort des résultats obtenus que presque tous les extraits ainsi que leurs fractions ont eu un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées. L'importance de cet effet varie selon les espèces et selon les fractions (Figure 20).

La fraction butanolique des parties aériennes de *S. tripartita* s'est révélée la plus active, en induisant les plus grandes zones d'inhibition comprises entre 10.33 mm pour *P. aeruginosa* et 17.67 mm pour *E. cloacae*, suivie de l'extrait brut et des fractions acétate d'éthyle et aqueuse (Figure 20A).

La figure 20B fait ressortir une plus forte activité inhibitrice de l'extrait brut de *L. guyonianum*. En effet, la présence de cet extrait induit l'apparition de zones d'inhibition allant de 20 mm pour *P. aeruginosa* à 25 mm pour *E. coli*. Les fractions butanolique, acétate d'éthyle et aqueuse présentent une activité antibactérienne plus faible.

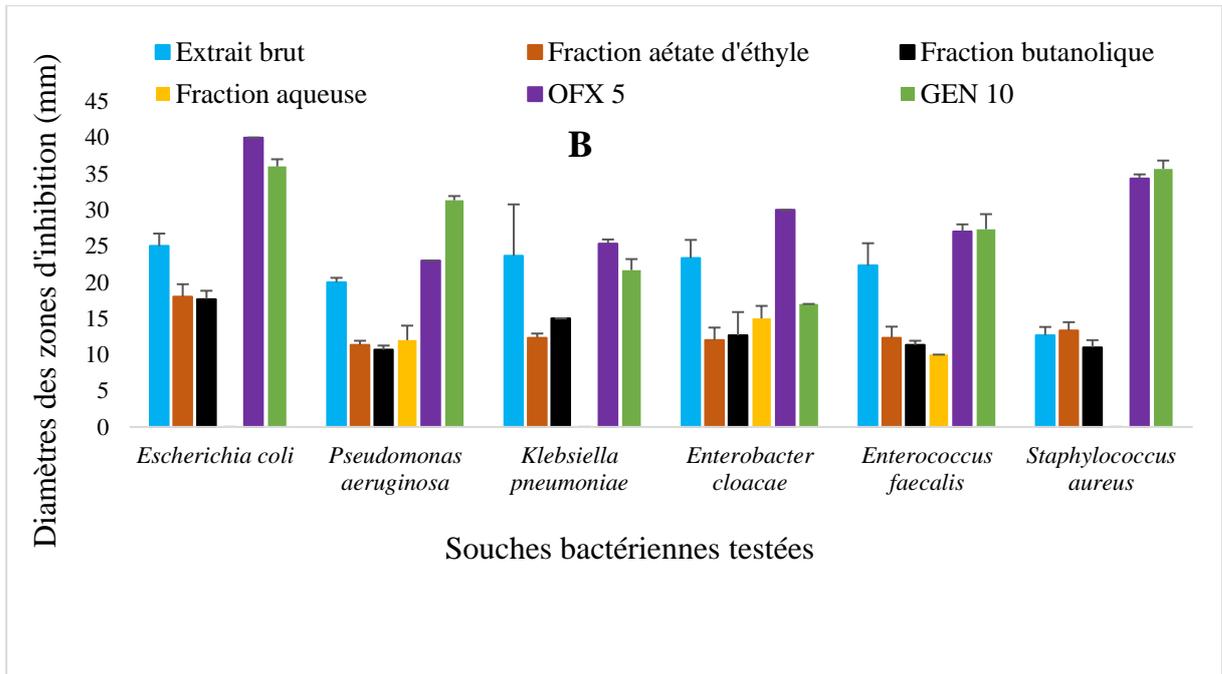
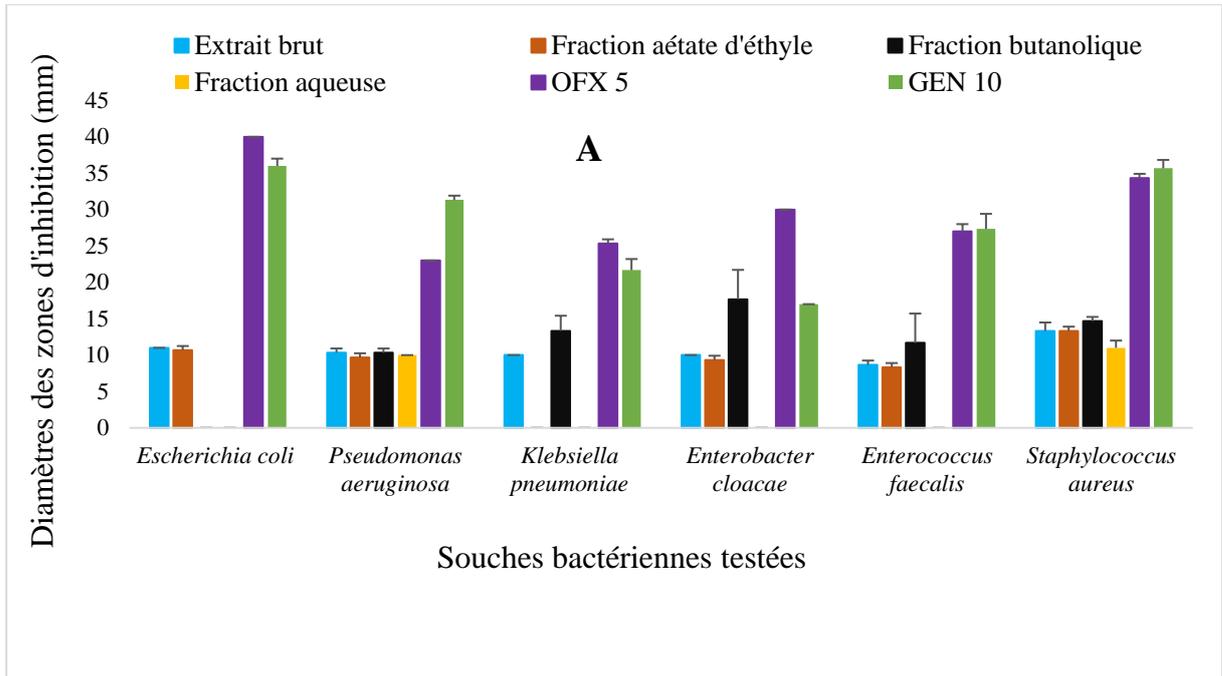


Figure 20. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques et de leurs différentes fractions de *S. tripartita* (A) et *L. guyonianum* (B)

Les fractions organiques possèdent un large spectre d'action contre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif. En revanche, la fraction aqueuse provenant de *S. tripartita* a exprimé des effets inhibiteurs uniquement à l'égard de *S. aureus* et *P. aeruginosa*, alors que celle de *L. guyonianum* a inhibé partiellement *S. aureus*, *E. faecalis* et *E. cloacae*.

Il est important de signaler que les diamètres d'inhibition induits par les deux extraits et leurs fractions demeurent inférieurs à ceux induits par les antibiotiques de référence, ofloxocine (5 µg/ disque) et gentamicine (10 µg/ disque) et ce, pour l'ensemble des souches testées.

Le pouvoir antibactérien observé peut être expliqué par les résultats de l'analyse tri-phytochimique (Tableau VI), qui révèle la présence de différents groupes de phytoconstitués tels que, les stérols, les saponosides et les composés phénoliques dont les propriétés antimicrobiennes ont déjà été démontrées (Amvam *et al.* 1998 ; Cowan, 1999; Kolodziej *et al.*, 1999). Dhaouadi *et al.* (2010) ont rapporté que l'action inhibitrice de ces composés peut être due à l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (Milane, 2014). Toutefois, la différence d'activité entre les extraits des plantes étudiées et leurs fractions est probablement tributaire à la nature des molécules contenues dans chacune d'elles ou à la capacité de ces molécules de diffuser uniformément dans l'agar. En effet, l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (Essawi et Srour, 2000 ; Gertsch, 2011).

L'activité antibactérienne plus importante des extraits de *L. guyonianum*, pourtant moins riche en composés bioactifs que ceux de *S. tripartita*, confirme que le pouvoir inhibiteur d'un extrait dépend de la nature de ses molécules et non de leur concentration.

Parmi les extraits testés et leurs différentes fractions, il ressort que, l'extrait brut de *S. tripartita* semble avoir l'activité antibactérienne la plus remarquable. En effet, les CMI de cet extrait vis-à-vis des souches étudiées varient entre 62.5 et 500 µg/disque, alors que la CMI des fractions organiques est comprise entre 125 et 1000 µg/ disque et celle de la fraction aqueuse ne commence qu'à 250 µg/disque contre seulement deux souches (*S. aureus* et *P. aeruginosa*) et reste indéterminée contre les autres souches (Tableau XIX).

Il apparaît donc que les souches testées (*E. cloacae*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae*) sont plus sensibles à l'extrait brut qu'aux autres fractions. La souche *S. aureus* est

Tableau XIX. Concentration minimale inhibitrice ($\mu\text{g}/\text{disque}$) des extraits méthanoliques et de leurs différentes fractions

Souches testées	<i>S. tripartita</i>								<i>L. guyonianum</i>							
	Extrait brut		Fraction acétate d'éthyle		Fraction butanolique		Fraction aqueuse		Extrait brut		Fraction acétate d'éthyle		Fraction butanolique		Fraction aqueuse	
	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition	CMI	Zone d'inhibition
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	125	7.00±0.00	125	7.33± 0.58	ND	ND	ND	ND	250	12.00±2.00	250	10.33±1.15	1000	17.67±1.15	ND	ND
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	62.5	8.33± 0.58	125	9.33± 0.58	125	8.33± 0.58	250	7.83± 1.04	500	10.00± 0.00	500	7.33± 1.15	250	7.50± 0.71	ND	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	250	7.33± 0.58	500	8.33± 0.58	125	8.67± 0.58	250	7.33± 0.58	250	10.67± 1.15	500	9.33± 0.58	125	8.00± 0.00	500	10.00± 0.00
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	500	8.00± 0.00	500	7.33± 1.15	500	11.33± 0.58	ND	ND	125	8.67± 0.58	250	8.33± 0.58	1000	11.33± 0.58	500	9.00± 0.00
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	250	7.67± 0.58	1000	9.33± 0.58	500	10.67± 1.15	ND	ND	62.5	9.67± 0.58	250	10.00± 0.00	250	8.00± 1.73	125	9.00± 0.00
<i>Klebsella pneumoniae</i> ATCC 700603	250	7.67± 0.58	ND	ND	1000	13.33± 2.08	ND	ND	62.5	9.33± 1.15	500	10.67± 0.58	250	11.50± 0.71	ND	ND

ND: indéterminée.

la plus sensible aux fractions organiques, *E. coli* est la plus sensible à la fraction acétate d'éthyle et *P. aeruginosa* à la fraction butanolique.

L'extrait brut de *L. guyonianum* a également montré le pouvoir inhibiteur le plus important, les CMI de cet extrait varient entre 62.5 et 500 µg/disque, elles sont comprises entre 250 et 500 µg/disque pour sa fraction acétate d'éthyle et 125 et 1000 µg/disque pour sa fraction butanolique. La CMI de la fraction aqueuse commence à 125 µg/disque à l'égard de la souche *E. cloacae* jusqu'à 500 µg/disque contre *E. faecalis* et *P. aeruginosa*. Les autres souches sont insensibles à cette dernière fraction.

La croissance de la souche *E. cloacae* a été inhibée par la plus faible CMI de l'extrait brut (62.5 µg/disque). *E. faecalis* et *E. coli* ont aussi montré une sensibilité à cet extrait, mais à des CMI plus importantes. La CMI ayant provoqué l'inhibition de la première souche est de 125 µg/disque, alors que celle ayant inhibé la seconde est de 250 µg/disque. Ces mêmes souches sont sensibles à la fraction acétate d'éthyle avec une même CMI de 250 µg/disque, c'est aussi la CMI des fractions organiques à l'égard de *E. cloacae*.

K. pneumoniae s'est montré sensible à la plus faible CMI de l'extrait brut (62.5 µg/disque). La plus faible CMI de la fraction butanolique ayant provoqué l'inhibition partielle de *P. aeruginosa* est de 125 µg/disque et celle ayant perturbé la croissance de *E. cloacae* et de *S. aureus* est de 250 µg/disque.

Il est remarquable que la même concentration considérée comme minimale inhibitrice de différentes souches bactériennes soit à l'origine de l'apparition de zones d'inhibition de diamètres relativement très proches. A l'opposé, de faibles CMI peuvent induire des zones d'inhibition plus grandes que des CMI plus importante d'un même extrait. Ceci met en évidence la plus grande efficacité des constituants de cet extrait sur certaines souches par rapport à d'autres.

Les extraits bruts des deux taxons se sont révélés plus efficaces que leurs différentes fractions contre les bactéries testées. Cette efficacité pourrait s'expliquer par la richesse de ces extraits en molécules bioactives et une synergie entre ces molécules. Cette hypothèse est confirmée par Abedini (2013), dans ses études sur l'extrait hydrométhanolique des tiges de *Hyptis atrorubens* Poit. où un effet synergique entre six combinaisons contenant des composés actifs isolés de cette plante, il s'agit de l'association entre l'acide rosmarinique et rosmarinat

de méthyle contre *Corynebacterium* T25-17, l'acide rosmarinique et hypéroside contre *Staphylococcus epidermidis* 5001 et *Mycobacterium smegmatis* 5003, le rosmarinate de méthyle et isoquercétine contre *Staphylococcus warneri* T12A12 et *Staphylococcus lugdunensis* T26A3 et l'acide rosmarinique, rosmarinate de méthyle, isoquercétine et hypéroside contre *Enterococcus faecalis* C159-6.

Les quinolones et les fluoroquinolones sont des antibiotiques bactéricides inhibant de manière sélective la réplication de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes de la classe des topo-isomérases, l'ADN gyrase (pour les Gram négatif) et la topo-isomérase IV (pour les Gram positif) (Hooper *et al.*, 2005).

Les travaux de Belboukhari et Cheriti (2005) effectués sur les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et aqueux des feuilles de *L. feei* contre *P. aeruginosa* ATCC9027, *E. Coli* ATCC4157, *E. faecalis* NTCC8156, *S. aureus* ATCC4157 et *K. pneumoniae* NTCC9528 ont montré que toutes les souches testées sont plus sensibles à l'extrait méthanolique, alors que l'extrait acétate d'éthyle n'est actif que contre *E. coli* et *P. aeruginosa* et l'extrait aqueux n'a aucun effet sur *E. coli* et *K. pneumoniae*.

La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle, butanolique et aqueuse a révélé une variation du contenu en ces métabolites en fonction de la polarité du solvant. La fraction acétate d'éthyle de *S. tripartita* est la plus riche en composés phénoliques, alors que la fraction aqueuse de *L. guyonianum* présente la plus grande quantité de phénols totaux. Les teneurs en flavonoïdes des fractions aqueuse et acétate d'éthyle de cette même espèce sont comparables.

Le potentiel antioxydant des extraits hydrométhanoliques et de leurs différentes fractions a révélé que l'extrait brut de *S. tripartita* est plus actif que celui de *L. guyonianum*. C'est aussi le cas des différentes fractions de *S. tripartita* qui exhibent une plus forte activité antioxydante que celles de *L. guyonianum*.

Les extraits bruts et leurs fractions organiques possèdent une activité antibactérienne à spectre étendu couvrant les Gram positif et les Gram négatif. En revanche, la fraction aqueuse de *S. tripartita* n'a montré d'effet inhibiteur que sur *S. aureus* et *P. aeruginosa*, celle de *L. guyonianum* a conduit à l'apparition de zones d'inhibition de *P. aeruginosa*, *E. faecalis* et *E. cloacae*.

Les souches bactériennes *E. cloacae*, *E. faecalis*, *E. coli* et *K. pneumoniae* ont montré une sensibilité aux extraits bruts des deux taxons, alors que *S. aureus* ne s'est montré sensible qu'à l'extrait brut de *S. tripartita*.

L'activité antibactérienne plus importante des extraits de *L. guyonianum*, pourtant moins riche en composés bioactifs que ceux de *S. tripartita*, confirme que le pouvoir inhibiteur d'un extrait dépend de la nature de ses molécules et non de leur concentration.

Les pouvoirs antioxydant et antibactérien des extraits de *S. tripartita* et *L. guyonianum* pourraient justifier le bien-fondé de certaines vertus thérapeutiques accordées à ces plantes en médecine traditionnelle. Ces plantes pourraient alors trouver une application dans le traitement des maladies infectieuses telles que, les infections urogénitales, les syndromes dysentériques et les plaies et pourraient également jouer un rôle dans la prévention des cancers, des diabètes, des maladies cardiovasculaires et même des maladies dégénératives, qui sont favorisées par la présence de radicaux libres dans l'organisme.

*Conclusion générale
et perspectives*

Les ressources naturelles du règne végétal restent la source fiable et capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. À l'aide de la médecine traditionnelle et l'ethnobotanique, la recherche des molécules bioactives dans les extraits de plantes va mener à leur utilisation comme alternative des molécules de synthèse.

Le présent travail s'est proposé de quantifier le statut ionique, les métabolites primaires et les métabolites secondaires, d'élucider la constitution phénolique et d'évaluer les pouvoirs antioxydants et antibactériens de deux plantes médicinales sahariennes, dans le but de valoriser et de rationaliser leurs usages traditionnels.

L'enquête ethnobotanique sur six plantes médicinales (*Atriplex halimus* L., *Searsia tripartita* (Ucria) Moffett, *Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss., *Haplophyllum tuberculatum* Juss., *Tamarix gallica* L. et *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch.) menée dans la région de Ouargla a révélé que les espèces investiguées sont essentiellement utilisées dans le traitement des maladies digestives, dermiques et même nerveuses. Ces pathologies sont surtout traitées par les feuilles qui constituent l'organe le plus utilisé pour la préparation des remèdes phytothérapeutiques. Elles sont administrées sous forme d'extraits aqueux et plus rarement sous forme de poudre. Ces taxons sont utilisés seuls ou associés à des ingrédients ou à d'autres plantes.

Les inductions thérapeutiques pourraient se justifier par la richesse des espèces étudiées en métabolites secondaires, qui constituent la base scientifique de l'utilisation traditionnelle de ces plantes. Dans ce sens, le criblage phytochimique des poudres issues des parties aériennes de nos plantes a révélé la présence des polyphénols et des saponosides et l'absence des alcaloïdes, des anthocyanes et des dérivés anthracéniques libres et O combinés. La présence des autres phytoconstituants (leucoanthocyanes, catéchols et dérivés anthracéniques C et G combinés), varie d'une espèce à une autre.

L'étude ethnobotanique et le criblage phytochimique nous ont permis de sélectionner l'Anacardiacee *S. tripartita* et la Plumbaginacée *L. guyonianum* pour une étude phytochimique et biologique plus approfondie. *S. tripartita* est bien réputée par son action efficace dans la thérapie de l'appareil digestif et *L. guyonianum* est principalement destinée au traitement des troubles dermiques. Ces espèces sahariennes sont exposées aux différents stress environnementaux induisant un stress oxydatif, susceptible d'orienter les voies métaboliques de ces espèces vers la synthèse de constituants naturellement pourvus de propriétés antioxydantes.

L'évaluation des contenus inorganique et organique des plantes étudiées révèle leur variation d'une espèce à l'autre. Les statuts ioniques des espèces étudiées sont comparables. Ils se caractérisent par de fortes teneurs en sodium et en chlorure, des faibles teneurs en calcium et des quantités comparables en sulfates. Nos plantes ont aussi l'aptitude à accumuler des quantités importantes de solutés organiques. La proline et les carbohydrates et polyols sont fortement retrouvés chez *S. tripartita*. *L. guyonianum* s'est révélée la plus riche en acides organiques.

L'estimation de la composition desdites espèces en osmolytes et osmotocums mène à déduire que l'importance de ces composés est liée à leur meilleure capacité à limiter les dommages oxydatifs, d'où l'importance de la valorisation de ces plantes comme source naturelle de biosynthèse d'antioxydants.

L'extraction des composés phénoliques d'une plante est une étape cruciale pour la valorisation de ses principes actifs, elle dépend particulièrement de la nature du solvant qui préserve leurs propriétés biologiques. Le méthanol s'est avéré le meilleur solvant pour l'extraction de ces métabolites secondaires à partir de nos plantes.

Les profils chromatographiques des composés phénoliques extraits de nos espèces a révélé une plus grande diversité des molécules détectées dans l'extrait de *L. guyonianum*, bien que ce dernier soit le moins pourvu en composés phénoliques.

Les extraits bruts ont des activités remarquables à réduire le molybdène et à piéger les radicaux libres DPPH et ABTS. La meilleure activité est obtenue en piégeant le radical ABTS. Ces activités sont positivement corrélées avec les contenus phénoliques de ces extraits qui semblent être les principaux contributeurs à cette capacité antioxydante.

La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits hydrométhanoliques et leurs fractions acétate d'éthyle, butanolique et aqueuse a révélé une variation du contenu en ces métabolites en fonction de la polarité du solvant. La fraction acétate d'éthyle de *S. tripartita* est la plus riche en composés phénoliques, alors que la fraction aqueuse de *L. guyonianum* présente la plus grande quantité de phénols totaux. Les teneurs en flavonoïdes des fractions aqueuse et acétate d'éthyle de cette même espèce sont comparables.

Le pouvoir antioxydant des extraits hydrométhanoliques et de leurs différentes fractions évaluée par le testes ORAC, DPPH et ABTS a révélé que l'extrait brut de *S. tripartita* est plus actif que celui de *L. guyonianum*. C'est aussi le cas des différentes fractions de *S. tripartita* qui exhibent une plus forte activité antioxydante que celles de *L. guyonianum*.

Les extraits bruts et leurs fractions organiques possèdent une activité antibactérienne à spectre large couvrant les Gram positif et les Gram négatif. Cette activité est plus importante en présence des fractions et de l'extrait brut de *L. guyonianum* que de ceux de *S. tripartita*. En

revanche, la fraction aqueuse de *S. tripartita* n'a montré d'effet inhibiteur que sur *S. aureus* et *P. aeruginosa*, celle de *L. guyonianum* a conduit à l'apparition de zones d'inhibition de *P. aeruginosa*, *E. faecalis* et *E. cloacae*.

Les souches bactériennes *E. cloacae*, *E. faecalis*, *E. coli* et *K. pneumoniae* ont montré une sensibilité aux extraits bruts des deux taxons, alors que *S. aureus* ne s'est montré sensible qu'à l'extrait brut de *S. tripartita*.

L'activité antibactérienne plus importante des extraits de *L. guyonianum*, pourtant moins riche en composés bioactifs que ceux de *S. tripartita*, confirme que le pouvoir inhibiteur d'un extrait dépend de la nature de ses molécules et non de leur concentration.

Les résultats obtenus constituent une justification scientifique de l'usage traditionnel des plantes étudiées et confirment la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreuses maladies. Ils sont encourageants mais ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances biologiquement actives. Il serait par conséquent intéressant de continuer cette étude dans le but :

- d'isoler les molécules responsables des différentes activités biologiques de ces plantes, afin de détecter leurs modes d'action et les interactions éventuelles entre elles et de confirmer ou d'infirmer les activités attribuées à ces plantes ;
- d'étudier la toxicité des molécules purifiées sur différents modèles biologiques, afin de prévenir tout effet secondaire indésirable ;
- d'élargir le panel des tests biologiques afin de mettre en évidence d'autres activités antidiabétique, anti-inflammatoire, anticancéreuse ou autres.

*Références
bibliographiques*

Auteurs:

1. ABD EL-SALAM I.M., 2015- Phytoconstituents and the study of antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of *Rhus tripartita* growing in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(2): 276-281.
2. ABE E., DELYLE S.G., ALVAREZ J.C., 2010- Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés Liquid-liquid extraction : theory, applications and difficulties *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2) : 51- 59.
3. ABEDINI A., 2013- Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. These de doctorat, Spécialité : Pharmacognosie, Université Lille Nord de France, 201p.
4. ADAMS M.A., CHEN Z.L., LANDMAN P., COLMER T.D., 1999- Simultaneous determination by capillary gas chromatography of organic acids, sugars, and sugar alcohols in plant tissue extracts as their trimethylsilyl derivatives. *Anal Biochem* 266: 77- 84.
5. ADJANAHAUN E., AHYI M.R.A., AKE-ASSI L., ELEWUDE J.A., DRAMANE K., FADOJU S.O., GBILE Z.O., GOUDOLE E., JOHNSON C.L.A., KEITA A., MORAKINYO O., OJEWOLE J.A.O., OLATUNJI A.O., SOFOWORA E.A., 1991- Traditional medicine and pharmacopoeia. In: *Ethnobotanical and Floristic studies in Western Nigeria*. Organization of African Unity's Scientific Technical and Research Commission, Lagos. Nigeria. 420 p.
6. AHMADI F., KADIVAR M., SHAHEDI M., 2007- Antioxydant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model food systems. *Food chemistry*, 105 (1) : 57- 64.
7. AHMED K.M., KANDIL F.E., MABRY T.J., 1999- An anticancer tannin and other phenolics from *Limonium axillare* (Fam. Plumbaginaceae). *Asian Journal of Chemistry*, 11(1): 261- 63.
8. AJIBESIN K.K., EKPO B.A., BALA D.N., ESSIEN E.E., ADESANY S.A., 2008- Ethnobotanical survey of Akwa Ibom State of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 115: 387- 408.
9. AL-SAID M.S., TARIQ M., AL-YAHYA M.A., RAFATULLAH S., GINNAWI O.T., AGEEL A.M., 1990- Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 28 (3) : 305- 312.
10. AMAROWICZ R., PEGG R.B., 2006- Content of proanthocyanidins in selected plant extracts as determined *via n*-butanol/HCl hydrolysis and a colorimetric assay or by HPLC– A short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15/56 (3) : 319- 322.

11. AMVAM ZOLLO P.H., BIVITI L., TCHOUMBOVGNANG F., MENUT C., LAMATV G., BOUCHET P.H., 1998- Aromatic plants of Tropical Central Africa, Part XXXII Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. *Flavour and Fragrance Journal*, 1 : 107- 114.
12. ANISZEWSKI T., 2007- Alkaloids - Secrets of Life, Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role. 1st Edition, Elsevier. 334p.
13. ANIYA Y., MIYAGI C., NAKANDAKARI A., KAMIYA S., IMAIZUMI N., ICHIBA T., 2002- Free radical scavenging action of the medicinal herb *Limonium wrightii* from the Okinawa islands. *Phytomedicine*, 9 (3): 239- 44.
14. ANTHONY J.P., FYFE L., SMITH H., 2005- Plant active components - a resource for antiparasitic agents?. *Trends Parasitol*, 21 (10) :462- 468.
15. ANYINAM C., 1995- Ecology and ethnomedicine: exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. *Social Science and Medicine*, 4: 321- 329.
16. ARUOMA O.I., 1994- Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 32: 671-683.
17. BAHASSAN A., ZIDANE L., EL YACOUBI H., ROCHDI A., 2014- Ethnobotanique et taxonomie des plantes médicinales utilisées pour le traitement des pathologies du système digestif à Hadramaout (Yémen). *Phytothérapie*, 12 (6) : 399- 416.
18. BAKIRI N., BEZZI M., KHELIFI L., KHELIFI-SLAOUI M., 2016- Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale *Peganum harmala* L. dans la région de M'sila. *Revue Agriculture*, 1 : 38- 42.
19. BALUNAS M.J., KINGHORN A.D., 2005- Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78 (5) : 431- 441.
20. BANGOOD S., 1984- Chemical composition of major date cultivars grown in the United Arab Emirates. *Date Palm Journal*, 3: 381- 394.
21. BASHIR A.K., ABDALLA A.A., WASFI I.A., HASSAN E.S., AMIRI M.H., CRABB T.A., 1994- Flavonoids of *Limonium axillare*. *International Journal of Pharmacognosy*, 32 (4) : 366- 72.
22. BAUDIN B., 2006- Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT Cardio*, 2 (1) : 43- 52.
23. BEKRO Y.A., BEKRO J.A.M., BOUA B.B., TRA B.F.H., EHILE E.E., 2007- Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences et Nature*, 4(2) : 217- 225.

24. BELBOUKHARI N., CHERITI A., 2005-Antimicrobial Activity of Aerial Part Crude Extracts from *Limoniastrum feei*. Asian Journal of Plant Sciences, 4(5) : 496- 498.
25. BERGER M.M., 2006- Nutritional manipulation of oxydative stress: review of the evidence. Nutrition Clinique et Metabolisme, 20 : 48- 53.
26. BIGENAKO-POLYGENIS M.J., LEJOLY J., 1990- La Pharmacopée Traditionnelle au Burundi. In : Ansay M., Thill G., (eds). Pesticides et médicaments en santé animale. Rencontre interdisciplinaire Nord-Sud de technologies. Presses Univversitaires de Namur : 425- 442.
27. BONNEFONT-ROUSSELOT D., THEROND P., DELATTRE J., 2003- Radicaux libres et anti-oxydants. In : DELATTRE J., DURAND G., JARDILLIER J.C., (eds). Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences. Flammarion (Paris) : 59- 81.
28. BOUA B.B., BEKRO Y.A., MAMYRBEKOVA-BEKRO J.A., WACOTHON K.C., EHILE E.E., 2008- Assessment of sexual stimulant potential of total flavonoids extracted from leaves of *Palisota hirsuta* Thumb. K. Schum (Commenilaceae). Europan Journal of Scientific Research, 22(4) : 533- 538.
29. BOUDY P., 1952- Guide du forestier en Afrique du nord. La Maison Rustique - Librairie Agricole, Horticole, Forestière et Ménagère, Paris, 505 p.
30. BOULAHBAL F. 1993.- Microbiologie S1 Clinique. Office des Publications Universitaires (OPU), Alger.
31. BOURGOU S., SERAIRI BEJI R., MEDINI F., KSOURI R., 2016- Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. Journal of New Sciences, 28(12): 1649- 1655.
32. BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C., 1995- Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT- Food Science and Technology, 28 (1): 25- 30.
33. BRUNETON J., 1993- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, 915 p.
34. BRUNETON J., 1999- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ème} édition. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, 915p.
35. BRUNETON J., 2008- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ème} Edition, Lavoisier Technique et Documentation, Paris, 1120 p.
36. BRUNETON J., 2009- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition. Lavoisier, Paris, 1288 p.

37. BRUNETON J., ROUX D., CATIER O., 2007- Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes Médicinales ; 3^{ème} Edition. Botanique, pharmacognosie phytothérapie, Groupe Liaisons, 141p.
38. CALU G., 2006- Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes modèles : *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*. Trends in Plant Science: 1-8.
39. CALZADA F., YEPEZ-MULIA L., AGUILAR A., 2006- *In vitro* susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. Journal of Ethnopharmacology, 108 : 367-370.
40. CANALES M., HERNANDEZ T., CABALLERO J., ROMO DE VIVAR A., AVILA G., DURAN A., LIRA R., 2005- Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán, Puebla, México. Journal of Ethnopharmacology, 97 (3) : 429- 439.
41. CAO G., CULTER R.G., 1993- High concentrations of antioxidants may not improve defense against oxidative stress. Archives of Gerontology Geriatrics, 17 : 189- 201.
42. CHAABI M., BEGHIDJA N., BENAYACHE S., LOBSTEIN A., 2008- Activity-guided isolation of antioxidant principles from *Limoniastrum feei* (Girard) Blatt. Z. Naturfo. C., 63: 801- 807.
43. CHAHBAR S., BELKHODJA M., 2016- Effet du déficit hydrique sur certains osmolytes chez cinq variétés de blé dur (*Triticum durum*). International Journal of Innovation and Applied Studies, 17 (3) : 757-767.
44. CHEHMA A., DJEBAR M.R., 2008- Les espèces médicinales spontanées du sahara septentrional algérien: distribution spatitemporelle et étude ethnobotanique. Revue synthèse, (17) : 94- 99.
45. CHERITI A., BELBOUKHARI M., BELBOUKHARI N., DJERADI H., 2012- Phytochemical and biological studies on *Launaea* Cass. genus (Asteraceae) from Algerian Sahara. Current Topics in Phytochemistry, 11 : 67- 80.
46. CHERITI A., BELBOUKHARI N., HACINI S., 2005- Savoir traditionnel et valorisation des plantes médicinales du Sud-ouest Algérien. Annales de l'Université de Bechar, 1 : 1112- 6604.
47. CHERITI A., BELBOUKHARI N., SEKKOUM S., HACINI S., 2006- Plants of Algerian semi-arid regions used for the treatment of gastro-intestinal disorders. Journal Algerien des Regions Arides, 5: 07- 10.

48. CHERNANE H., MANSORI M., LATIQUE S., EL KAOUA M., 2014- Evaluation of antioxidant capacity of methanol extract and its solvent fractions obtained from four Moroccan macro algae species. *European Scientific Journal*, 10 (15): 35- 48.
49. CHIRINOS R., ROGEZ H., CAMPOS D., PEDRESCHI R., LARONDELLE Y., 2007- Optimisation of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz and Pavón) tubers; *Journal of Separation and Purification Technology*. 55 (2) : 217- 225.
50. CHOI Y.M., NOH D.O., CHO S.Y., Suh H.J., Kim K.M., Kim J.M., 2006- Antioxidant and antimicrobial activities of Propolis from several regions of Korea. *LWT- Food Science and Technology*, 39: 756- 761.
51. COWAN M.M., 1999- Plants products as antimicrobial agents. *Clinicat Microbiology Reviews*, 12 (4): 564- 582.
52. CRONQUIST A., 1988- *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. Second Edition. Bronx, The New York Botanical Garden, 555p.
53. D'ABROSCA B., PACIFICO S., CEFARELLI G., MASTELLONE C., FIORENTINO A., 2007- 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonid contents and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 104 (4) : 1333-1337.
54. DAVI H., 2015- Impact des changements climatiques sur les écosystèmes forestiers de la région méditerranéenne. *Innovations Agronomiques*, 47 : 1- 16.
55. DE OLIVEIRA S., DE SOUZA G. A., ECKERT C. R., SILVA T. A., SOBRAL E. S., FAVERO O.A., FERREIRAM. J. P., ROMOFF P., BAADER W. J., 2014- Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Quimica Nova*, 37 (3) : 497- 503.
56. DHAOUADI K., RABOUDI F., ESTEVAN C., BARRAJON E., VILANOVA E., HAMDAOUI M., FATTOUCH S., 2010- Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (59): 402-406.
57. DI CARLO G., MASCOLO N., IZZO A.A., CAPASSO F., 1999- Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*, 65 (4) : 337- 353.
58. DJERIDANE A., YOUSFI M., NADJEMI B., BOUTASSOUNA D., STOCKER P., VIDAL N., 2006- Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4) : 654- 660.

59. DOHOU N., YAMNI K., TAHROUCH S., HASSANI L.M.I., A. BODOC, GMIRA N., 2003- Screening phytochimique d'une endémique Ibero-marocain, *Thymelaea lytroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142: 61- 78.
60. EDZIRI H, MASTOURI M, AOUNI M, VERSCHAEVE L., 2012- Polyphenols content, antioxidant and antiviral activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* growing in Tunisia. South African Journal of Botany, 80:104-109.
61. EL ALAMI A., LOUBNA F., CHAIT A., 2016- Etude ethnobotanique sur les plantes médicinales spontanées poussant dans le versant nord de l'Atlas d'Azilal (Maroc). Algerian Journal of Natural Products, 4 (2) : 271- 282.
62. EL RHAFFARI L., ZAID A., 2002- Pratique de la phytothérapie dans le Sud-est du Maroc (Tafilalet) : un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. In : FLEURENTIN J., PELT J.M., MAZARS G., LEJOSNE J.C., CABALION PIERRE., (eds). Des sources du savoir aux médicaments du futur : Actes du 4^{ème} Congrès Européen d'Ethnopharmacologie. Paris, 293- 318.
63. ESSAWI T., SROUR M., 2000- Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal Ethnopharmacol, 70(3):343-9
64. EVANS, C. W., 2009- Alkaloids. In: Trease and Evans' pharmacognosy, 16th edition: 353-415.
65. FABRICANT D.S., FARNSWORTH N.R., 2001- The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environmental Health Perspectives, 109: 69- 75.
66. FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLY C., 2008- Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331 : 372- 379.
67. FARNSWORTH N.R., AKERELE O., BINGEL A.S., SOEJARTO D.D., GUO Z., 1986- Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé, 64 (2) : 159- 164.
68. FAVIER A., 2003- Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité Chimique (11-12) : 108- 115.
69. FRIEDRICH W., EBERHARDT A., GALENSA R., 2000- Investigation of proanthocyanidins by HPLC with electrospray ionization mass spectrometry. European Food Research and Technology, 211 (1): 56- 64.
70. GERTSCH J., 2011- Botanical drugs, synergy, and network pharmacology: forth and back to intelligent mixtures, *Planta Medica*, 77: 1086-1098.

71. GOUDABLE J., FAVIER A., 1997- Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11 (2) : 115- 120.
72. GULCIN I., 2012. Antioxidant activity of food constituents : an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3) : 345-391.
73. GURIB-FAKIM A., 2006- Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27 (1) : 1- 93.
74. HADACEK F., 2002- Secondary metabolites as plant traits: Current assessment and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4) : 273- 322.
75. HADJADJ S., DJERROUDI O., BISSATI S., 2011- Etude comparative des mécanismes biochimiques de tolérance au stress salin de deux espèces d'*Atriplex* : *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* (Purch) Nutt. *Algerian Journal of Arid Environment*, 1(2) : 3- 10.
76. HADJAJDI-BENSEGHIER F., DERRIDJ A., 2013- Relative importance of the exploitation of medicinal plants in traditional medicine in the Northeastern Sahara. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25 (9) : 657- 665.
77. HAMBURGER M., HOSTETTMANN K., 1991- Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, 30 (12) : 3864- 3874.
78. HAMDOON A.M., SALMIN K.A., AWAD G.A., 2013- Antioxidant and quantitative estimation of phenolic and flavonoids of three halophytic plants growing in Libya. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (3) : 89- 94.
79. HARMAN D., 1956- Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3) : 298- 300.
80. HARTMANN T., 2007- From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68 : 2831- 2846.
81. HEINRICH M., ANKLI A., FREI B., WEIMANN C., STICHER O., 1998- Medicinal Plants in Mexico, Healer's Consensus and Cultural Importance. *Social Science and Medecine*, 47 (11) : 1859- 1871.
82. HELLER R., ESNAULT R., LANCE C., 1998- Physiologie végétale. Tome1. Nutrition. 6^{ème} édition, DUNOD, Paris : 134- 135.
83. HERNANDEZ T., CANALES M., AVILA J.G., DURAN A., CABALLERO J., ROMO DE VIVAR A., LIRA R., 2003- Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology*, 88 (2-3) : 181- 188.

84. HOOPER DC., 2005- Quinolones. In : MANDELL G.L., BENNETT J.E., DOLIN R., eds. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Philadelphia : Elsevier Churchill Livingstone : 451-73.
85. ILOKI-ASSANGA S.B., LEWIS-LUJAN L.M., LARA-ESPINOZA C.L., GIL-SALIDO A.A., FERNANDEZ-ANGULO D., RUBIO-PINO J.L., HAINES D.D., 2015- Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. BMC Research Notes, 8 (396): 1- 14.
86. JANSEN P.C.M., 2005- *Pterocarpus soyauxii* Taub (PROTA), Network Office Europe, Wageningen University, P.O. Box 341, 6700 AH Wageningen, Netherlands.
87. JDAIDI N., HASNAOUI B., 2016- Eude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales au Nord-ouest de la Tunisie : cas de la communauté d'Ouled Sedra. Journal of Advanced Research in Science and Technology, 3(1) : 281- 291.
88. JONES N.P., ARNASON J.T., ABOU-ZAID M., AKPAGANA K., SANCHEZ-VINDAS P., ET SMITH M.L., 2000- "Antifungal activity of extracts from medicinal plants used by First Nations Peoples of eastern Canada". Journal of Ethnopharmacology, 73 (1-2) : 191- 198.
89. JUBAULT M., HAMON C., GRAVOT A., LARIAGON C., DELOURME R., MANZANARES-DAULEUX M.J., 2008- Differential regulation of root arginine catabolism and polyamine metabolism in clubroot-susceptible and partially resistant *Arabidopsis* genotypes. Plant Physiology, 146 (4) : 2008- 2019.
90. KATTAN D., MILLET M., ELMOLL A., 2012- Développement de méthodes d'analyse pour la détermination de molécules polaires dans des matrices atmosphériques par GC-MS couplée à une étape de dérivation. Lebanese Science Journal, 13(2) :117- 136.
91. KIM J.S., KWON Y.S., CHUN W.J., KIM T.Y., SUN J., YU C.Y., KIM M.J., 2010- *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, antimicrobial and α -glucosidase inhibitory effect. Food Chemistry, 120 (2): 539- 543.
92. KLIEBENSTEIN D.J., 2004- Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. Plant Cell and Environment, 27 (6) : 675- 684.
93. KOEHLIN-RAMONATXO C., 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition Clinique et Métabolisme, 20 (4) : 165- 177.

94. KOLODZIEJ H., KAYSER O., LATTE P.K., FERREIRA D., 1999- Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution broth method. *Planta Medica*, 65 (5) : 444- 446.
95. KOSAR M., BOZAN B., TEMELLI F., BASER K.H.C., 2007- Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts. *Food Chemistry*, 103 (3): 952- 959.
96. KR H., 2011- Physico-chimie des eaux, Scribd Editor. 19p.
97. KSOURI R., MEGDICHE W., FALLEH H., TRABELSI N., BOULAABA M., SMAOUI A., ABDELLY C., 2008- Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, 331 (11): 865- 873.
98. KUTCHAN T.M., 2001- Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant Physiology*, 125 : 58- 60.
99. LAMARTI A., BADOUC A., DEFFIEUX G., CARDE J.P., 1994- Biogénèse des monoterpènes II- La chaîne isoprénique. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 133: 79- 99.
100. LAZUREVSKII G.V., TERNTIEVA I.V., SHAMSHURINE A.A., 1966- Prakticheskie raboty po khimii prirodnykh soedinenii (traduit du russe), Moscou, 335 p.
101. LE HOUEROU H.N., 1990- Définition et limites bioclimatiques du Sahara. *Sécheresse*, 1(4) : 246- 259.
102. LEHUCHER-MICHEL M.P., LESGARDS J.F., DELUBAC O., STOCKER P., DURAND P., PROST M., 2001- Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse Medicale*, 30 (21) : 1076- 1081.
103. LEIFERT W.R., ABEYWARDENA M.Y., 2008. Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition Research*, 28(11) : 729- 737.
104. LEPENGUE A.N., MOUARAGADJA I., AKE S., M'BATCHI B., 2012- Quelques aspects biochimiques de la réaction de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au stress salin. *Journal of Applied Biosciences*, 49: 3452- 3458.
105. LIEN E.J., REN S., BUI H.H., WANG R., 1999- Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (3- 4) : 285-294.
106. LISIEWSKA Z., KMIĘCIK W., KORUS A., 2006- Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 : 134- 140.

107. LISTER, E., WILSON, P., 2001- Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity (personal communication). Crop Research Institute: Lincoln, New Zealand.
108. LORI L., DEVAN N., 2005- Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec VIH. Anadian AIDS Treatment Information Exchange, 54 p.
109. MACHEIX J.J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C., 2005- Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, 1^{er} Edition, Presses polytechniques et universitaires romandes (Italie), 192 p.
110. MAHJOUB M.A., AMMAR S., EDZIRI H., MIGHRI N., BOURAOUI A., MIGHRI Z., 2010- Anti-inflammatory and antioxidant activities of some extracts and pure natural products isolated from *Rhus tripartitum* (Ucria). Medicinal Chemistry Research, 19(3): 271- 282.
111. MAIRE R., 1933- Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central. Mémoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord. Mission du Hoggar II, Alger, 361 p.
112. MAIZA K., BRAC DE LA PERRIERE R.A., HAMMICHE V., 1993- Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. Actes du 2^{ème} Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11e Conférence Internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg. March, 24-27 : 169- 171.
113. MARTIN S., ANDRIANTSITOHAINA R., 2002- Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie, 51 : 304- 315.
114. MICHEL T., 2011- Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse doctorat Université Orléans. 289 p.
115. MILANE H., 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, thèse de doctorat, Strasbourg.
116. MOHAMMEDI Z., ATIK F., 2011- Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. Inter. J. Pharma. Bio. Sci. 2 : 609- 615.
117. MONTAGNIER L., OLIVIER R., PASQUIER C., 1998- Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases, Marcel Dekker, New York : 409- 427.

118. MURRAY A.P., RODRIGUEZ S., FRONTERA M.A., TOMAS M.A., MULET M.C., 2004- Antioxidant metabolites from *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. *Z. Naturforsch C.*, 59 (7-8): 477- 480.
119. N'GUESSAN K., KADJA B., N'ZIRIHI G., TRAORE D., AKE-ASSI L., 2009- Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Aqboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences et Nature*, 6 (1) : 1-5.
120. NACZK M., SHAHIDI F., 2004- Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A.*, 1054 (1-2) : 95- 111.
121. NADEMBEGA P., BOUSSIM J.I., NIKIEMA J.B., POLI F., ANTOGNONI F., 2011- Medicinal plants in Baskoure, Kourittenga Province, Burkina Faso: An ethnobotanical study. *Journal of Ethnopharmacology*. 133(2) : 378- 395.
122. NDJOUONDO G.P., NGENE J.P., NGOULE C.C., KIDIK POUKA M.C., NDJIB R.C., DIBONG S.D., MPONDO MPONDO E., 2015- Inventaire et caractérisation des plantes médicinales des sous bassins versants Kambo et Longmayagui (Douala, Cameroun). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 25 (3): 3898- 3916.
123. NEWMAN D.J., CRAGG G.M., 2012- Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75 (3) : 311- 335.
124. NGENE J.P., NGOULE C.C., KIDIK POUKA C.M., MVOGO OTTOU P.B., NDJIB R.C., DIBONG S.D., MPONDO MPONDO E., 2015- Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 88 : 8194- 8210.
125. OLIVIER M., SANOU L., 2001- Rôle des femmes et des tradipraticiens dans la conservation et la valorisation de la biodiversité dans le Sud-ouest du Burkina Faso. In : *Pratiques culturelles, la sauvegarde et la conservation de la biodiversité en Afrique de l'Ouest et du Centre. Acte du Séminaire-Atelier de Ouagadougou (Burkina Faso) du 18 au 21 juin*, Zoom Editions : 69- 88.
126. OU B., HAMPSCH-WOODILL M., PRIOR R.L., 2001- Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49 (10): 4619- 4626.
127. OULD EL-HADJ M.D., HADJ-MOHAMMED M., ZABEIROU H., 2003- Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional Est). *Courrier du Savoir*, 3:47- 51.
128. OZENDA P., 1983- *Flore et végétation du Sahara*. 3^{ème} édition. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 622 p.

129. OZENDA P., 1991- Flore et végétation du Sahara. 3^{ème} édition. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 662 p.
130. PENCHEV P., ANGELOV G., CONDORET J.S., 2010- Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). Revue de Génie Industriel, 5 :115- 123.
131. PERE J.P., 1999- Techniques spectroscopiques en biochimie analytique. Centre Régionale de Documentation Pédagogique d'Aquitaine, 150p.
132. PERRY L.M., 1980- Medicinal plants of East and Southeast Asia: Attributed properties and uses. The MIT Press, 632 p.
133. PEYRAT-MAILLARD M.N., CUVELIER M.E., BERSET C., 2003- Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation : synergistic and antagonistic effects. Journal of the American Oil Chemists' Society, 80 : 1007-1012.
134. PITMAN M.G., 1981- Ion uptake. In: Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Paleg L.G., Aspinall D. Academic Press, Sydney : 71- 96.
135. PLAZONIC A., BUCAR F., MALES Z., MORNAR Z., NIGOVIC B., KUJUNDZIC N., 2009- Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpos* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. Molecules, 14 (7) : 2466-2490.
136. POKORNY J., YANISHLIEVA N., GORDON M., 2001- Antioxydants in food. 1st edition. Practical Applications. Woodhead Publishing Limited. Cambridge England, 400 p.
137. POPOVICI C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B., 2009- Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, 4 : 25- 39.
138. PORTER L.J., HRSTICH L.N., CHAN B.G., 1986- The conversion of procyanidins and prodelfinidins to cyanidin and delphinidin. Phytochemistry, 25 (1): 223- 230.
139. PRADINES B., DORMOI J., BRIOLANT S., BOGREAU H., ROGIER C., 2010- La résistance aux antipaludiques. Revue Francophone des Laboratoires, 422(422) : 51- 62.
140. PRIETO P., PINEDA M., AGUILAR M., 1999- Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. Analytical Biochemistry, 269: 337- 341.
141. PRIOR R.L., WU X., SCHAICH K., 2005- Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural Food Chemistry, 53 (10): 4290- 4302.

142. QUETTIER-DELEU C., GRESSIER B., VASSEUR J., DINE T., BRUNET C., LUYCKX M., CAZIN M., CAZIN J.C., BAILLEUL F., TROTIN F., 2000- Phenolic compounds and antioxidant activities of buckweat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72 (1): 35- 42.
143. QUEZEL P., 1978- Peuplement végétal des hautes montagnes de l'Afrique du nord. *Encyclopédie biogéographique et écologique*. Ed. Paul Lechevalier, Paris, 463 p.
144. RAHAL K., 2005- Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4^{ème} Edition. Institut Pasteur d'Algérie- Alger, 95 p.
145. RAKOTOMALALA R., 2015- Analyse de corrélation. Étude des dépendances - Variables quantitative. Université Lumière Lyon 2. 105p.
146. RAMASSAMY C., 2006- Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *European Journal of Pharmacology*, 545(1) : 51- 64.
147. RATES S.M.K., 2001- Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39 : 603- 613.
148. RATHINASABAPATHI B., 2000- Metabolic engineering for stress tolerance: installing osmoprotectant synthesis pathways. *Annals of Botany*, 86: 709-716.
149. RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE-EVANS C., 1999- Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9-10): 1231- 1237.
150. RICE-EVANS C.A., MILLER N.J., PAGANGA G., 1997- Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 4: 304- 309.
151. ROESSNER U., WAGNER C., KOPKA J., TRETHERWEY R.N., WILLMITZER L., 2000- Simultaneous analysis of metabolites in potato tuber by gas chromatography- mass spectrometry. *The Plant Journal*, 23 (1) : 131-142.
152. ROUMY V., 2007- Etude phytochimique de plantes Amazoniennes d'activité antiplasmodiale, dont *Pseudoxandra cuspidata* Maas et *Tapirira guianensis* Aubl. Thèse de doctorat en sciences des agroressources, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 195p.
153. ROUVILLOIS-BRIGOL M., 1975- Le pays de Ouargla (Sahara Algérien). Variation et organisation d'un espace rural en milieu désertique. Publication. Département. Géographe. Université, Paris, Sorbonne, 316 p.
154. SAAD A., CHERITI A., BELBOUKHARI N., 2006- L'apport des NTIC à l'Ethnopharmacologie du Sud Algérien. *Annales de l'Université de Bechar*, 2 : 149- 154.

155. SAKIHAMA Y., COHEN M.F., GRACE S.C., YAMASAKI H., 2002- Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177 (1): 67- 80.
156. SAMANIEGO SANCHEZ C., TRONCOSO GONZALEZ A.M., GARCIA-PARRILLA M.C., QUESADA GRANADOS J.J., LOPEZ GARCIA DE LA SERRANA H., LOPEZ MARTINEZ M.C., 2007- Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica Chimica Acta*, 593 (1) : 103- 107.
157. SANCHEZ-MORENO C., 2002- Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3) : 121- 137.
158. SARRI M., BOUDJELAL A., HENDEL N., SARRI D., BENKHALED A., 2015- Flora and ethnobotany of medicinal plants in the southeast of the capital of Hodna (Algeria). *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1) : 24- 30.
159. SCALBERT A., WILLIAMSON G., 2000- Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130 : 2073S- 2085S.
160. SCHENONE S., BRULLO C., BRUNO O., BONDAVALLI F., RANISE A., FILIPPELLI W., RINALDI B., CAPUANO A., FALCONE G., 2006- New 1, 3, 4-thiadiazole derivatives endowed with analgesic and anti-inflammatory activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14 : 1698- 1705.
161. SEREME A., MILLOGO-RASOLODIMBY J., GUINKO S., NACRO M., 2008- Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. *Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines*, 15: 41- 49.
162. SLAMA I., MESSEDI D., GHNAYA T., ABDELY C., 2004- Effet du déficit hydrique sur la croissance et l'accumulation de la proline chez *Sesuvium portulacastrum*. *Revue des Régions Arides*, Tome 1, No. Spécial : 234- 241.
163. SOFOWORA E.A., 1982- Medicinal plants and traditional medicine in Africa. John Wiley and Sons, New York, 256P.
164. SOLIMAN M.F.M., IBRAHIM M.M., 2005- Antischistosomal action of atorvastatin alone and concurrently with medroxyprogesterone acetate on *Schistosoma haematobium* harboured in hamster: surface ultrastructure and parasitological study. *Acta Tropica*, 93 : 1- 9.

165. STOCLET J.C., CHATAIGNEAU T., NDIAYE M., OAK M.H., EL BEDOUI J., CHATAIGNEAU M., SCHINI-KERTH V.B., 2004- Vascular protection by dietary polyphenols. *European Journal of Pharmacology*, 500 (1-3) : 299- 313.
166. TOREL J., CILLARD J., CILLARD P., 1986- Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*, 25(2) : 383- 385.
167. TRABELSIN., WAFFO P., SNOUSSI T.M., RIADH KSOURI., JEAN MICHEL M., SMAOUI A., CHEDLY A., 2013- Variability of phenolic composition and biological activities of two Tunisian halophyte species from contrasted regions. *Journal of Acta Physiologiae Plantarum*, 35 (3): 749- 761.
168. TRABUT L., MARES R., 1906- L'Algerie agricole en 1906. Ed J. Danguin, Tunis, 250p.
169. VERPOORTE R., 2000- Pharmacognosy in the new millennium: leadfinding and biotechnology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52 (3) : 253- 262.
170. VON GADOW A., JOUBERT E., HANSMANN C.F., 1997- Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Roobies tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Agricultural and Food Chemistry*, 45 (3): 632- 638.
171. WEIGUANG Y., JOAN F., CASIMIR C.A., 2005- Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8804- 8812.
172. WINK M., 2003- Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64 (1) : 3- 19.
173. WU T., MCCALLUM J.L., WANG S., LIU R., ZHU H., TSAO R., 2013- Evaluation of antioxidant activities and chemical characterisation of staghorn sumac fruit (*Rhus hirta* L.). *Food Chemistry*, 138 (2-3): 1333- 1340.
174. YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., 2000- Encyclopédie des plantes médicinales. Identifications – préparations-Soins. Larousse, Londres, 335p.
175. YINYANG J., MPONDO MPONDO E., TCHATAT M., NDJIB R.C., MVOGO OTTOU P.B., DIBONG S.D., 2014- Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 78 : 6600- 6619.
176. YOKOZAWA T., CHEN C.P., DONG E., TANAKA T., NONAKA G.I., 1998- Nishioka, I. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem Pharmacol*, 56 (2) : 213- 222.

Organisme:

177. Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013- Wilaya de Ouargla : 1-19.
178. Office National de la Météorologie (ONM), 2003-2013- Données métrologiques de Ouargla.
179. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2000- Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, Genève : 1-79.
180. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2002- Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève : 1-65.

Annexes

Annexes

Annexe I : Tableau récapitulatif des espèces végétales sélectionnées initialement pour cette étude

Famille	Nom scientifique	Nom vernaculaire	Indication	Motif de sélection	Catégorie	Références
Anacardiacées	<i>Searsia tripartita</i> (Ucria) Moffett.	Djedari	Indigestion.	Plante rare	Vivace	Maiza et al (1993).
Apiacées	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss. et Dur.	Oum drayga/ Kamoune l'ibel/ Nessoufa	Troubles digestifs, vomissements, allergies, indigestion, anorexie, palpitation, refroidissements, diarrhée, toux, asthme, diarrhée et constipation.	Endémique	Ephémère	Maiza <i>et al.</i> (1993), Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djebbar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
	<i>Ferula vesceritensis</i> Coss. et Dur. ex Batt.	Kalkha/ Habet lehlaoua	Angines, fièvres, migraines, angine et angine.	Endémique saharienne	Vivace	Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djebbar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
Astéracées	<i>Anvillea radiata</i> L.	Nougd	Diabète, indigestions, refroidissement, diabète et courbatures.	Endémique saharienne	Ephémère	Maiza <i>et al.</i> (1993), Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djebbar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
	<i>Matricaria pubescens</i> (Def.) Schultz	Garteufa	Dysménorrhée, toux, affections oculaires, maux de rein, rhumatismes, courbatures, déshydratation, dentition, piqûre de scorpions, allergies et douleur des règles.	Endémique au Nord d'Afrique	Ephémère	Maiza <i>et al.</i> (1993), Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
Brassicacées	<i>Oudneya africana</i> R. Br.	Hannet l'ibel	Lésions cutanées.	Endémique	Vivace	Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djebbar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).

Annexes

Amarantacées	<i>Atriplex halimus</i> L.	Guetaf	Assécher les plaies	Halophyte	Vivace	Chehma et Djébar (2008).
Euphorbiacées	<i>Euphorbia gyuoniana</i> Boiss. et Reut.	Oum elbina/ Amaya	Morsures de serpent, cataplasme verrus et abcès	Endémique au Sahara septentrional	Vivace	Maiza <i>et al.</i> (1993), Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djébar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
Liliacées	<i>Urginea noctiflora</i> Batt. Et Tab.	Basl elfar	Plaie, maux d'oreille, ulcères et inflammation de la gorge.	Endémique	Ephémère	Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djébar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
Plumbaginacées	<i>Limoniastrum gyonianum</i> Durieu ex Boiss.	Zeïta	Antidysentérique et dépuratif.	Endémique au Nord d'Afrique/ halophyte	Vivace	Chehma et Djébar (2008).
Rutacées	<i>Haplophyllum tuberculatum</i> Juss.	Fidjel	Piqûre de scorpion, algie articulaire, spasme digestif, accouchement difficile, courbatures, myalgies, stérilité, dysménorrhée et vertiges.	Endémique au Sahara septentrional	Ephémère	Maiza <i>et al.</i> (1993), Ould El-Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djébar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).
Tamaricacées	<i>Tamarix gallica</i> L.	Tarfa	Oedèmes de la rate et contre les poux.	Endémique au Sahara septentrional / halophyte	Vivace	Chehma et Djébar (2008).
Zygophyllacées	<i>Nitraria retusa</i> (Forssk.) Asch.	Ghardak	Résorbant les enflures, retirer les tumeurs et des plaies infectées.	Halophyte	Vivace	Chehma et Djébar (2008).
	<i>Zygophyllum album</i>	Agga/Aggaia	Diabète, indigestion, dermatoses, analgésique et désinfectant.	Endémique au Sahara septentrional / halophyte	Vivace	Maiza <i>et al.</i> (1993), Ould El Hadj <i>et al.</i> (2003), Chehma et Djébar (2008) et Hadjaidji- Benseghier et Derridj (2013).

Annexe II : Données climatiques de la région de Ouargla (2010-2015) (ONM, 2016)

Mois	Paramètres					
	T (°C)	TM (°C)	Tm (°C)	H (%)	PP (mm)	V (Km/h)
Janvier	12,22	19,63	5,37	54,12	3,47	10,97
Février	13,78	21,05	6,70	45,67	4,70	14,38
Mars	18,43	25,67	10,67	41,00	4,28	14,87
Avril	23,88	25,97	15,60	31,98	7,10	17,03
Mai	28,08	35,17	19,60	26,50	2,67	17,03
Juin	33,25	40,40	24,72	23,92	0,89	14,52
Juillet	36,68	43,78	28,02	21,22	0,340	13,93
Août	35,62	42,68	27,65	23,72	0,338	14,33
Septembre	31,62	38,65	24,00	29,62	5,84	14,32
Octobre	24,62	32,10	17,18	36,77	2,03	10,97
Novembre	17,63	24,87	10,85	48,15	2,03	10,72
Décembre	12,03	19,63	5,58	58,08	4,36	8,60
Moyenne annuelle	24,0	30,8	16,3	36,7	/	13,5
Somme					38,0	

T : Température moyenne annuelle.

Tm : Température maximale moyenne annuelle.

TM : Température minimale moyenne annuelle.

PP : Précipitation totale annuelle de pluie et/ou neige fondue.

V : Vitesse moyenne annuelle du vent.

H : Humidité relative moyenne.

Annexe III : Données climatiques de la région de Ghardaïa (2010-2015) (ONM, 2016)

	T (°C)	TM (°C)	Tm (°C)	H (%)	PP (mm)	V (Km/h)
Janvier	11,92	17,75	6,75	46,83	4,44	10,87
Février	12,75	18,43	7,40	40,58	3,56	13,23
Mars	16,82	22,70	10,88	39,82	11,64	12,55
Avril	22,17	28,42	15,53	32,08	5,21	12,15
Mai	26,22	32,53	19,37	28,00	3,60	12,72
Juin	31,17	37,60	24,20	26,33	4,19	13,23
Juillet	35,25	41,53	28,35	20,97	1,90	10,42
Août	34,25	40,43	27,70	24,65	2,88	9,58
Septembre	29,90	36,15	23,73	31,73	5,42	10,68
Octobre	23,97	29,98	18,03	42,33	10,16	9,85
Novembre	17,97	23,65	12,83	49,82	4,91	11,60
Décembre	12,05	17,63	7,17	55,87	4,74	10,28
Moyenne annuelle	22,9	28,9	16,8	36,6	/	11,4
Somme					62,7	

T : Température moyenne annuelle.

Tm : Température maximale moyenne annuelle.

TM : Température minimale moyenne annuelle.

PP : Précipitation totale annuelle de pluie et/ou neige fondue.

V : Vitesse moyenne annuelle du vent.

H : Humidité relative moyenne

Annexe IV : Questionnaire destiné aux personnes enquêtées

Prière de mettre une croix dans la case que vous estimez convenable.

Date :

Prière de répondre de façon précise et honnête et merci de votre collaboration.

N° :

1. Age

2. Sexe : Masculin Féminin

3. Localité : Ville : Village : Douar : Nomade :

4. Lorsque vous vous sentez malade, vous vous adressez :

A la médecine traditionnelle, pourquoi : Efficace Moins chère Acquisition Médicament inefficace

A la médecine moderne, pourquoi : Efficace Plus précise Toxicité des plantes

Si c'est les deux, quelle est la première : Médecine moderne Médecine traditionnelle

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Indication traditionnelle	Mode de préparation	Partie utilisée	Association possible	Mode d'administration	Durée d'utilisation	Résultats d'utilisation		
								Guérison	Amélioration	Effet secondaire

Résumés

Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien

Résumé

Dans le but de valoriser les plantes sahariennes à caractère médicinal et au regard de leur impact sur la santé par leur profusion en substances à vertus thérapeutiques, une investigation phytochimique et biologique a concerné deux plantes médicinales récoltées au Sahara septentrional Est Algérien : *Searsia tripartita* et *Limoniastrum guyonianum*.

L'enquête ethnobotanique sur six plantes médicinales (*Atriplex halimus* L., *Searsia tripartita* (Ucria) Moffett, *Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss., *Haplophyllum tuberculatum* Juss., *Tamarix gallica* L. et *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch.) menée dans la région de Ouargla a révélé que ces espèces sont essentiellement utilisées dans le traitement des maladies digestives, dermiques et même nerveuses. Les feuilles sont les plus utilisées et sont administrées sous forme d'extraits aqueux et plus rarement sous forme de poudre. Ces taxons sont utilisés seuls ou associés à des ingrédients ou à d'autres plantes. Le criblage phytochimique des poudres de nos plantes a révélé la présence des polyphénols et des saponosides et l'absence des alcaloïdes, des anthocyanes et des dérivés anthracéniques libres et O combinés. La présence des autres phytoconstituants varie d'une espèce à une autre. L'étude ethnobotanique et le criblage phytochimique ont permis de sélectionner l'Anacardiacee *S. tripartita* et la Plumbaginacee *L. guyonianum* pour une investigation phytochimique et biologique plus approfondie.

L'estimation de la composition en osmoprotecteurs et en osmotocums indique que ces plantes sont caractérisées par des statuts ioniques comparables avec de fortes teneurs en sodium et en chlorure, des faibles teneurs en calcium et des quantités comparables en sulfates. Les acides aminés et les carbohydrates et polyols sont fortement retrouvés chez *S. tripartita* où ils représentent 734.69 et 282.23 $\mu\text{mol/g}$ de MS respectivement. *L. guyonianum* est riche en acides organiques (malate et citrate) avec 37.66 $\mu\text{mol/g}$ de MS.

La richesse des extraits hydrométhanoliques en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés par rapport à l'extrait hydroéthanolique laisse supposer que le méthanol est le meilleur solvant de ces composés.

L'analyse chromatographique HPLC-DAD-ESI-MS/MS des extraits hydrométhanoliques a révélé une diversité structurale des molécules de l'extrait de *L. guyonianum*. Six molécules ont été identifiées ; un dérivé d'acide quinique, un flavanone glycosylé l'eriodyctyol-7-O- rutinoside et quatre flavonols glycosylés : la myricétine-3-O- rutinoside, la myricétine-3-O-glucuronide, la myricétine-3-O- pentoside et la quercétine-3-O-glucuronide, alors que seules quatre flavonols glycosylés ont été identifiés dans l'extrait de *S. tripartita*: la myricétine-3-O-glucoside, la myricétine-3-O-rhamnoside, la quercétine-3-O-glucoside et la quercétine-3-O-rhamnoside.

Les tests PPM, DPPH et ABTS ont permis de constater une activité antioxydante des extraits des plantes étudiées. La meilleure activité est obtenue en piégeant le radical ABTS par les extraits bruts de *S. tripartita*, dont l'EC50 moyenne évaluée à 8.38 $\mu\text{g/ml}$.

Une extraction liquide- liquide des composés des extraits hydrométhanoliques avec des solvants de polarités croissantes a été réalisée. La quantification des phénols totaux et des flavonoïdes dans les extraits bruts et leurs fractions a montré que la fraction acétate d'éthyle de *S. tripartita*, est la plus riche en ces composés avec 55.50 \pm 4.86 mg EGA/ g de MS de phénols totaux et 44.19 \pm 0.77 mg ER/ g de MS de flavonoïdes. Chez *L. guyonianum*, la fraction aqueuse présente la plus grande quantité en phénols totaux (10.15 \pm 1.35 mg EGA/ g de MS). Les flavonoïdes sont comparables dans les fractions aqueuse et acétate d'éthyle (1.45 \pm 0.07 et 1.82 \pm 0.19 mg ER/ g de MS, respectivement).

L'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits via les tests ORAC, DPPH et ABTS a montré que l'extrait brut de *S. tripartita* est 3 à 16 fois plus actif que celui de *L. guyonianum*. Les fractions organiques et aqueuse de *S. tripartita* sont également plus actives que celles de *L. guyonianum*.

La détermination de l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé a mis en évidence le pouvoir inhibiteur de *L. guyonianum* plus important que celui de *S. tripartita*. Les extraits bruts et leurs fractions organiques possèdent une activité antibactérienne à spectre étendu couvrant les Gram positif et les Gram négatif. Cette activité est plus importante en présence des fractions et de l'extrait brut de *L. guyonianum* que de ceux de *S. tripartita*. En revanche, la fraction aqueuse de *S. tripartita* n'a montré d'effet inhibiteur que sur *S. aureus* et *P. aeruginosa*, celle de *L. guyonianum* a conduit à l'apparition de zones d'inhibition de *P. aeruginosa*, *E. faecalis* et *E. cloacae*.

La richesse des extraits de *S. tripartita* et *L. guyonianum* en composés phénoliques et leurs pouvoirs antioxydant et antibactérien pourraient justifier le bien-fondé de certaines vertus thérapeutiques accordées à ces plantes en médecine traditionnelle.

Mots clés : *S. tripartita*, *L. guyonianum*, enquête ethnobotanique, osmoprotecteurs, osmotocums, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Phytochemical analysis and biological activities of extracts from two medicinal plants growing in a northeastern Sahara of Algeria.

Abstract

In order to valorize the Saharan medicinal plants and in view of their impact on health by their profusion as substances with therapeutic virtues, a phytochemical and biological investigation concerned two medicinal plants (*Searsia tripartita* and *Limoniastrum guyonianum*) collected in the Northeastern Sahara of Algeria.

The ethnobotanical survey of six medicinal plants (*Atriplex halimus* L., *Searsia tripartite* (Ucria) Moffett, *Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss., *Haplophyllum tuberculatum* Juss., *Tamarix gallica* L. and *Nitraria retusa* (Forssk.) Asch.) conducted in the area of Ouargla revealed that these species are essentially used in the treatment of digestive, dermal and even nervous diseases. The leaves are the most used and are administered in aqueous extracts form and more rarely in powder form. These taxa are used alone or in combination with some ingredients or with other plants. The phytochemical analysis of plant powders revealed the presence of polyphenols and saponins with absence of alkaloids, anthocyanins, free anthracenosides derivatives and combined ones. The presence of the other phytoconstituants varies from plant to other. The ethnobotanical study and phytochemical screening allowed to select the Anacardiaceae *S. tripartita* and the Plumbaginaceae *L. guyonianum* for a more thorough phytochemical and biological investigation.

The estimation of the composition in osmoprotectants and osmoticums indicates that these plants are characterized by the comparable ionic states with high sodium and chloride contents, low calcium levels and comparable amounts of sulfates. Aminoacids and carbohydrates and polyols are strongly found in *S. tripartita* where they represent 734.69 and 282.23 $\mu\text{mol/g}$ of DW respectively. *L. guyonianum* is rich in organic acids (malate and citrate) with 37.66 $\mu\text{mol/g}$ of DW.

The richness of hydromethanolic extracts in total phenols, flavonoids and condensed tannin relative to the hydroethanol extract suggests that the methanol is the best solvent of these compounds.

The chromatographic analysis HPLC-DAD-ESI-MS/MS of the hydromethanol extracts revealed a structural diversity of *L. guyonianum* extract molecules. Six molecules were identified: quinic acid derivative, glycosylated flavanone eriodictyol-7-O-rutinoside and four glycosylated flavonols: myricetin-3-O-rutinoside, myricetin-3-O-glucuronide, myricetin-3-O-pentoside and quercetin-3-O-glucuronide, whereas only four glycosylated flavonols were identified in the extract of *S. tripartita*; myricetin-3-O-glucoside, myricetin-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-glucoside and quercetin-3-O-rhamnoside.

The PPM, DPPH and ABTS tests revealed an antioxidant activity of extracts from studied plants. The best activity is obtained by scavenging the ABTS radical with the crude extract of *S. tripartita*, with midium EC_{50} was 8.38 $\mu\text{g/ml}$.

An liquid-liquid extraction of hydromethanolic extracts using solvents with increasing polarity was realized. The quantification of the total phenols and flavonoids in the crude extracts and their fractions showed that the ethyl acetate fraction of *S. tripartita* was the richest with 55.50 ± 4.86 mg GAE/ g of DW of total phenols and 44.19 ± 0.77 mg RE/ g of DW of flavonoids. In *L. guyonianum*, the aqueous fraction had the greatest amount of total phenols (10.15 ± 1.35 mg GAE/ g of DW). Quantity of flavonoids are comparable in aqueous and ethyl acetate fractions (1.45 ± 0.07 and 1.82 ± 0.19 mg RE/ g of DW respectively).

The assessment of the antioxidant activity in both crude extracts by the ORAC, DPPH and ABTS tests showed that the crude extract of *S. tripartita* is 3 to 16 times more active than the *L. guyonianum*. One the organic and aqueous fractions of *S. tripartita* are also more active than those of *L. guyonianum*.

The determination of the antibacterial activity using the diffusion method in agar medium highlighted the inhibitory power of *L. guyonianum* more important than *S. tripartita*. The crude extracts and their organic fractions possess antibacterial activity with an extensive spectrum covering Gram-positive and Gram-negative. This activity is greater in the presence of fractions and the crude extract of *L. guyonianum* than those of *S. tripartita*. On the other hand, the aqueous fraction of *S. tripartita* showed an inhibitory effect only against *S. aureus* and *P. aeruginosa*, those belonging to *L. guyonianum* led to the apparition of inhibition zones of *P. aeruginosa*, *E. faecalis* and *E. cloacae*.

The richness of the extracts of *S. tripartita* and *L. guyonianum* in phenolic compounds and their antioxidant and antibacterial powers could justify the validity of certain therapeutic virtues granted to these plants in traditional medicine.

Key words: *S. tripartita*, *L. guyonianum*, ethnobotanical survey, osmoprotectants, osmoticums, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity.

التحليل الكيميائي والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبتتين من النباتات الطبية المتنامية في الشمال الشرقي للصحراء الجزائرية

الملخص

يهدف تمييز النباتات الطبية الصحروية وبالنظر لتأثيرها الإيجابي على الصحة لاحتوائها على مكونات ذات خصائص علاجية. تم تحليل التركيب الكيميائي و تقييم الفعالية البيولوجية لعينتين من هذه النباتات و التي تم جنيها من شمال الشرقي للصحراء الجزائرية *Limoniastrum guyonianum* و *Searsia tripartita* كشفت الدراسة الإثنوباثية لستة نباتات طبية، القطف (*Atriplex halimus* L.)، الجداري (*Searsia tripartita* (Ucria) (Moffett), الزيتة (*Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss.)، الفجل (*Haplophyllum tuberculatum* Juss.)، الطرفة (*Tamarix gallica* L.) والغردق (*Nitraria retusa* (Forssk.) Asch.) أجريت في منطقة ورقلة أن هذه النباتات تستخدم أساسا في علاج الجهاز الهضمي وأمراض الجلد وحتى الإضطرابات العصبية. الأوراق هي الأكثر استعمالا وغالبا في شكل مستخلص مائي ونادرا ما تستخدم في شكل مسحوق. وتستخدم هذه الأنواع النباتية وحدها أو ممزوجة مع بعض المكونات أو مع نباتات أخرى. كشف الفحص الكيميائي للمساحيق المستخلصة من هذه النباتات عن وجود البوليڤينول والصابونين وعدم وجود القلويدات، الإنثوسيان ومشتقات الأنثراسين الحرة و المرتبطة. أما نتائج المكونات الأخر فتختلف من نوع نباتي إلى آخر. بناء على نتائج الدراسة الإثنوباثية والفحص الكيميائي الأولى تم اختيار نبتتين *Anacardiaceae* (*S. tripartita*) و *Plumbaginaceae* (*L. guyonianum*) من أجل الدراسة الكيميائية و البيولوجية المعقدة.

تشير تقييم المكونات العضوية و المعدنية المسؤولة عن التوازن الاسموزي في الخلايا النباتية إلى تماثل المحتوى الإيوني في مستخلصات النبتتين حيث يتميز بمستويات عالية من الصوديوم والكلوريد، ومنخفضة من الكالسيوم وكميات متماثلة من الكبريتات. الأحماض الأمينية والكربوهيدرات و متعددات الهيدروكسيل أكثر تكديسا في نباتات *S. tripartita* حيث تمثل 734.69 و 282.23 ميكروغرام/ غرام من المادة جافة على التوالي. نبتات *L. guyonianum* غنية بالأحماض العضوية (حمض السيتريك وحمض الأستيك) تقدر مجملا بي 37.66 ميكروغرام/ غرام من المادة جافة. توضح التحليل الكمي للمستخلصات الخام لهتين النبتتين من الفينولات، الفلافونيدات، والعفص المركب إلى أن الميثانول هو أفضل المذيبات لهذه المركبات.

كشفت التحليل الكروماتوغرافي HPLC-DAD-ESI-MS/ MS للمستخلصات الهيدروميتانولية عن التنوع الهيكلي للمركبات في استخراج *L. guyonianum* حيث سمح بالتعرف على ستة مركبات مشتق حمض الكينيك *dérivé d'acide quinique* ، ومركب واحد من الفلافانول غليكوزيل *eriodictyol-7-O-rutinoside* وأربعة من الفلافونول الغليكوزيلي *myricétine-3-O-pentoside*, *myricétine-3-O-rutinoside*, *myricétine-3-O-glucuronide* و *quercétine-O-glucuronide* كما تم الكشف عن وجود أربع مركبات من الفلافونول الغليكوزيلي *myricétine-3-O-glucoside*, *myricétine-3-O-rhamnoside*, *myricétine-3-O-glucoside* و *quercétine-3-O-rhamnoside* في مستخلصات *S. tripartita*.

أثبتت إختبارات نشاط القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات الخام و التي اجريت بواسطة الطرق التالية فوسفوميليدات DPPH و ABTS بأن هذه المستخلصات الفينولية ذات فعالية مضادة للأكسدة قوية، كما تم الحصول على أفضل النشاطات بواسطة إختبار ABTS بحيث متوسط التركيز الفعال EC_{50} للمستخلصات الخام من *S. tripartita* يساوي 8.38 ميكروغرام / مل. قمنا بالإستخلاص السائل- سائل للمستخلصات الخام الهيدروميتانولية لهتين النبتتين بواسطة المذيبات العضوية مع زيادة الاستقطاب. التحليل الكمي للفينولات و الفلافونيدات للمستخلصات الخام و مستخلصات خلاص الإيثيل، البيتانول والمائي خلص إلى استنتاج بأن مستخلص خلاص الإيثيل من *S. tripartita* هو الغني بهذه المركبات بحيث تقدر قيم إجمالي الفينولات بي 55.50 ± 4.86 ملي غرام مكافئ حمض الفليك / غرام من المادة الجافة و الفلافونيدات بي 44.19 ± 0.77 ملي غرام مكافئ الغنين / غرام من المادة الجافة أما بالنسبة لنبتة *L. guyonianum* المستخلص المائي هو أكثر غنى بالمركبات الفينولية (10.15 ± 1.35 ملي غرام مكافئ حمض الفليك / غرام من المادة الجافة. تراكيز الفلافونيدات متماثلة في المستخلص المائي و خلاص الإيثيل من *L. guyonianum* و القيم المتحصل عليها تقدر على التوالي بي 1.82 ± 0.19 و 1.45 ± 0.07 ملي غرام مكافئ الغنين / غرام من المادة الجافة).

أظهر تقييم النشاطات المضاد للأكسدة للمستخلصات الخام وكذا مستخلصات خلاص الإيثيل، البيتانول والمائي بواسطة إختبارات DPPH, ORAC, et ABTS بأن نشاط الإستخلاص الخام لنباتات *S. tripartita* تعادل 3 إلى 16 مرة فعالية الإستخلاص الخام لنباتات *L. guyonianum*. أيضا المستخلصات العضوية و المائية أكثر نشاطا مقارنة بما يمثلها من *L. guyonianum*. أثبتت إختبارات القدرة المضادة للبكتيريا باستخدام طريقة الإنتشار في الوسط الصلب بان النشاط المثبط لمستخلصات *L. guyonianum* أكثر فعالية مقارنة بمماثلتها من *S. tripartita*. المستخلصات الخام و العضوية ذات نشاطات مضادة للبكتيريا واسعة الفعالية، اجابية ضد السلالات البكتيرية غرام سلبي و غرام ايجابي. بالمقابل المستخلصات المائية لنبتة *S. tripartita* فعالة فقط ضد *P. aeruginosa* و *S. aureus* في حين المستخلصات المائية لنبتة *L. guyonianum* فعالة ضد *P. aeruginosa*, *faecalis*, *E. cloacae* و *E.*

غنى مستخلصات *S. tripartita* و *L. guyonianum* بالمركبات الفينولية و القدرة ضد الأكسدة، و المثبطة للبكتيريا لهتين النبتتين تؤكد نسبينا صحة بعض الفوائد العلاجية المشار لها في الطب التقليدي.

الكلمات الدالة: الجداري *S. tripartita*، الزيتة *L. guyonianum*، الدراسة الإثنوباثية، المكونات العضوية، المكونات المعدنية، المركبات الفينولية، الفعالية المضادة للأكسدة، القدرة المثبطة للبكتيريا.

*Publications et
communications*

Une partie de cette présente étude a fait l'objet de deux publications internationales et a été présentée sous forme de communications dans différents congrès :

1. Publications internationales

Soumia Hadjadj, Zahia Bayoussef, Aminata Ould El Hadj-Khelil, Hanane Beggat, Zohra Bouhafis, Yasmina Boukaka, Insaf Amina Khaldi, Sara Mimouni, Fatma Sayah and Meriem Tey, 2015- Ethnobotanical study and phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (area of Ouargla), Journal of Medicinal Plants Research, 8 (41) : 1049-1059, **ISSN : 1996-0875**.

DOI: 10.5897/JMPR2015.5932.

Soumia Hadjadj, Akila Khadir, Sabrina Bensaci, Mohamed Didi Ould El Hadj, Aminata Ould El Hadj-Khelil. 2016- Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Activity of Methanolic and Ethanolic Extracts of *Limoniastrum guyonianum*. International Journal of Biosciences, 9 (6) : 35-44, **ISSN: 2220-6655 (Print), 2222-5234 (Online)**.

DOI : <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/9.6.35-44>.

2. Communications internationales

HADJADJ Soumia, GHOUINI Fatima, LAMINI Razika et OULD EL HADJ-KHELIL Aminata, Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées du Sahara septentrional Algérien. Colloque international sur la valorisation des plantes aromatiques et médicinales de la méditerranée, 11-12 Novembre 2015.

HADJADJ Soumia, LAMINI Razika, GHOUINI Fatima et OULD EL HADJ-KHELIL Aminata, Phenolic compositions and total antioxidant capacity of extracts from *Limoniastrum guyonianum*, 27^{ème} forum international des sciences biologiques et de biotechnologie de l'ATSB, 28 au 31 Mars 2016.

HADJADJ S, OULD EL HADJ-KHELIL A., LAMINI R and GHOUINI F., Phenolics content and Antioxidant Activity of extracts of *Searsia tripartita* and *Limoniastrum guyonianum* collected from the Northeastern Sahara of Algeria, IV^{ème} Congrès International de Biotechnologie et de Valorisation des Bio-Ressources, 24 au 27 Mars 2016.

Hadjadj Soumia, Khadir Akila, Bensaci Sabrina and Ould El Hadj-Khelil Aminata, Potential assessment of *Limoniastrum guyonianum* Durieu ex Boiss. as a source of natural antioxidants and bioactive compounds, 28^{ème} forum international des sciences biologiques et de biotechnologie de l'ATSB, 21 au 24 Mars 2017.

3. Communications nationales

HADJADJ Soumia, BOUKAKA Yasmina, MIMOUNI Sara, ELABED Asma, MESSAID Sara et OULD EL HADJ-KHELIL *Aminata*, *Étude* ethnobotanique de quelques plantes médicinales utilisées dans la médecine traditionnelle du Sahara septentrional Algérien, séminaire national sur les plantes spontanées du Sahara, 12 et 13 Décembre 2012.

HADJADJ Soumia, *Étude* ethnobotanique de quelques plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Ouargla, journées doctoriales, 20 au 24 Avril 2014.

Soumia HADJADJ, Razika LAMINI, Fatima GHOUINI et Aminata OULD EL HADJ KHELIL, Contenu en antioxydants et activité antioxydante d'extrait méthanolique des plantes médicinales récoltées dans un écosystème aride, 2ème Séminaire National « Biologie et santé », 14-15 Mars 2016.