

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE**

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire

Présenté par : BELHANI Rim

HABBAZ Karima

Thème :

**Activités anti-oxydante, antibactérienne et  
antidiabétique des différents extraits d'*Ammodaucus  
leucotrichus***

Soutenu publiquement

Le : 0-/07/2019

Devant le jury :

<i>M<sup>lle</sup></i> HAMMOUDI Rokia	MCA	Présidente	UKM OUARGLA
<i>M<sup>lle</sup></i> TELLI Alia	MCB	Promotrice	UKM OUARGLA
<i>M<sup>elle</sup></i> HADJADJSoumia	MCA	Examinatrice	UKM OUARGLA

**Année universitaire: 2018 /2019**



## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à  
mes chers parents pour leurs sacrifices et  
leur grande confiance*

*A mes chers frère ma soeur*

*A ma grande famille*

*A tous mes amies*

*A mon encadreur **M<sup>lle</sup> TELLI Alia***

*mon binôme durant ce travail*

*ma soeur **karima***

*A tous mes enseignants du  
primaire ,à l'université pour leurs  
encouragements et leur patience*

*Rim*



## *Dédicace*

*A mes chers parents  
A ma grande famille  
A tous mes amis  
A mes enseignants  
A tous ceux que  
j'aurais oublié de citer  
mais qui existent au  
fond de mon  
Cœur et de ma pensée*



*Karima*

# Remerciements

*Nous remercions en premier lieu Allah le Tout Puissant de nous avoir dotés de courage, de force et de capacité nécessaire pour achever ce mémoire.*

*Nous tenant à exprimé nos remerciement a notre promotrice de mémoire M<sup>lle</sup> TELLI Alia Maître de conférences B au Département des Sciences biologique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie l'Université de KASDI Merbah-Ouargla, d'avoir accepté d'encadrer notre travail pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses conseils, qui ont contribué à améliorer notre réflexion.*

*Nous remerciments vont également à M<sup>lle</sup> HAMMOUDI Rokia, Maitre de Conférences A au Département des Sciences Biologiques de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université KASDI Merbah Ouargla, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous remercions aussi M<sup>lle</sup> HADJADJ Soumia, Docteur et Maitre de Conférences A au Département des Sciences Biologiques de la faculté à l'Université KASDI Merbah Ouargla, d'avoir accepté d'examiner notre travail avec Son œil critique pour améliorer nôtres travail.*

*Nos profondes reconnaissances s'adressent à tous les enseignants du département de Biologie qui ont contribué à notre formation tout le long notre étude universitaire.*

*Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie l'Université KASDI Merbah Ouargla.*

## Résumé

Ce travail vise à évaluer différentes activités biologiques d'*Ammodaucus leucotrichus*. L'extraction des principes actifs est effectuée par macération à froid en utilisant trois solvants de polarités différentes à savoir le méthanol, l'acétate d'éthyle et l'éther de pétrole. L'analyse phytochimique des différents extraits est effectuée par le criblage phytochimique et par la quantification de quelques classes des composés phénoliques. Plusieurs activités biologiques ont été évaluées : l'activité anti-oxydante en utilisant deux tests (ABTS et FRAP), l'activité antibactérienne par la diffusion sur milieu gélosé et par microdilution sur quatre souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus sp.*) et l'activité antidiabétique par la mesure de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase. Les résultats obtenus ont montré la richesse de l'espèce étudiée en composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, coumarines...etc.) et terpéniques. Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tanins condensés sont obtenues avec l'extrait méthanolique qui sont de l'ordre de  $45,33 \pm 5,79$  mg EAC/g,  $18,27 \pm 2,33$  mg ER/g,  $1567,77 \pm 163,33$   $\mu$ g EAC/g et  $21,21 \pm 3,23$  mg EC/g respectivement. L'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a les meilleures capacités inhibitrice du radical cation ABTS<sup>+</sup> et réductrice de fer avec des  $CI_{50}$  et  $CE_{50}$  égale à  $75,07 \pm 1,08$   $\mu$ g/ml et  $95,65 \pm 9,62$   $\mu$ g/ml respectivement inférieurs à celles de l'antioxydant standard utilisé (le trolox). En ce qui concerne l'activité antibactérienne, la souche de *S. aureus* est la plus sensible à l'action des différents extraits d'*ammodaucus leucotrichus* avec des CMI allant de  $96,78 \pm 11,32$   $\mu$ g/ml pour l'extrait méthanolique à  $178,33 \pm 21,61$   $\mu$ g/ml pour l'extrait d'EtPe. La meilleure activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase a été obtenue avec l'extrait méthanolique où la valeur de  $CI_{50}$  est égale à  $79,33 \pm 9,60$   $\mu$ g/ml qui est inférieur à celle de l'acarbose ( $CI_{50} = 87,75 \pm 9,33$   $\mu$ g/ml). En conclusion, les résultats obtenus peuvent justifier l'utilisation traditionnelle de cette espèce pour traiter les maladies inflammatoires, infectieuses et du diabète.

**Les mots clés :** *Ammodaucus leucotrichus*, criblage phytochimique, composés phénoliques, activité anti-oxydante, activité antibactérienne, activité anti-enzymatique.

## Tables des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste d'abréviation	
Introduction.....	01
<b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b>	
I.1. Matériel.....	07
I.1.1. Matériel végétal.....	07
I.1.1.1 Choix d'espèce.....	07
I.1.1.2 Description botanique et systématique.....	07
I.1.1.3. Ecologie et Répartition géographique.....	08
I.1.1.4. Usage thérapeutique.....	08
I.1.2. Matériel microbien.....	09
I.2. Méthodes.....	09
I.2.1. Extraction.....	09
I.2.1.1. Macération méthanolique.....	09
I.2.1.2. Macération d'acétate d'éthyle.....	09
I.2.1.3. Macération d'éther de pétrole.....	10
I.2.2. Analyses phytochimiques.....	10
I.2.2.1. Criblage phytochimiques.....	10
I.2.2.2. Quantification de quelque classe des composés phénoliques.....	13
I.2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	13
I.2.2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	13
I.2.2.2.3. Dosage des acides phénols.....	14
I.2.2.2.4. Dosage des tanins condensés et proantocyanidines.....	14
I.2.3. Évaluation des activités biologiques.....	14
I.2.3.1. Évaluation des activités antioxydants.....	15
I.2.3.1.1. Test d'ABTS.....	15
I.2.3.1.2. Pouvoir réducteur de fer.....	16
I.2.3.2. Activité antibactérienne.....	17
I.2.3.2.1. Préparation des l'inoculums.....	17
I.2.3.2.2. Méthode diffusion sur disques.....	17
I.2.3.2.3. Méthode de micro-dilution en milieu liquide.....	18

I.2.3.3. Inhibition de l' $\alpha$ -amylase .....	19
I.3. Analyses statistiques.....	19

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

II.1. Rendement d'extraction .....	21
II.2. Analyses phytochimiques d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .....	22
II.2.1. Criblage phytochimique.....	22
II.2.2. Quantification de quelque classe des composés phénoliques.....	23
II.2.2.1. Teneur en polyphénols totaux.....	23
II.2.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	25
II.2.2.3. Teneur en acides phénols.....	26
II.2.2.4. Teneur en tanins condensés .....	27
II.3. Les activités biologiques .....	28
II.3.1. Activités antioxydants.....	28
II.3.1.1. Résultats du test réduction de radical ABTS.....	28
II.3.1.2. Résultats du test réduction de fer FRAP.....	30
II.3.2. Activités antibactérienne .....	32
II.3.2.1. Diffusion sur milieu gélose.....	32
II.3.2.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	33
II.3.3. Activités anti- $\alpha$ -amylase.....	35
II.4. Corrélation entre des différents paramètres.....	37
Conclusion.....	40
Références bibliographiques .....	43

Annexe

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Systematique d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss. & Dur	8
2	Résultats de screening phytochimique réalisé sur fruits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	22
3	CI <sub>50</sub> pour le test ABTS des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> et de Trolox.	29
4	CE <sub>50</sub> pour le test FRAP des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> et de Trolox.	31
5	Valeurs de Concentrations minimales inhibitrices (CMI en µg/ml) des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	34
6	CI <sub>50</sub> de l'inhibition del' $\alpha$ -amylase par différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> et l'acarbose.	36



## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Réduction du radical cation ABTS <sup>•+</sup> en cation ABTS <sup>+</sup>	15
2	Réaction de la réduction de Fe <sup>3+</sup> -TPTZ en Fe <sup>2+</sup> -TPTZ	16
3	Rendement d'extraction des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	21
4	Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	24
5	Teneur en flavonoïdes des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	25
6	Teneur en acides phénols des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	26
7	Teneur en tanins condensés des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	27
8	Activité anti-oxydante des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> déterminée par le test ABTS.	29
9	Activité anti-oxydante des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> déterminée par le test FRAP.	31
10	Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> sur les souches bactériennes testées.	33
11	Pourcentage d'inhibition de l'alpha-amylase par différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> et l'acarbose.	36

## Liste des photos

<b>N°</b>	<b>Photo</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> Coss. & Dur.	<b>07</b>

## Liste des abréviations

AAO: activité anti-oxydante

ABTS : l'acide 2,2 -azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

AcEt: acétate d'éthyle

CMI : concentration minimale inhibitrice

DO: densité optique

EtPe : éther de pétrole

FRAP : la pouvoir réducteur du fer

IC<sub>50</sub> : Concentrations inhibitrices de 50%

MeOH : méthanol

TPTZ: 2, 4, 6-trypyridyl-s-triazine

# *Introduction*

## **Introduction**

Les animaux, lorsqu'ils sont malades, partent spontanément à la recherche des plantes qui contiennent la drogue propre à les guérir. L'homme primitif n'a sans doute pas manqué de faire la même observation, il a probablement cherché à imiter les animaux lorsqu'il était frappé par la maladie, mais ce n'est qu'une hypothèse (Boughendjioua, 2001).

Au cours des temps, l'humanité a compté sur la nature pour satisfaire ses besoins fondamentaux comme la production des aliments, abris, vêtements, arômes et sans doute les médicaments (Gurib-Fakim, 2006). L'homme, au même moment qu'il s'efforce de s'adapter aux différents milieux, a pu trouver et développer des connaissances et des pratiques pour se soigner en utilisant des produits naturels d'origine minérale, animale ou végétale (Kobangue et Mozouloua, 2010). Avant même de posséder l'usage du langage, l'homme pouvait transmettre l'expérience de la médecine et de tout type de remèdes naturels pour finalement élaborer ce que nous appelons aujourd'hui « la médecine traditionnelle » (Roumy, 2007).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit la « médecine traditionnelle » comme « la somme de toutes les connaissances, compétences et pratiques reposant sur les théories, croyances et expériences propres à différentes cultures, qu'elles soient explicables ou non, et qui sont utilisées dans la préservation de la santé, ainsi que dans la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement de maladies physiques ou mentales » (OMS, 2013).

Actuellement, cette médication par les plantes connaît un regain d'intérêt notable, et c'est grâce aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales (Tahri, 2012).

La médecine traditionnelle dans le monde, constitue soit le mode principal de soins de santé, ou un complément à ce dernier. En effet, selon l'estimation de l'OMS (2002), la majorité de la population africaine dépend encore des médecines traditionnelles pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de santé primaire. Cependant, dans les pays industrialisés, c'est sous forme de thérapies complémentaires. En Europe et en Amérique du Nord, la moitié de la population a fait appel au moins une fois à des compléments alimentaires à base des plantes. C'est encore beaucoup plus au Canada et en Allemagne (Hadjadj, 2017).

Parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, l'ethnobotanique est considérée comme une science qui permet de traduire le savoir faire populaire en savoir scientifique (Tahri, 2012).

Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Selon Dragendorff, toute matière d'origine végétale utilisée pour soin est une plante médicinale (Kalla, 2012).

Au cours de leur évolution, les plantes ont développé des substances importantes dites les principes actifs, nommées aussi les métabolites secondaires, ne sont pas des molécules essentielle pour la croissance et le développement de base d'une plante, mais ce sont des composé complémentaire (Hopkins, 2003). Les métabolites secondaires sont importants pour la survie des plantes qui les produisent, et leurs permettent de s'adopté aux systèmes de l'environnement. Ils sont des éléments essentiels pour défendre leur producteur contre les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes (microorganismes). Certains assurent une protection contre les radiations solaires et d'autres encore facilitent la distribution du pollen et des graines et sont également importants pour l'évolution des angiospermes (Hopkins, 2003).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances bioactives et les mettent à la disposition de l'homme qui peut faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux. Malgré le progrès de la pharmacologie, les plantes médicinales sont toujours utilisées surtout dans les pays en voie de développement (Bakiri, 2016).

On distingue trois classes des métabolites secondaires, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques.

Les alcaloïdes, sont les principaux composants du métabolisme secondaire. Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle, dont l'activité pharmacologique est significative. Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés comme le système nerveux central, le système nerveux, la cancérologie, la parasitologie. La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole. Ils possèdent de nombreuses propriétés pour la plante, ils jouant un rôle de défense (Krief, 2003). Les terpènes, molécules composés avec un squelette hydrocarboné autour d'un assemblage d'au moins 5 unités isoprényles. Sont des substances volatiles

bioactives sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, comme pour toute substance bioactive et thérapeutique, Il convient ainsi de tenir compte de la tolérance par l'homme de ces substances naturelles. Par ailleurs, les terpènes possèdent plusieurs effets pharmacologiques telle que les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, anti-parasitaires... (Soualeh et Soulimani, 2016).

Les huiles essentielles sont des produits naturels importants utilisés pour leurs arômes et leurs parfums dans les industries alimentaire, pharmaceutique et de la parfumerie. Ils sont également des sources d'arômes chimiques, en particulier d'énantiomères, qui sont utiles en tant que blocs de construction chiraux dans les synthèses. Les activités biologiques et pharmacologiques des huiles essentielles et de leurs constituants se sont intensifiées ces dernières années. Les huiles essentielles resteront donc des ingrédients naturels indispensables (Gherraf et al.,2013).

Les huiles essentielles sont des composants obtenus à partir de différentes parties de la plante. Ils sont généralement synthétisés pour lutter contre les agents infectieux ou parasitaires ou générés en réponse à des conditions de stress (Gherraf et al.,2013).

Les composés phénoliques sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (OH). Ils représente Environ 40% du carbone circulant dans la biosphère, que l'on trouve dans les parois cellulaires et dans les vacuoles des cellules qui les produisent. Il existe environ 4500 types. Dans cette famille, il y a les tanins, les coumarines, la lignine ou encore les flavonoïdes (Hopkins, 2003).

Au cours des dernières années, les composés biologiquement actifs, isolés à partir d'espèces végétales destinées à l'élimination des microorganismes pathogènes, ont suscité un intérêt particulier en raison de leur résistance aux antibiotiques (Gherraf et al.,2013).

L'industrie chimique et pharmaceutique a isolé les principes actifs des végétaux à un degré élevé de pureté et elle a produit d'autre par synthèse chimique. Cependant, les plantes médicinales se révèlent souvent plus efficaces parce qu'elles associent plusieurs substances qui augmentent ou exténuent réciproquement leurs actions pharmacologiques spécifiques ; de plus, ces substances se trouvent dans un état physico-chimique particulier, elles se libèrent progressivement dans l'organisme, de sorte que l'effet thérapeutique se prolonge dans le temps (Boughendjioua, 2001).

L'Algérie, riche en ressources à base de plantes indigènes qui poussent sur sa topographie variée et sous l'évolution des conditions climatiques permettant la croissance de près de 3000 espèces végétales. Dans la région semi-aride, la pharmacopée traditionnelle locale continue d'être une source importante de remèdes primaires pour les soins de santé, de sorte que la région offre de nombreuses possibilités d'études concernant divers aspects de la médecine traditionnelle (Cheriti *et al.*, 2012).

Le Sahara, le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde, possède dans sa partie Nord, le Sahara septentrional, une végétation diffuse et clairsemée. L'état de la flore spontanée dans cette zone ainsi que les relations entre l'homme et les espèces végétales, méritent une attention particulière (Ould El Hadj *et al.*, 2003). Le Sahara, partie constitue un important réservoir de nombreuses plantes qui n'ont pas été étudiées jusqu'à aujourd'hui (Cheriti *et al.*, 2012).

La flore saharienne, avec ses 480 espèces, apparaît comme très pauvre si on compare ce petit nombre d'espèces qui habitent ce désert à l'énormité de la surface qu'il couvre. Par contre, on signale que le nombre de genre est relativement élevé, car il est fréquent qu'un genre soit représenté par une seule espèce (Chehema, 2006).

Le Sahara septentrional, avec 1 million de km<sup>2</sup>, est soumise à un extrême du climat méditerranéen, où les pluies surviennent toujours en hiver. Il se présente comme une zone de transition entre les steppes méditerranéennes nord africaines et le Sahara central. La pluviosité à laquelle il est soumis est comprise entre 50 et 100 mm (Chehema, 2006).

La flore du Sahara septentrional est relativement homogène, et les pénétrations méditerranéennes font d'elle l'une des régions les plus riches du Sahara. L'endémisme y est élevé du fait des vastes espaces impropres à la vie, pour le Sahara septentrional, on dénombre 162 espèces endémiques (Chehema, 2006).

Parmi ces espèces endémiques on cite *Ammodaucus leucotrichus* (Chehema, 2006). *Ammodaucus leucotricus* Coss. et Dur. appartient à la famille des Apiaceae (Umbelliferae), de la sous-famille des Apioideae, de la tribu Caucalideae, et comprend une espèce en Algérie (Gherraf *et al.*, 2013).

*Ammodaucus leucotrichus* est une plante aromatique très connue et utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter des différentes maladies. Elle est utilisée sous forme



de poudre ou en décoction pour traiter les douleurs gastriques, les gastralgies et les indigestions. Il est également fréquemment utilisé, en infusion, pour traiter diverses maladies infantiles de l'appareil digestif: dysenterie, nausée, régurgitation et vomissements. Elle possède également des propriétés toniques pour les bébés et se prend en infusion ou dans le bain (Manssouri *et al.*,2015).

Sebaa *et al.* (2018) ont signalé que cette espèce est utilisée pour traiter le rhume, la fièvre, les vomissements, les maux d'estomac et les allergies particulièrement chez les enfants.

Louail *et al.*(2016) dans leur étude ont trouvé que les huiles essentielles d'*Ammodaucus leucotrichus* possèdent des propriétés anti-oxydantes et antimicrobiennes ainsi que des propriétés anti-inflammatoires Selon Halla *et al.* (2018). Alors que Ziani *et al.* (2019) ont choisis d'étudier les compositions chimique d'*Ammodaucus leucotrichus* et leurs propriétés fonctionnels. D'après Gherraf *et al.* (2013), il y a une forte relation entre l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de cette planteet leurs compositions chimiques.

Le nombre des études réalisées sur *Ammodaucus leucotrichus* est faible, en plus, la majorité des ces études s'intéressent à la caractérisation et l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles. Pour cela, cette étude vise à évaluer les activités biologiques des différents extraits de cette espèce. Ce travail s'articule aux deux chapitres :

Le premier est consacré à la présentation de la méthodologie du travail qui renferme le choix et la description botanique du matériel végétal étudié, les techniques d'extraction et d'analyses utilisées ainsi que les protocoles des tests biologiques.

Le deuxième chapitre sera réservé à la présentation de tous les résultats obtenus dans notre étude et de leur discussion.

Une conclusion générale viendra achever le présent travail dans laquelle différentes perspectives de recherches seront évoquées.

# *Chapitre I-Matériel et méthodes*

## Chapitre I-Matériel et méthodes

### I.1.Matériel

#### I.1.1.Matériel végétal

##### I.1.1.1.Choix de l'espèce

L'espèce choisie dans cette étude est *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.. C'est une plante aromatique de la famille Apiaceae, très utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter les maladies gastro-intestinales (Sebaa *et al.*, 2018), les problèmes rénaux et le diabète (Telli *et al.*, 2016). Cette espèce est parmi les espèces peu étudiées. Pour cela, cette étude vise à évaluer les activités biologiques des différents extraits des graines d'*Ammodaucus leucotrichus*.

##### I.1.1.2.Description botanique et systématique

*Ammodaucus leucotrichus* est une plante à fleurs de la famille des Apiaceae et l'unique membre du genre *Ammodaucus*. C'est une petite plante annuelle de moins de 15 à 25 cm de hauteur, à tiges finement striées, ramifiées dès la base. Les feuilles sont finement disséquées et légèrement charnues. Les petites fleurs avec 5 pétales sont groupées en ombelles de 3 à 4 branches sous forme d'une inflorescence. Le fruit est un di-achène, 8-10 mm. La plante est caractérisée par une forte odeur d'anis. *Ammodaucus leucotrichus*, connu localement sous le nom de «kammûn es-sofi ou akâman». (Chehma, 2006 ; Manssouri *et al.*, 2015). (Photo 1)



**Photo 1** : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.(eFlore-Tela Botanica : [www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org))

D'après El haci(2015), la classification qu'occupe *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. est la suivante :

**Tableau 1** : Systématique d'*Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. (El haci, 2015)

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudicots
<b>Sous-classe</b>	Asterids
<b>Ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	<i>Ammodaucus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>

Nom vernaculaire en Arabe est el kamoun soufi, oumdrayga et Akâman, El massoufa; en français : cumin chevelu ; en anglais : *hairy cumin*.

### **I.1.1.3.Ecologie et répartition géographique**

*Ammodaucus leucotrichus* habite les sables maritimes des pays du Sahara.La distribution entière est basé au nord de l'Afrique (Algérie, Tunisie, Maroc, la libye elle s'étend jusqu'àl'Égypte et en Afrique tropicale) elle est assez commune dans tout le pâturagedésertique comme les secteurs de Sahara septentrional et occidental, et rarement dans les secteurs du Sahara central(Mensouri *et al*, 2015 ; Louailet *al.*, 2016).

### **I.1.1.4.Usage thérapeutique**

Plante très réponde pour ces qualités aromatiques et médicinales utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies Elle est utilisée, en poudre ou en infusions pour soigner les maux d'estomac, les troubles digestifs et les vomissements, mais sert aussi contre les allergies et les palpitations. Comme un intérêt alimentaire, Elle peut être utilisée pour aromatiser le thé et redonner de l'appétit(Chehma, 2006).

### **I.1.2. Matériel microbien**

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*, quatre souches bactériennes pathogènes ont été choisies, compris deux bactéries Gram positives qui sont *Staphylococcus aureus* et *Entérocooccuspp.* et deux bactéries Gram négatif qui sont *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Ces souches sont fournies par le laboratoire d'analyses médicales Alamal, Ouargla.

## **I.2. Méthodes**

### **I.2.1. Extraction**

L'extraction des principes actifs d'*Ammodaucus* est effectuée par macération à froid en utilisant trois solvants de polarités différentes.

#### **I.2.1.1. Macération méthanolique**

La macération consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.

Un poids de 10 g de matériel végétal est mélangé avec 100 ml de méthanol. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 h, puis il est filtré. L'extraction est répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par rotavapeur jusqu'à l'évaporation de méthanol. Sont divisés en deux partie, une dissoute dans le méthanol, l'autre dans l'eau renferme 10% de DMSO (v/v). Les extraits obtenus sont conservés dans des flacons sombres à +4°C.

#### **I.2.1.2. Macération d'acétate d'éthyle**

Un poids de 10 g de matériel végétal est mélangé avec 100 ml d'acétate d'éthyle. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 h, puis il est filtré. L'extraction est répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par rotavapeur jusqu'à l'évaporation de l'acétate d'éthyle. Les résidus secs sont divisés en deux partie, une dissoute dans le méthanol, l'autre dans l'eau renferme 10% de DMSO (v/v). Les extraits obtenus sont conservés dans des flacons sombres à +4°C.

### **I 2.1.3. Macération d'éther de pétrole**

Un poids de 10 g de matériel végétal est mélangé avec 100 ml d'éther de pétrole. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 h, puis il est filtré. L'extraction est répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par rotavapeur jusqu'à l'évaporation de l'éther de pétrole. Sont divisés en deux parties, une dissoute dans le méthanol, l'autre dans l'eau renferme 10% de DMSO (v/v). Les extraits obtenus sont conservés dans des flacons sombres à +4°C.

### **I.2.2. Analyses phytochimiques**

#### **I.2.2.1. Criblage phytochimique**

Des réactifs spécifiques ont été utilisés afin de prouver la présence des métabolites suivants :

##### **a. Tanins**

Pour mettre en évidence les tanins, le test de chlorure de fer est utilisé. Ce test consiste à mélanger 2 ml d'extrait avec quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  (1%). Le mélange est incubé pendant 15 min à 50°C. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noir (Trease et Evans, 1987).

La différenciation des tanins (cathéchiques et galliques) est obtenue grâce au réactif de Stiasny (10 ml de formol (35%) + 5ml d'acide chlorhydrique).

Sur 30 ml d'extrait aqueux on ajoute 15 ml de réactif de Stiasny, ensuite la solution est chauffée à reflux au bain marie pendant 15 à 30 minutes. L'apparition d'un précipité de couleur rose claire montre la présence des tanins catéchiques (Mibindzou Mouellet, 2004).

##### **b. Flavonoïdes**

Plusieurs tests ont été utilisés afin de mettre en évidence la présence des différentes classes des flavonoïdes.

### **b1. Anthocyanes**

À 2 ml d'extrait aqueux on ajoute 2 ml d'HCl (2N) puis 2 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH). Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (Ribereau-Gayon, 1968).

### **b2. Réaction à la cyanidine**

À 5 ml d'extrait aqueux, on ajoute 5 ml d'éthanol chlorhydrique (éthanol à 95°, eau distillée et acide chlorhydrique en volumes égales de 5 ml) ensuite quelques copeaux de magnésium sont ajoutés ainsi qu'un ml d'alcool isoamylique. L'apparition d'une coloration sur la couche surnageant d'alcool isoamylique indique la présence des flavonoïdes libres (génine):

- Une coloration rose-orangée indique la présence des flavones.
- Une coloration rose-violacée indique la présence des flavanones.
- Une coloration rouge indique la présence des flavonols et des flavanonols.

La réaction de la cyanidine est effectuée sans ajouter des copeaux de magnésium et chauffée pendant 10 minutes au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brune-rouge (Mibindzou Mouellet, 2004).

### **c. Coumarines**

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml de l'infusé à 5% placé dans un tube dans lequel sont ajoutés 3 ml de NaOH (10%). Après agitation de la solution, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (Diallo, 2000).

### **d. Quinones libres**

A un volume de 5 ml d'extrait sont ajoutés quelques gouttes de NaOH (1%). développent une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet, révèle la présence des quinones libres (Dohou, 2004).

### e. Alcaloïdes

Un volume de 5 ml d'acide chlorhydrique à 1% sont ajoutés à 1 ml de chaque extrait, le mélange est chauffé au bain marie puis chaque extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 5 gouttes de réactif de Mayer (1,36 g HgCl<sub>2</sub> ; 5 g KI ; eau distillée q.s.p 100 ml), l'autre par 5 gouttes de réactif de Wagner (2g KI ; 1,27 g d'iode ; eau distillée q.s.p 100 ml). La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

### f. Terpénoïdes

Deux méthodes ont été utilisées pour détecter la présence des terpénoïdes:

- ✓ **Test de Libermann-Burchard** : A 5 ml d'extrait on ajoute 2 ml d'anhydride acétique et 1 ml d'acide sulfurique. L'apparition d'une couleur mauve ou violette indique un test positif.
- ✓ 5 ml d'extrait est ajouté à 2 ml de Chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes.

### g. Saponosides : test de mousse

Dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait aqueux est agité énergétiquement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Dohou *et al.*, 2003).

### h. Stéroïdes

Dans une capsule, on introduit 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml de l'extrait, qui sont repris dans un tube à essai dans lequel sont ajoutés 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive (Harborne, 1998).



## **i. Composés réducteurs**

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 2 ml de la liqueur de Fehling puis les tubes sont chauffés au bain marie à 40°C. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (Treaseet Evans., 1987)

### **I.2.2.2. Quantification de quelques classes des composés phénoliques**

#### **I.2.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi (1965). Cette méthode est basée sur la réduction des acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolibdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) par les phénols qui sont oxydés (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1982).

Un volume de 40  $\mu$ l de l'extrait ou d'acide gallique (0-800  $\mu$ g/ml) est mélangé avec 1,8 ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec de l'eau distillée). Un volume de 1,2 ml de la solution de  $Na_2CO_3$  (7,5 %) est ajouté au mélange après 5 min. Après une homogénéisation vigoureuse puis un repos de 60 min à l'obscurité, à température ambiante, l'absorbance est mesuré à 765 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique EAG/g de poids sec (PS) de matériel végétal (Shui et Leong, 2006).

#### **I.2.2.2.2. Dosage des flavonoïdes**

La détermination de la teneur en flavonoïdes est effectuée selon la méthode de Kim *et al.* (2003). Cette méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et la soude (NaOH), entraînant ainsi la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm (Beddou, 2015).

Le mélange réactionnel est préparé par l'ajout de 0,3 ml d'une solution de nitrite de sodium  $NaNO_2$  (5%) à 1 ml de l'extrait dilué cinq fois. Après 5 min, 0,3 ml de solution de chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (10%) est ajouté. Le mélange est laissé au repos pendant 5 min, puis 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium NaOH (1 M) sont additionnés. Le volume de ce mélange est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. Après agitation, l'absorbance est mesurée immédiatement à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (SHIMADZU,

UV1240). La gamme étalon est préparée avec la rutine (0,05-0,5 mg/ml) et les résultats sont exprimés en mg équivalent de rutine ER/g de poids sec de matériel végétal.

#### **I.2.2.2.3. Dosage des acides phénols**

L'estimation des acides-phénols est effectuée selon la méthode d'Arnov décrite par Szauffer Hadjrych (2004). Un volume de 1 ml d'échantillon est mélangé à 5 ml de l'eau distillée, puis 1 ml d'HCl (0,5 M), 1 ml de réactif d'Arnov (solution aqueuse de molybdate de sodium 10 (p/v) et nitrite de sodium 10% (p/v)) et 1 ml d'hydroxyde de sodium (1 M) ont été additionnés. Le volume du mélange réactionnel est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. L'acide caféique a été utilisé comme référence pour la préparation de la courbe d'étalonnage avec des concentrations allant de 0 à 200 µg/ml. Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide caféique EAC/g de poids sec de matériel végétal.

#### **I.2.2.2.4. Dosage des tanins condensés et proantocyanidines**

Les tannins condensés, également connus sous le nom de proanthocyanidines dérivés polymériques de flavan-3-ol, sont déterminés par la méthode de Sun *et al.*, (1998) est celle de la vanilline-HCl. qui consiste à dépolymériser les tannins en milieu acide, et après réaction avec la vanilline, à les transformer en antocyanidols de couleur rouge facilement analysables à 510 nm (Beddou, 2015).

La méthode décrite par Sun *et al.* (1998) est celle de la vanilline-HCl. A 0,2 ml de l'extrait, 1 ml de la solution fraîchement préparée de vanilline 1% (p/v) en acide acétique glacial et HCl (98:2, v/v) est ajouté. Après incubation à 30 °C pendant 20 min, l'absorbance est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. L'étalonnage est réalisé avec de la catéchine (de 0 à 1 mg/ml) et le taux des tanins condensés est calculé en mg en équivalent de catéchine EC/g de poids sec de matériel végétal (Telli, 2017).

### **I.2.3. Evaluation des activités biologiques**

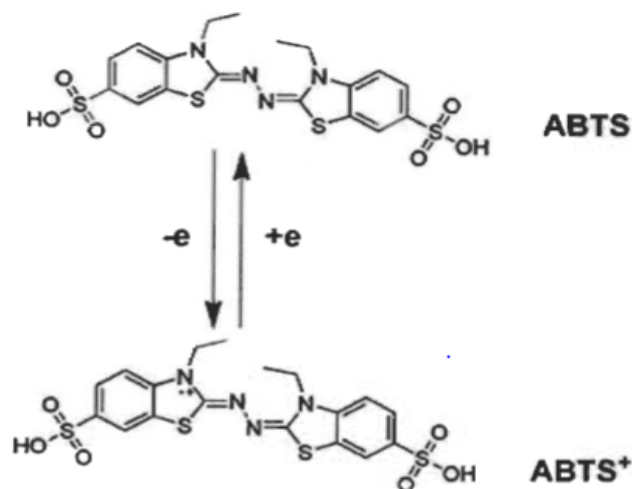
Pour mettre en évidence l'efficacité des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et pour justifier l'utilisation traditionnelle de cette espèce nous avons évalué différentes activités biologiques à savoir l'activité anti-oxydante, l'activité antimicrobienne et l'activité inhibitrice de l'alpha amylase.

### I.2.3.1. Activité anti-oxydante

Dans cette étude, deux tests ont été utilisés pour déterminer la capacité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*, qui sont le test à l'ABTS (2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique acid) et celui de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

#### I.2.3.1.1. Test à l'ABTS

Cette méthode introduite par Miller et Rice-Evans (1993) est basée sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical cation  $ABTS^{•+}$  (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (Fig. 1). La solution du radical cation  $ABTS^{•+}$  est obtenue en mélangeant l'ABTS (7 mM) avec un oxydant le persulfate de potassium (2,45 mM) qui donne une solution d'une couleur bleue intense. L'activité anti-oxydante est déterminée par la mesure de la capacité des composés testés à diminuer l'intensité de la coloration obtenue à partir de l' $ABTS^{•+}$  en la comparant avec un antioxydant de référence, le Trolox (acide 6 hydroxy-2, 5, 7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) (0-500  $\mu$ M) dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E sans la chaîne aliphatique. La réduction de l' $ABTS^{•+}$  (Figure 3) conduit à la décoloration de la solution  $ABTS^{•+}$  mesurée à 734 nm de la solution (Re *et al.*, 1999). Plus l'absorbance finale est faible, plus la valeur TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) est élevée, ce qui signifie l'efficacité de l'antioxydant. les résultats sont exprimés en  $\mu$ M ET/g de poids sec de matériel végétal (Schlesier *et al.*, 2002).

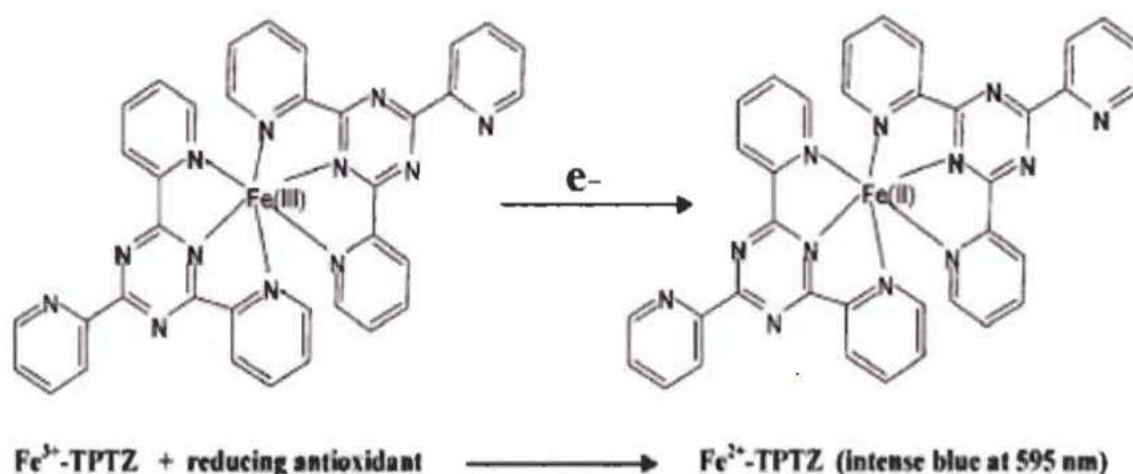


**Figure 1:** Réduction du radical cation  $ABTS^{•+}$  en cation  $ABTS^+$  (Christopher *et al.*, 2014).

La solution de radical d'ABTS<sup>•+</sup> est préparée par la réaction entre une solution d'ABTS 7 mM et une solution de persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 2,45 mM incubées à 23 °C pendant 12 à 16 heures, à l'obscurité. La solution d'ABTS<sup>•+</sup> est diluée avec l'éthanol (80%) jusqu'à l'obtention d'une absorbance égale à 0,700±0,020 à 734 nm (Cai *et al.*, 2004). Un volume de 3,9 ml de cette solution est mélangé avec 0,1 ml de l'échantillon testé, préparé à différentes concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 200, 400, 800 µg/ml). Le mélange est agité vigoureusement. Après un repos de 6 min à 23 °C, l'absorbance est mesurée à 734 nm. La courbe d'étalonnage est obtenue en utilisant une solution éthanolique de Trolox (acide carboxylique 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman) à différentes concentrations (0 à 500 µM). Les résultats sont exprimés en µM en équivalent de Trolox ET/g de poids sec de matériel végétal.

### I.2.3.1.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP, *Ferric Reducing Ability of Plasma*)

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer (le passage de la forme ferrique au ferreux) (Pellegrini *et al.*, 2003). Elle consiste à observer après quatre minutes le changement d'absorbance à 593 nm dû à la réduction du complexe Fe<sup>3+</sup>-TPTZ (fer-2, 4,6-tripyridyl s-triazine) en Fe<sup>2+</sup>-TPTZ et à l'apparition d'une couleur bleue (Benzie et Strain, 1996; Roginsky et Lissi, 2005) (Figure 2).



**Figure 2** : Réaction de la réduction de Fe<sup>3+</sup>-TPTZ en Fe<sup>2+</sup>-TPTZ de la réduction (Prior *et al.*, 2005).

Le pouvoir réducteur du fer (Fe<sup>3+</sup>) est déterminé dans les différents extraits, selon la méthode de Benzie et Strain (1996) avec de légères modifications (Jaitak *et al.*, 2010). Le principe de cette méthode est basé sur la réduction de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine

ferrique (TPTZ-  $\text{Fe}^{3+}$ ) au ferreux (TPTZ-  $\text{Fe}^{2+}$ ), une forme colorée obtenues en présence d'un agent antioxydant (Figure 4). Le réactif FRAP est préparé à partir de tampon acétate (0,3 M, pH 3,6), de TPTZ 10 mM en solution dans de l'HCl 40 mM et d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  (20 mM) en proportion de 10 : 1 : 1 (v/v) respectivement. 1 mg de chaque extrait sec est dissouts dans 5 ml d'éthanol aqueux (70%) puis dilué pour obtenir différentes concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 200, 400, 800  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). 50  $\mu\text{l}$  de ces solutions sont ajoutés à 1,5 ml de réactif FRAP. L'absorbance du mélange réactionnel est ensuite mesurée à 593 nm après 4 min par rapport à l'éthanol aqueux à 70% (Jaitak *et al.*, 2010). Le Trolox a été utilisé comme standard (0 à 800  $\mu\text{M}$ ) et les résultats sont exprimés en  $\mu\text{M}$  équivalent de Trolox (Telli, 2017).

### **I.2.3.2. Activité antibactérienne**

L'évaluation de l'activité antibactérienne est faite par deux méthodes, une qualitative (diffusion sur milieu gélosé) est basée sur la mesure du diamètre de la zone d'inhibition et l'autre quantitative (micro-dilution) permet la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice).

#### **I.2.3.2.1.Préparation de l'inoculum**

Une pré-culture des souches est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée par spectrophotomètre à 0,5 McFarland, ce qui correspond à  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml (DO entre 0,08 et 0,1 à 625 nm).

#### **I.2.3.2.2.Méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé**

Dans cette méthode, la surface de l'agarest inoculée avec l'inoculum normalisé (turbidité ajusté entre 0,08 et 0,12 a 625 nm) de microorganisme testé. Ensuite, des disques en papier wattman n° 1 (de 6 mm de diamètre) imprégnés d'une quantité bien déterminée de l'extrait étudié (100 $\mu\text{l}$ ), sont placés sur la surface de la gélose.une fois que les disquessont placés sur la gélose, les boites de pétri sont incubées a 37 °C pendant 18 a 24 heures. Après cette incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition (diamètre de disque compris) est mesuré en mm et noté (NCCLS, 2004a ; NCCLS, 2004b ; ASM ,2005).pour chaque extrait, une série de dilution a été effectuée afin de déterminer la plus petite concentration capable d'inhiber la croissance microbienne (1,1/2, 1/4,1/8, 1/16, et 1/32, 0). Un antibiotique a été utilisé comme témoin positif : gentamycine. Le témoin négatif utilisé l'eau distillée avec le DMSO.

Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches (Ponce *et al.*, 2003).

- Non sensible ou résistante : diamètre < 8mm
- Sensible : diamètre compris entre 9 à 14 mm
- Très sensible : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible : diamètre > 20 mm

#### **I.2.3.2.3.Méthode de micro-dilution en milieu liquide**

Pour déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice) des différents extraits végétaux, ce test est réalisé en utilisant une microplaque de 96 puits selon la méthode décrite par Perumal *et al.* (2012). Tous les puits sont remplis avec 100 µl de bouillon de Muller Hinton stérile. Un volume de 50 µl de la gamme de dilution de l'extrait testé (1, ½, ¼, 1/8, 1/16 et 1/32) est ajouté dans les puits des lignes B jusqu'à G. Les colonnes de 1 à 4 sont utilisées pour l'extrait méthanolique, les suites (5 à 8) pour l'extrait d'acétate d'éthyle et les restes (9 à 12) pour l'extrait d'éther de pétrole. Les puits de la ligne H ont servi pour le témoin positif (Gentamycine de 5 mg/ml). La rangée A ne renferme aucun extrait ni agent antimicrobien. Enfin, 100 µl de la suspension bactérienne contenant 10<sup>8</sup> UFC/ml sont additionnés à tous les puits et bien mélangés. Les microplaques sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. La CMI des différents extraits est détectée après l'ajout de 50 µl d'une solution d'INT (0,2 mg/ml) à tous les puits et incubés à 37 °C pendant 30 min. L'iodonitrotétrazolium chloride (INT), initialement de couleur jaune, est un indicateur de la croissance microbienne après sa réduction en formazane de couleur rouge rosé. La croissance bactérienne est déterminée en observant le changement de la couleur d'INT (rouge rosée de formazane quand il y a croissance et une solution claire et quand il n'y a pas de croissance). La CMI correspond à la plus faible concentration en agent actif capable d'inhibé totalement la croissance d'un microorganisme donné (NCCLS, 2004c ; NCCLS, 2004d ; Perumal *et al.*, 2012 ; SFM, 2014 ; Telli, 2017).

Hamada et Ladjel (2015) ont proposé une classification de l'extrait de plante sur la base de leurs valeurs de CMI :

- Forte inhibition : CMI < 500 µg / ml
- Inhibition modérée : 600 µg / ml < CMI < 1500 µg / ml
- Faible inhibition : CMI > 1600 µg / ml.

### I.2.3.3. Inhibition de l' $\alpha$ -amylase

L'étude de l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase par les différents extraits est effectuée selon la méthode décrite par Apostolidis *et al.* (2007). L'amylase utilisé dans cette étude est d'origine porcine (EC 3.2.1.1). Le milieu réactionnel est constitué de 500  $\mu$ l de chaque extrait à différentes concentrations et 500  $\mu$ l de tampon phosphate de potassium 0,02 M (pH 6,9) contenant du NaCl 0,006 M) et de l' $\alpha$ -amylase (0,5 mg/ml). L'ensemble est incubé à 25 °C, pendant 10 min. Après cette pré-incubation, 500  $\mu$ l d'une solution d'amidon (1%) dans le même tampon phosphate sont ajoutés. Les mélanges réactionnels sont de nouveau incubés à 25 °C, 10 min. La réaction est arrêtée avec 1 ml de réactif coloré d'acide dinitrosalicylique DNS (1g DNS, 20ml NaOH 2 M, 30g tartrate double de Na et K dissouts dans 100 ml d'eau distillée). Les mélanges sont placés pendant 5min au bain-marie bouillant puis refroidis à température ambiante.

Après dilution 10 fois avec de l'eau distillée, l'absorbance est mesurée à 540 nm. Le Glucor (Acarbose) a été utilisé comme standard (0 à 100  $\mu$ g/ml) (Gopinath *et al.*, 2013). Le pourcentage d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Atémoin} - \text{Aextrait} / \text{Atémoin}) \times 100$$

**Témoin :** solution d'amidon + l'enzyme  $\alpha$ -amylase.

### I.3. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type de trois répliques analytiques. Le test de Mood a été réalisé pour évaluer la variabilité entre les paramètres étudiés. La régression linéaire a été utilisée comme modèle afin de déterminer  $CI_{50}$ . Le coefficient de corrélation de Person a été calculé pour déterminer la corrélation entre les méthodes de l'activité anti-oxydante et l'influence de différents solvants. Toutes les analyses ont été réalisées avec XLSTAT 2019.

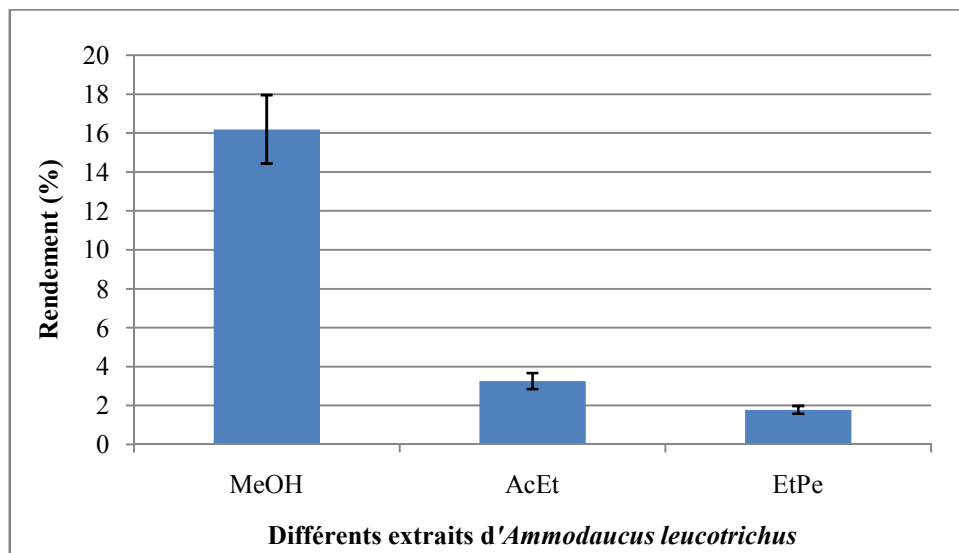
*Chapitre II-Résultats  
et discussion*



## Chapitre II-Résultats et discussion

### II.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* a été calculé et les résultats sont représentés dans la figure 3.



**Figure 3 :** Rendement d'extraction des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Selon ces résultats, il apparaît que le rendement le plus important est enregistré pour l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* qui est de l'ordre de 16,19±1,76 %, suivi par celui de l'extrait d'acétate d'éthyle avec un taux de 3,26±0,41%, alors que le taux le plus faible est obtenu avec l'extrait d'éther de pétrole qui est égal à 1,78±0,2% (Fig. 3).

L'analyse statistique effectuée montre qu'il y a des différences significatives entre les trois extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ( $P < 0,001$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

Le rendement d'extraction, en générale, est affecté par plusieurs facteurs tels que la polarité du solvant ou du système de solvants d'extraction, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition d'échantillon (Doet *al.*, 2013)

Au vue des résultats, il apparaît que la polarité a une grande influence sur la quantité d'extrait sec obtenu. En effet, Doet *al.* (2013) ont montré que le rendement d'extraction est proportionnel à la polarité du solvant.

Notre résultat de l'extrait méthanolique est en accord avec ceux obtenus par El haci *et al.* (2018) et bouchouka (2016) avec taux de  $10,02 \pm 0,49\%$  et  $10,14\%$  respectivement. En ce qui concerne l'extrait d'AcEt, nous constatons que notre résultat est inférieur à celui obtenu par Elhaciet *al.* (2018).

## II.2. Analyses phytochimiques

### II.2.1. Criblage phytochimique

Différents tests ont été utilisés afin de mettre en évidence la présence de certains métabolites dans les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 1.

**Tableau 2:** Résultats de criblage phytochimique des différents extraits d'*Ammodaucusleucotrichus*

Extrait Métabolite		MeOH	AcEt	EtPe
Tanins	Tanins gallique	+	+	-
	Tanins catéchiques	+	+	-
Flavonoïdes	Anthocyanes	+	-	-
	flavones.	+	-	-
	Flavanones	-	-	-
	flavonols et flavanonols.	-	-	-
	Réaction à la cyanidine	+	+	-
Coumarines		+	+	+
Quinones libres		+	+	+
Alcaloïdes	Réactif de Mayer	-	-	-
	Réactif de Wagner	-	-	-
Terpénoïdes	Test de Libermann- Burchard	+	+	+
	2 <sup>ème</sup> test	+	+	+
Saponosides (test de mousse)		-	-	-
Stéroïdes		+	+	+
Composes réducteurs		-	-	-

(+) : présence , (-) : absence

Il ressort des résultats présentés dans le tableau 2 que les extraits méthanolique et d'AcEt renferment la majorité des métabolites testés à l'exception des alcaloïdes, des saponines et des composés réducteurs. En ce qui concerne l'extrait d'EtPe, nous observons qu'il ne contient que les métabolites liposolubles tels que les terpénoïdes et les stéroïdes.

La présence et/ou l'absence des composés chimiques dans les extraits peut être expliquée par le fait que la matière végétale peut contenir des quantités variables des acides phénoliques, des anthocyanines et des tanins, parmi d'autres. Il y a aussi une possibilité d'interaction de ces métabolites avec d'autres composants végétaux tels que les glucides conduisant à la formation des complexes qui peuvent être assez insolubles (Naczka et Shahidi, 2006).

La richesse de l'extrait méthanolique en différents métabolites peut être due à la polarité du méthanol qui permet l'extraction de la majorité des composés polaires présents dans le matériel végétal (Mahmoudi, 2013)

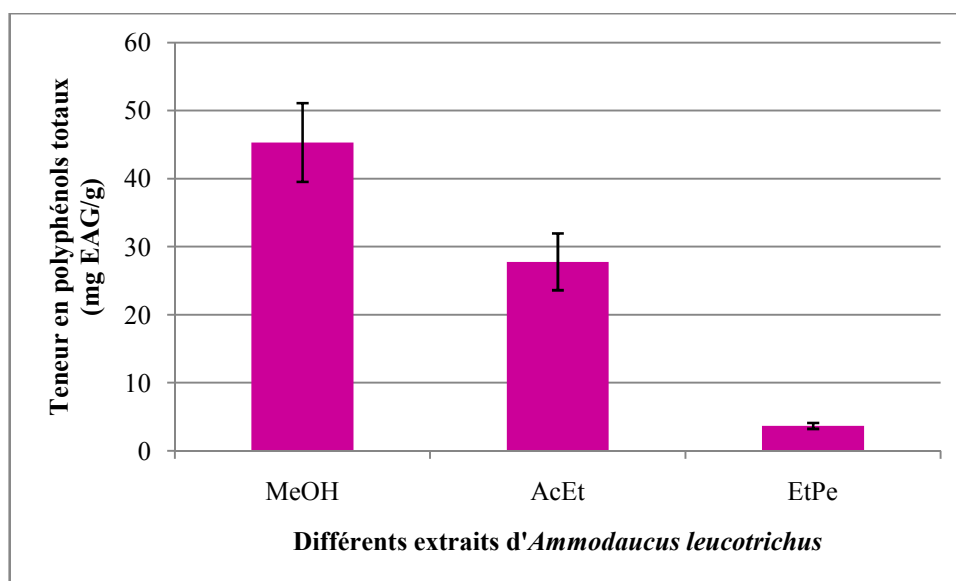
L'étude réalisée par Gherraf *et al.* (2013) ont trouvé que l'extrait aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* riche en coumarines, tanins et dépourvue des alcaloïdes.

Cependant, Halla *et al.* (2019) ont mis en évidence la présence des alcaloïdes dans les extraits hydrométhanoliques des graines d'*Ammodaucus leucotrichus*. Aussi, Sabaa *et al.* (2017) ont montré la présence des alcaloïdes, des saponines et des composés réducteurs dans les graines d'*Ammodaucus leucotrichus*.

## **II.2.2. Quantification de quelques classes des composés phénoliques**

### **II.2.2.1. Teneur en polyphénol totaux**

Le dosage des polyphénols totaux est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu et les résultats obtenus des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont représentés dans la figure 4.



**Figure 4 :** Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Selon les résultats présentés dans la figure 4, nous constatons que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a enregistré la teneur la plus importante en polyphénols totaux avec un taux de 45,33±5,79 mg EAG/g, suivie par celle de l'extrait d'AcEt qui a une teneur égale à 27,78±4,18 mg EAG/g, alors que l'extrait d'EtPe a la teneur la plus faible qui est de l'ordre de 3,67±0,44mg EAG/g.

Statistiquement, il y a des différences significatives dans la teneur en polyphénols totaux entre les trois extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ( $P < 0,0001$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

Cette variation de la teneur en polyphénols totaux des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* peut être due au fait que la distribution des polyphénols des parties végétales est affectée par la solubilité des polyphénols dans le solvant utilisé lors du processus d'extraction. En plus, La polarité du solvant est un facteur important dans la solubilité accrue des polyphénols (Naczki et Shahidi, 2006).

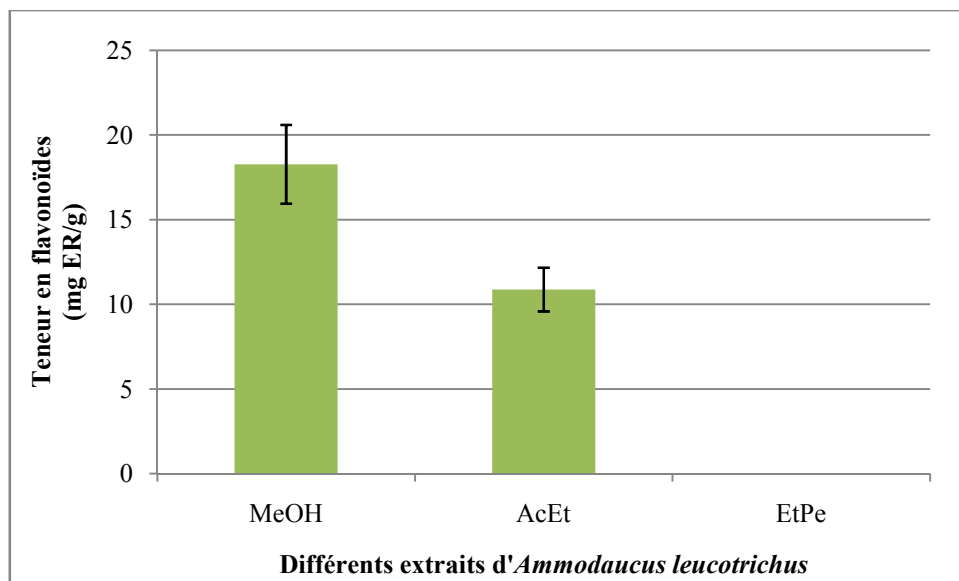
La glycosylation et le nombre des groupements hydroxyle ont une grande influence sur l'extraction des composés phénoliques, et par conséquent, sur leurs teneurs. En effet, Falleh *et al.* (2008) ont signalé que la solubilité des polyphénols est dépend le type de solvant utilisé, ainsi que sa degré de polymérisation.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux de Bouchouka (2012) qui a trouvé que la teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* est égale à

04.16±0.05 mg EAG/g. A l'opposé, El haci *et al.* (2018) ont trouvé un taux plus élevé en polyphénols totaux (118.69±8.5 mg EAG/g) de l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus*, mais la teneur d'extrait d'acétate d'éthyle est inférieure à celle obtenue dans cette étude (20.9±3.12 mg EAG/g).

#### II.2.2.2. Teneur en flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* est effectuée selon la méthode décrite par Kim *et al.* (2003). Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits sont calculées et les résultats sont représentés dans la figure 5.



**Figure 5 :** Teneur en flavonoïdes des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Nous constatons que les flavonoïdes sont présents dans deux extraits (méthanolique et AcEt) d'*Ammodaucus leucotrichus*, mais ils sont absents dans l'extrait d'EtPe (Fig. 5).

D'après les résultats de la figure 3, il apparaît que l'extrait méthanolique est plus riche en flavonoïdes en comparaison avec l'extrait d'AcEt. La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique est égale à 18,27±2,33 mg ER/g, alors qu'elle est 10,87±1,29 mg ER/g pour l'extrait d'AcEt.

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont significatives ( $P < 0,004$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

Selon Stanković (2011), les concentrations des flavonoïdes sont en relation étroite avec la polarité des solvants utilisés dans l'extraction. En effet, ce chercheur a trouvé que

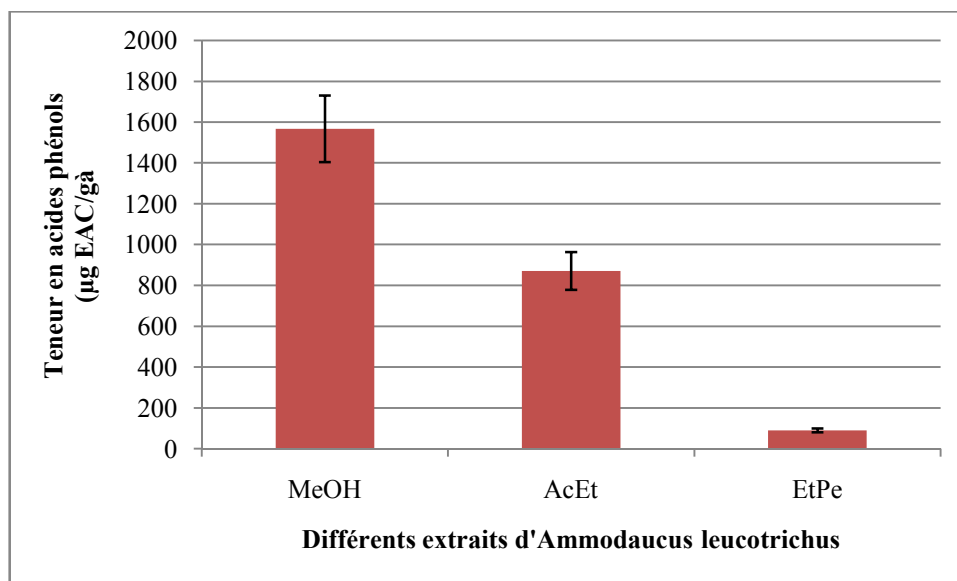
l'extrait méthanolique de *Marrubium peregrinum* L. est plus riche en flavonoïdes en comparaison avec l'extrait d'AcEt (Stanković, 2011).

La richesse de l'extrait méthanolique en flavonoïdes peut être expliquée par le fait que la concentration de ces derniers dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait (Ghedadbaet *al.*, 2015).

El Hacı *et al.* (2018) ont rapporté que les extraits méthanolique et d'AcEt d'*Ammodaucus leucotrichus* sont très riches en flavonoïdes et les teneurs sont de l'ordre de  $66,65 \pm 0,37$  EQ/g  $21,48 \pm 0,84$  mg EQ/g respectivement) et qui sont plus élevées en comparaison avec nos résultats.

### II.2.2.3. Teneur en acides phénols

Les teneurs en acides phénols des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* exprimées en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide caféique par gramme de poids sec de matériel végétal, sont représentées dans la figure 6 ci- dessous.



**Figure 6 :** Teneur en acides phénols des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

L'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a enregistré le taux le plus élevé des acides phénols qui est de l'ordre de  $1567,77 \pm 163,33 \mu\text{g EAC/g}$ , suivi par celui de l'extrait d'AcEt qui est égal à  $871,03 \pm 92,28 \mu\text{g EAC/g}$ . L'extrait d'EtPe a la teneur la plus faible en acides phénols ne dépassant pas  $89,91 \mu\text{g EAC/g}$  (Fig. 6).

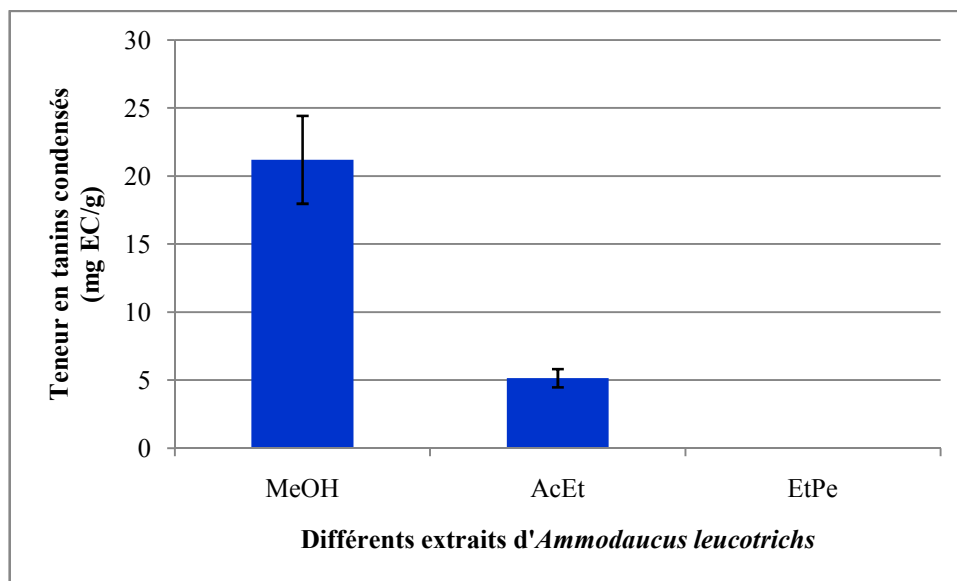
La comparaison effectuée entre les trois extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* montre que les différences enregistrées dans les teneurs en acides phénols de ces extraits sont significatives ( $P < 0,0001$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

Les différences enregistrées entre les trois extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* peuvent être dues à la différence de polarité des trois solvants utilisés pour l'extraction. En effet, Doet *al.* (2013) ont montré la richesse de l'extrait méthanolique en composés phénoliques en comparaison avec d'autres extraits.

#### II.2.2.4. Teneur en tanins condensés

Le dosage des tanins condensés dans les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* été réalisé par la méthode de vanilline-HCl, et la gamme d'étalonnage est établie avec des différentes concentrations de catéchine.

Les résultats de dosage des tanins condensés des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont représentés dans la figure 7.



**Figure 7:** Teneur en tanins condensés des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Les résultats de la figure 7 montrent que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a enregistré la teneur la plus élevée en tanins condensés qui est de 21,21±3,23 mg EC/g, en comparaison avec l'extrait d'AcEt qui a une concentration de 5,16±0,67mg EC/g. Cependant, l'extrait d'EtPe est caractérisé par l'absence des tanins condensés.

Les analyses statistiques réalisées ont montré qu'il y a des différences significatives dans les teneurs en tanins condensés des divers extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ( $P < 0,01$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

Ghedadba et al. (2015) ont rapporté que les quantités des tanins condensés dépendent de leur nature chimique et du solvant utilisé dans l'opération. Et à partir cela, nous disons à chaque fois plus la polarité de solvant est grande, plus la quantité des tanins condensés augmente.

Dans la littérature, il y a peu des études qui ont été faites sur *Ammodaucus leucotrichus*, et celles effectuées n'ont pas déterminé la teneur en tanins condensés.

Cependant, Athmouniet al. (2015) ont trouvé que les teneurs en tanins condensés de *Thapsia garganica* espèce de famille des Apiaceae sont inférieures à celles obtenues dans le présent travail, qui sont de l'ordre de  $4,73 \pm 0,22$  mg EC/g pour l'extrait d'acétate d'éthyle et de  $2,24 \pm 0,17$  mg EC/g pour l'extrait méthanolique.

### II.3. Activités biologiques

Différentes activités biologiques ont été évaluées afin de valoriser les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*. Les activités biologiques évaluées sont : l'activité anti-oxydante, l'activité antibactérienne et l'activité antidiabétique *in vitro* par la mesure du pouvoir inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase par ces extraits.

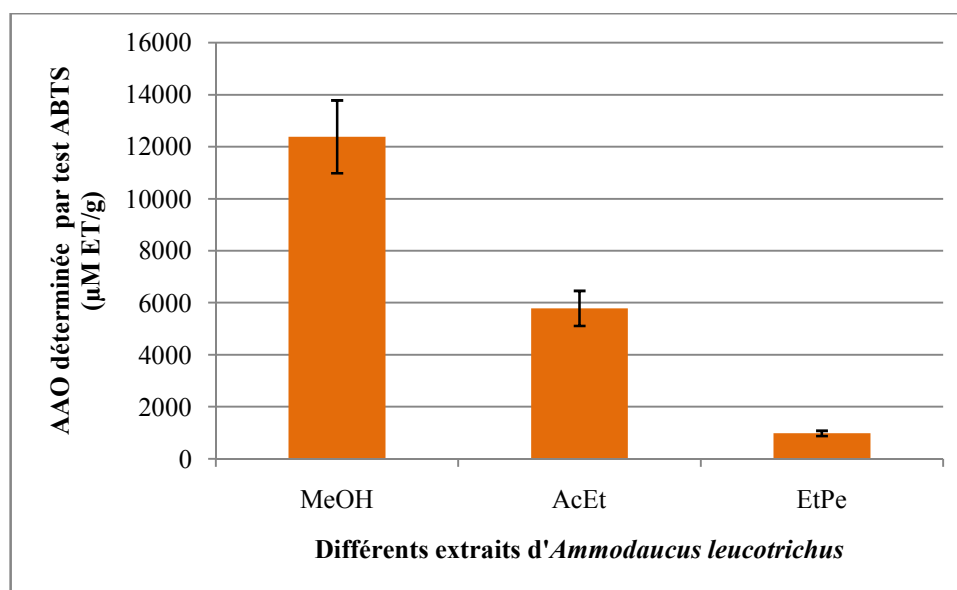
#### II.3.1 Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* a été évaluée par deux tests, il s'agit de l'inhibition du radical cation  $ABTS^{*+}$  et la réduction des ions de fer (FRAP).

##### II.3.1.1. Inhibition du radical cation $ABTS^{*+}$

L'inhibition du radical cation  $ABTS^{*+}$  se traduit par la décoloration de mélange et déterminée en fonction de la concentration calculée par rapport à la réactivité de Trolox, dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 8.





**Figure 8 :** Activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* déterminée par le test ABTS.

Les résultats obtenus, exprimés en  $\mu\text{M}$  équivalent de Trolox, ont montré que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a la capacité la plus importante à inhiber le radical cation  $\text{ABTS}^{*+}$  et qui est de l'ordre de  $12378,83 \pm 1398,11 \mu\text{M ET/g}$ , alors que l'extrait d'EtPe a le pouvoir inhibiteur le plus faible ( $978,57 \pm 102,22 \mu\text{M ET/g}$ ).

Les valeurs de  $\text{CI}_{50}$  des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et de l'antioxydant standard sont calculées et les résultats sont illustrés dans le tableau 2.

**Tableau 3 :**  $\text{CI}_{50}$  pour le test ABTS des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et de Trolox.

Extrait/standard	MeOH	AcEt	EtPe	Trolox
$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$75,07 \pm 1,08$	$2284,74 \pm 122,60$	$4454,68 \pm 132,23$	$139,33 \pm 10,87$

Il ressort des résultats de tableau 3 que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a enregistré la valeur de  $\text{CI}_{50}$  la plus faible ( $75,07 \pm 1,08 \mu\text{g/ml}$ ) en comparaison avec celle de l'antioxydant standard le Trolox ( $139,33 \pm 10,87 \mu\text{g/ml}$ ), ce qui montre que l'extrait méthanolique est le plus efficace dans l'inhibition du radical cation  $\text{ABTS}^{*+}$ . Les autres extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ont des faibles pouvoirs inhibiteurs du radical cation  $\text{ABTS}^{*+}$  avec des  $\text{CI}_{50}$  très élevées en comparaison avec celle de Trolox (Tableau 2).

Les analyses statistiques réalisées ont montré que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont significatives ( $P < 0,027$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

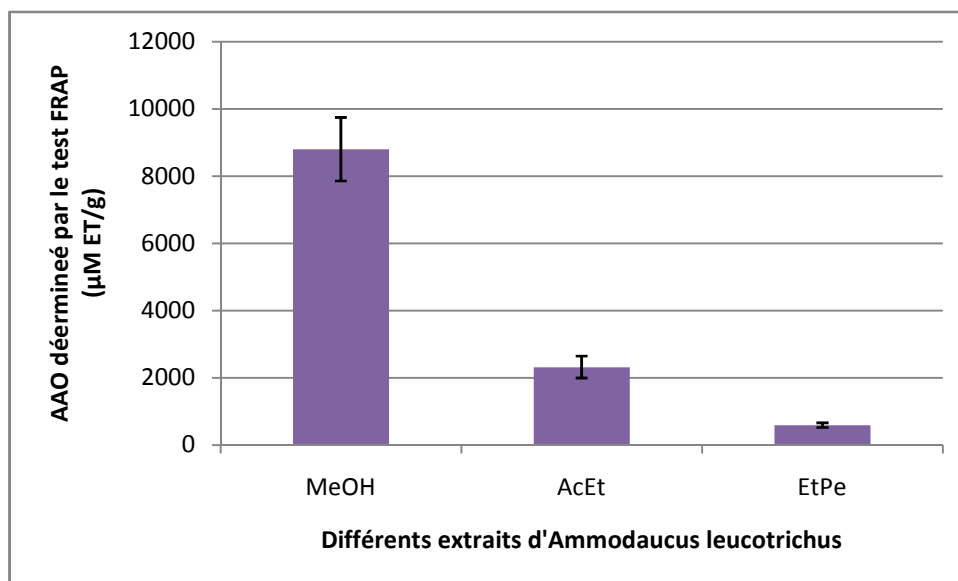
La mesure de l'activité anti-oxydante des antioxydants purs ou de mélange par le test ABTS est basée sur une réaction de réduction du radical cation ABTS<sup>•+</sup> (couleur bleue) en ABTS<sup>+</sup> (incolore) par un transfert d'électron ou d'hydrogène de l'antioxydant vers le radical, qui se traduit par la décoloration du mélange réactionnel (Re, 1998 ;Rice-Evans, 1995). Guillouty (2016) a indiqué que les polyphénols sont les antioxydants les plus importants apportés par les végétaux permettant le piégeage des espèces radicalaires, ce qui par conséquent bloquant la propagation des réactions de l'oxydation.

L'activité anti-oxydante mesurée par le test est influencée par la nature chimique des composés présents dans les extraits. Cette dernière est en relation étroite avec la polarité de solvants utilisés pour l'extraction des substances bioactives du matériel végétal. En effet, El haci *et al.* (2018) ont trouvé que l'extrait méthanolique a le pouvoir antioxydant le plus remarquable en comparaison avec les autres extraits où les solvants utilisés sont moins polaires.

L'étude réalisée par El haci (2015) a montré que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* présente une capacité anti-oxydante très importante par rapport à celles des autres extraits. Athmouni *et al.* (2015), dans leur études sur deux espèces de la même famille des Apiaceae (*Ammodaucus leucotrichus* et *Thapsia garganica*), ont trouvé que l'extrait de méthanol d'*Ammodaucus leucotrichus* a une activité anti-oxydante égale à  $1,23 \pm 0,07$  mM ET/g et celle de l'extrait d'acétate d'éthyle est de  $1,41 \pm 0,32$  mM ET/g, mais inférieures à celles des nos extraits.

### II.3.1.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

L'activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* a été évaluée aussi en utilisant la méthode de FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*). La réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> est mesurée par une réaction colorimétrique selon la méthode de Banzie et Strain (1996). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 9.



**Figure 9 :** Activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* déterminée par le test FRAP.

A partir des résultats rapportés dans la figure 9, nous avons remarqué que tous les extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ont présenté un pouvoir réducteur dont les valeurs sont entre 8796,67±945,28 μM ET/g pour l'extrait méthanolique et 589,12± 67,71μM ET/g pour l'extrait de l'EtPe.

Les concentrations efficaces permettant la réduction de 50% des ions ferriques des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ainsi que d'antioxydant standard utilisé sont déterminées et les résultats sont présentés dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** CE<sub>50</sub> pour le test FRAP des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et de Trolox.

Extrait/standard	MeOH	AcEt	EtPe	Trolox
CI <sub>50</sub> (μg/ml)	95,65±9,62	1611,45±151,80	4032,05±387,62	193,33±21,57

D'après ces résultats, l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a la valeur de CE<sub>50</sub> la plus faible (95,65±9,62 μg/ml) et qui est inférieure à celle de l'antioxydant standard utilisé (Trolox) (Tableau 4), ce qui signifie l'efficacité de cet extrait à réduire les ions de Fe<sup>3+</sup>. Les autres extraits (AcEt et EtPe) ont des pouvoirs à réduire 50% des ions ferriques très faibles en comparaison avec le Trolox (Tableau 4).

Les analyses statistiques réalisées ont montré qu'il y a des différences significatives entre les pouvoirs réducteur de fer des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ( $P < 0,008$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

Ces différences de pouvoir réducteur de fer des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* peuvent être dues à la différence de la polarité des solvants utilisés pour l'extraction et aux composés extraits par chaque solvant (Soufi, 2009 ; Athmouni *et al.*, 2015).

*Ammodaucus leucotrichus* est parmi les espèces les moins étudiées. Pour cela, il n'y a pas beaucoup d'études qui ont réalisées sur le pouvoir antioxydant des différents extraits de cette espèce. L'étude réalisée par Halla *et al.* (2018) a montré que l'extrait hydrométhanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a un pouvoir réducteur de fer très intéressant, exprimé en  $CE_{50} = 25,93 \pm 1,82$  mg/ml, mais elle est supérieure à notre résultat de l'extrait méthanolique.

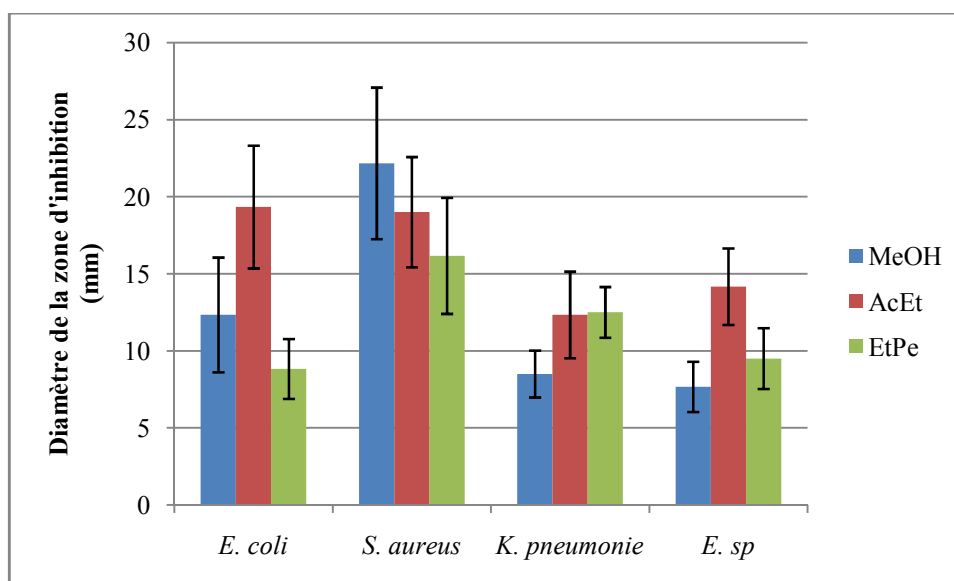
Le travail effectué sur l'activité anti-oxydante des extraits méthanolique et d'AcEt de *Thapsia garganica* (Apiaceae) a montré que ces extraits sont efficaces dans la réduction de fer mais ils ont des capacités réductrices faibles en comparaison avec nos résultats (Athmouni *et al.*, 2015). Pirbalouti *et al.* (2013) ont évalué l'activité réductrice de fer de trois espèces de la famille des Apiaceae. Ces auteurs ont montré que l'extrait méthanolique présente le pouvoir antioxydant le plus important dans la réduction de fer.

### **II.3.2. Activité Antibactérienne**

Le pouvoir antibactérien des différents extraits des graines d'*Ammodaucus leucotrichus* a été évalué sur 4 souches bactériennes en utilisant deux méthodes : une qualitative (diffusion sur milieu gélosé) et l'autre quantitative (microdilution) permettant la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

#### **II.3.2.1. Diffusion sur milieu solide (diamètre de la zone d'inhibition)**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des graines d'*Ammodaucus leucotrichus* a été réalisée sur les souches bactériennes suivantes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus sp.* Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions sont représentés dans la figure 10.



**Figure 10 :** Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sur les souches bactériennes testées.

On note que *S. aureus* est la souche la plus sensible à l'action des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* avec des diamètres de zone d'inhibition compris entre 16 et 22 mm. L'extrait méthanolique exerce l'effet inhibiteur de la croissance le plus important sur cette souche (Fig. 10).

En ce qui concerne *E. coli*, nous constatons que l'extrait d'AcEt d'*Ammodaucus leucotrichus* est le plus efficace dans l'inhibition de la croissance de cette souche avec un diamètre dépassant 19 mm (Fig. 10).

Contrairement aux *S. aureus* et *E. coli*, les souches de *k. pneumoniae* et *Enterococcus sp.* sont résistantes à l'action de l'extrait méthanolique avec des zones d'inhibition inférieures à 9 mm de diamètre. En ce qui concerne l'extrait d'AcEt, nous constatons qu'il a inhibé la croissance d'*Enterococcus sp.* avec un diamètre de la zone d'inhibition dépassant 14 mm. *Klebsiella pneumoniae* présente une sensibilité moyenne à l'action des extraits d'AcEt et d'EtPe (Fig. 10).

### II.3.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La méthode de microdilution en milieu liquide permet la détermination de CMI des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 5.

**Tableau 5 :** Valeurs de Concentrations minimales inhibitrices (CMI en  $\mu\text{g/ml}$ ) des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Extrait \ Souches	MeOH	AcEt	EtPe
<i>E. coli</i>	347,75 $\pm$ 36,67	156,42 $\pm$ 16,11	789,03 $\pm$ 81,17
<i>S. aureus</i>	96,78 $\pm$ 11,32	128,89 $\pm$ 14,27	178,33 $\pm$ 21,61
<i>K. pneumonie</i>	567,71 $\pm$ 63,33	304,89 $\pm$ 31,47	380,38 $\pm$ 42,21
<i>Enterococcus sp.</i>	612,33 $\pm$ 65,78	273,16 $\pm$ 34,87	483,33 $\pm$ 52,34

D'après les résultats de tableau 5, il ressort que les valeurs de CMI les plus faibles sont celles obtenues avec tous les extraits après action sur *S. aureus* allant de 96,78 $\pm$ 11,32  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait méthanolique à 178,33 $\pm$ 21,61  $\mu\text{g/ml}$  pour l'extrait d'EtPe. L'extrait d'AcEt est le plus efficace dans l'inhibition de la croissance d'*E. coli* avec CMI=156,42 $\pm$ 16,11  $\mu\text{g/ml}$ . Les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont moins actifs sur *K. pneumonie* et *Enterococcus sp.* (Tableau 5). Les valeurs de CMI des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont compris entre 96, 78 $\pm$  11,32  $\mu\text{g/ml}$  et 789,03 $\pm$  81,17 $\mu\text{g/ml}$ .

La variation de l'activité antimicrobienne d'*Ammodaucus leucotrichus* peut être influencée par deux facteurs l'un est la composition chimique des différents extraits et l'autre c'est le type des microorganismes (Lakhdar, 2015).

D'abord il faut comprendre le mécanisme d'action des constituants des huiles essentielles sur la cellule bactérienne, ces molécules sont distinguées par leur hydrophobicité. ce caractère permet leur solubilisation dans les membranes, ce qui déstabilise de la structure et une augmente de la perméabilité membranaire. Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires. Les pertes des éléments cytoplasmiques sont indispensables à la survie de la bactérie ou d'un taux très important de matériel, provoque la destruction de la cellule bactérienne (Guinoiseau, 2010).

Kaushalet *al.* (2014) ont trouvé dans leur étude une forte corrélation entre la quantité totale des composés phénoliques extraits et la polarité du solvant utilisé pour l'extraction. Ils

ont aussi signalé que la richesse des extraits en composés phénoliques peut être responsable de l'activité antimicrobienne de ces extraits (Kaushalet *al.*, 2014).

L'activité antimicrobienne de nos extraits vis-à-vis les souches bactériennes étudiées peut être attribuée à la présence des différents métabolites secondaires, en particulier, les flavonoïdes, les tanins, les acides phénol et les terpènes qui assurent des propriétés antimicrobiennes(Sebaa *et al.*, 2017).

L'influence remarquable des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sur *S. aureus* peut être expliquée par le fait que cette souche est de Gram+ et que ces souches sont connues par leur sensibilité à l'action des différents métabolites secondaires (Bouzouita *et al.*, 2008). Néanmoins, Les cocci à Gram positif se caractérisent aussi par leur capacité d'évolution de leurs phénotypes de résistance aux antibiotiques (Quincampoix et Mainardi., 2001),ce qui justifie la résistance d'*Entérocooccus.sp* à l'action des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Cockenpotest(2014) a expliqué la résistance des bactéries à Gram négatif (*K. pneumonie et E.coli*) par la présence d'une membrane externe qui est composée de phospholipides et d'une couche de LPS qui agissent comme barrière sélective, Une autre caractéristique des bactéries à Gram négatif est la présence de porines dans le membrane externe qui permettent de faire circuler des molécules hydrophiles de tailles limitées vers l'espace périplasmique, et qui empêchent les antibiotiques lipophiles d'entrer dans la cellule, En plus de posséder des pores qui empêchent l'entrée de certains composés tel que les antibiotiques. Toutes ces propriétés de la membrane externe agissent contre l'action des antibiotiques.

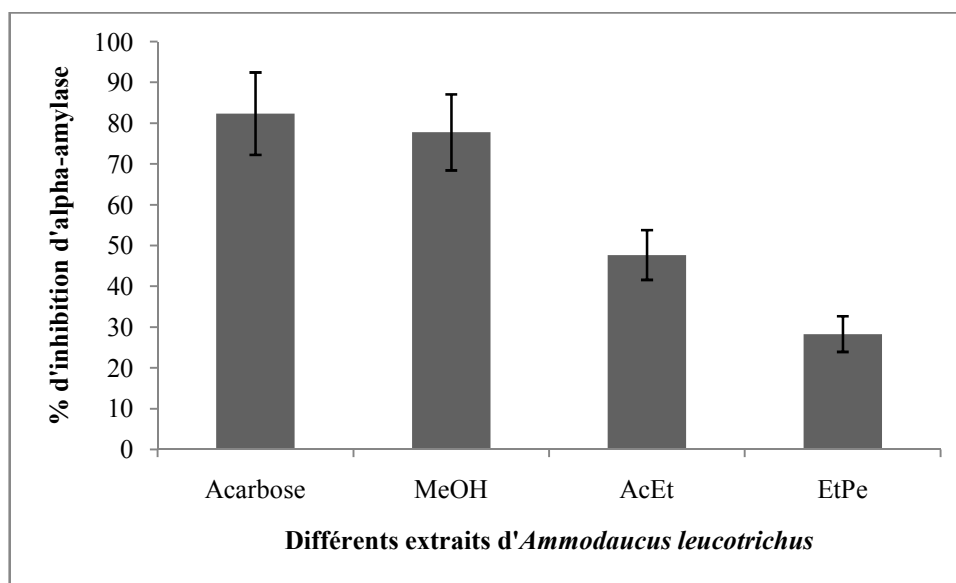
Sifiet *al.* (2015) ont enregistré que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a une forte capacité a inhibé les souches bactérienne tel que *S.aureus*, entérocooccus, *E. coli* et *K pneumonie*. Ansial-Hadi *et al.*(2013)ont signalé que la plante *Petroselinum Crispum* (Apiaceae)a enregistré des zones d'inhibition de bactéries citées précédemment entre 7 – 20 mm de diamètre.

### II.3.3.Inhibition d' $\alpha$ -amylase

L' $\alpha$ -amylase est une enzyme clé dans la digestion de l'amidon par hydrolyse de la liaison  $\alpha$ 1-4 conduisant à la libération des oligosaccharides qui sont à leur tour hydrolysés en

glucose dans la lumière de l'intestin grêle. L'inhibition de cette enzyme conduit à la diminution de la quantité du glucose libéré et par conséquent la diminution de la quantité absorbée ce qui empêche l'augmentation de la glycémie (Boubekeur, 2019). L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase est un des moyens utilisés dans le traitement du diabète.

L'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* est évaluée et les résultats sont représentés dans la figure 11.



**Figure 11:** Pourcentage d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et l'acarbose.

Selon la figure 11, il apparaît que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a un pourcentage d'inhibition d' $\alpha$ -amylase le plus élevé (77,76%) en comparaison avec les autres extraits et qui est proche à celui de l'acarbose (82,33%).

Pour déterminer l'efficacité des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* à inhiber l' $\alpha$ -amylase, les concentrations inhibitrices de 50% de l'enzyme sont calculées et les résultats sont résumés dans le tableau 6.

**Tableau 6 :**  $CI_{50}$  de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et l'acarbose.

Extrait/standard	MeOH	AcEt	EtPe	Acarbose
$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	79,33 $\pm$ 9,60	208,78 $\pm$ 21,58	413,33 $\pm$ 69,69	87,75 $\pm$ 9,33



A partir des résultats présentés dans le tableau 6, nous constatons que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* est le plus efficace dans l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase avec une  $CI_{50} = 79,33 \pm 9,60 \mu\text{g/ml}$  qui est inférieure à celle de standard utilisé l'acarbose qui a une  $CI_{50} = 87,75 \pm 9,33 \mu\text{g/ml}$ . Les autres extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* présentent des capacités faibles à inhiber l' $\alpha$ -amylase en comparaison avec l'extrait méthanolique et l'acarbose (Tableau 6).

Les analyses statistiques des résultats de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* et l'acarbose montre qu'il y a une différence significative ( $P < 0,005$  ;  $\alpha < 0,05$ ).

La variation de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par les trois extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* peut être due à la différence de polarité des solvants utilisés dans l'extraction des principes actifs de l'espèce étudiée. On trouve que l'extrait de méthanol est le plus efficace par rapport aux autres extraits, parce qu'il est polaire, alors que l'extrait de l'éther de pétrole qui est apolaire (index de Polarité = 0,1), a enregistré la moindre efficacité d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase et l'acétate d'éthyle (index de Polarité = 4,4) a une efficacité moyenne (Sood et Yadav, 2014).

L'évaluation de l'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase par différents extraits organiques d'*Ammodaucus leucotrichus* n'est pas signalée dans la littérature à l'exception de l'étude réalisée par Telli (2017) qui a montré l'efficacité de l'infusion de cette espèce à inhiber l' $\alpha$ -amylase.

L'étude réalisée par Boubekeur (2019) a prouvé la capacité antidiabétique des espèces appartenant à la famille des Apiaceae telle *Daucus carota* L., 1753, *Ammi visnaga* (L.) Lam, *Ferula communis* L., 1753, *Coriandrum sativum* L et *Foeniculum vulgare* Mill.

#### II.4. Corrélations entre les différents paramètres

Le calcul du coefficient de corrélation de Pearson est effectué afin de déterminer l'attribution des différents métabolites dosés dans différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* dans les différentes activités biologiques évaluées.

Au vue des résultats des matrices de corrélation des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*, nous constatons qu'il n'y a aucune corrélation claire n'a pu être liée les

teneurs en composés phénoliques que nous avons étudié dans chaque extrait et les activités biologiques évaluées (activité anti-oxydante, activité antibactérienne et activité anti- $\alpha$ -amylase) (annexes 10, 11, 12). Selon ces résultats, nous avons constaté que les activités biologiques des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ne sont pas obligatoirement liées à la quantité des composés phénoliques mais peuvent être liées à la qualité de ces composés.

# *Conclusion*

## Conclusion

L'humanité cherche toujours à exploiter tous les ressources naturelles pour satisfaire ses besoins fondamentaux, y compris bien sur les médicaments à base des plantes. Les effets secondaires des médicaments conventionnels et la résistance développée par les microorganismes conduisent à la recherche de nouvelles molécules plus efficaces et moins nocives sur le corps humain. Pour cela, les plantes à usage médicinales ont regain leur recours ces dernières années. Dans ce contexte, le présent travail est enregistré dans le cadre de la valorisation des plantes spontanées du Sahara.

Cette étude est réalisée sur une espèce endémique du Sahara, il s'agit d'*Ammodaucus leuotrichus*. L'extraction des principes actifs de cette espèce est effectuée par macération à froid en utilisant des solvants de différentes polarités (méthanol, acétate d'éthyle et éther de pétrole). Pour mettre en évidence la présence de quelques métabolites dans ces différents extraits, une analyse phytochimique est faite en se basant sur les propriétés physicochimiques de ces métabolites. La quantification de quelques classes des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, acides phénols et tanins condensés) a été aussi effectuée.

Différentes activités biologiques ont été évaluées à savoir : activité anti-oxydante (ABTS et FRAP), activité antibactérienne (diffusion sur milieu gélosé et microdilution) et activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase.

Les résultats obtenus ont montré la richesse d'*Ammodaucus leuotrichus* en composés importants qui peuvent agir comme antioxydants, antibactériens ou antidiabétiques dont les flavonoïdes, les tanins, les quinones libres, les terpénoïdes, les stéroïdes et les coumarines où leurs quantités dans les différents extraits dépendent de leurs solubilités dans les solvants d'extraction.

Le dosage des différentes classes des composés phénoliques a montré la richesse de l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leuotrichus* en polyphénols totaux ( $45,33 \pm 5,79$  mg EAG/g), en flavonoïdes ( $18,27 \pm 2,33$  mg ER/g), en acides phénols ( $1567,77 \pm 163,33$   $\mu$ g EAC/g) et en tanins condensés ( $21,21 \pm 3,23$  mg EC/g). L'extrait de l'éther de pétrole est le plus pauvre en ces composés. Il est caractérisé par l'absence totale des flavonoïdes et des tanins condensés.

En ce qui concerne l'activité anti-oxydante, les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* est le plus efficace dans l'inhibition du radical cation ABTS<sup>•+</sup> et dans la réduction des ions ferriques avec des CI<sub>50</sub> et CE<sub>50</sub> égales à 75,07±1,08µg/ml et 95,6519274±9,62627799µg/ml respectivement. Ces valeurs sont inférieures à celles de l'antioxydant standard le Trolox.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* a montré une capacité importante de l'extrait d'acétate d'ethyle sur les quatre souches bactériennes testées avec des valeurs de CMI compris entre 304,89±31,47 µg/ml pour *Klebsiella pneumoniae* et 128,89±14,27 µg/ml pour *Staphylococcus aureus*, sauf que cette dernière a été affectée majoritairement par l'extrait méthanolique.

L'activité antidiabétique des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* a été évaluée par l'inhibition de l'enzyme α-amylase, les résultats obtenus ont montré l'efficacité de nos extraits, particulièrement l'extrait méthanolique avec une CI<sub>50</sub> égale à 79,33±9,60µg/ml.

Il serait intéressant de poursuivre l'étude sur cette plante dans le but d'identifier les molécules bioactives, leur efficacité et leurs mécanismes d'action pour déterminer l'utilité de cette plante dans le traitement des différentes maladies.

*Références*  
*bibliographiques*

## Références bibliographiques

- **Al-Hadi A.H., Al Rahbi S.S., Akhtar M.S., Sadri S., Weli A., Al-RiyamiQ., 2013-** Phytochemical Screening, Antibacterial and Cytotoxic Activities of *Petroselinum Crispum* Leaves Grown in Oman. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* 9 (1): 61-65.
- **ATHMOUNI K., BELGHITH T., BELLASSOUAD K., EL FEKI A., AYADI H., 2015-** Effect of solvent polarity on the content of biomolecules and antioxidant activity of *Thapsia garganica* (Apiaceae). *Algerian Journal of Natural Products* 3(3): 194-208p.
- **ATHMOUNI K., BELHAJ D., HAMMI K.M., EL FEKI A., AYADI H., 2017-** Phenolic compounds analysis, antioxidant, and hepatoprotective effects of *Periploca angustifolia* extract on cadmium-induced oxidative damage in HepG2 cell line and rats. *The Journal of Metabolic Diseases*, 1-14 p.
- **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 – 42p.
- **BEDDOU F., 2015-** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie. pp 143
- **BENZAHI K., 2001-** Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon Dactylon* -L « Chiendent ». Mémoire de Magister. Université d'Ouargla, Algérie. pp 120
- **BENZIE I.F.F., STRAIN J.J., 1996-** Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*. 299 : 15–27.
- **BOUBEKEUR H., 2019-** Activités biologiques d'*Helichrysum stoechas*. Thèse de doctorat en biochimie, Université Ferhat ABBAS – Sétif 1.
- **BOUCHOUKA E., 2016-** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. thèse de doctorat en science, UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –ANNABA.

- **BOUGANDOURA N., BENDIMERAD N., 2012-** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. Revue Nature & Technologie (9) :14- 19p.
- **BOUGHENDJIOUA H., 2001-** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Inventaire et extraction des principes actifs de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* Thèse de magister en biologie végétale, UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR – ANNABA.
- **BOUZOUTA N., KACHOURI F., BEN HALIMA M., CHAABOUNI M.M., 2008-** composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*.
- **CHAOUCH N., 2001-** Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Thèse de magister, Université Kasdi Merbah d'Ouargla, Algérie, pp 44.
- **CHEHMA A., 2006-**Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Edition Dar El Houda, Algérie, 140p.
- **CHRITI A., BELBOUKHARI M., BELBOUKHARI N., DJERADI H., 2012-** Phytochemical and biological studies on *Launaea* Cass. genus (Asteraceae) from Algerian Sahara 11: 67-80p.
- **COCKENPOT L., 2014-** Mécanismes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* en motilité de type swarming et sa fonction écologique. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en Microbiologie Appliquée, Université du Québec, p25-26.
- **DIALOU D., 2000-** Ethno pharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae). Thèse de doctorat en sciences, université de Lausanne Suisse.
- **DO Q.D., ANGKAWIJAYA A.E., TRAN-NGUYEN P.L., HUYNH L.H., SOETAR EDJO F.E., ISMADJI S., JU Y.H., 2013-** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. Journal of food and drug analysis, 22(3) : 296-302p.
- **DOHOU N., 2004-** Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *thymeleae lythroïdes*. Thèse de doctorat, Université Ibn Tofaïl, Maroc. pp 158.



- **DOHOU N., YAMNI K., TAHROUCH S., IDRISSE HASSANI L.M., BADOUC A., GMIRA N., 2003-** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *thymelaea lythroides*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 142 : 61-78
- **El Hacı I. A, MAZARI W., GHERIB M., BEKKARA F.A., 2018-** Evaluation of the Antioxidant Activities of Organic Extracts from *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur Fruit Part Harvested from the Algerian Sahara.
- **EL-HACI I.A., 2015-** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémique de sud de l'algerie: *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Anabasis aretioides* Moq. & Coss. et *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. These de doctorate biochimie UNIVERSITÉ ABOU-BEKR-BELKAID TLEMCEN.
- **GHEADADBA N., HAMBABA L., AYACHI A., ABERKANE M.C., BOUSSELSA H., OUELD-MOKHTAR S. M., 2015-** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de Marrubium deserti de Noé. Phytothérapie 1-12.
- **GHERRAF N., ZELLAGUI A., KABOUCHE A., LAHOUEL M., SALHI R., RHOUATI S., 2013-** Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oils of *Ammodaucus leucotrichus*. Arabian Journal of Chemistry, 1-3
- **GUILLOUTY A., 2016-** Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER.
- **GUINOISEAU E., 2010-** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat en Biochimie - Biologie moléculaire, UNIVERSITE DE CORSE-PASQUALE PAOLI.
- **GURIB-FAKIM A., 2006-** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine 27 : 1–93.
- **HADJADJ S., 2017-** Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. Thèse de doctorat en sciences, UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA.
- **HADJAIDJI-BENSERIER F., TALBI N., DERRIDI A., 2017-** Did the global warming confirm in central northern Sahara case of the Ouargla region. Energy Procedia 119 (2017) 852–862.
- **HALLA N., HELENO S.A., COSTA P, FERNANDES I.P., CALHELHA R.C., BOUCHERIT K., RODRIGUES A.E., FERREIRA I.C.F.R., BARREIRO M.F., 2018-** Chemical profile and bioactive properties of the essential oil isolated from

- Ammodaucus leucotrichus* fruits growing in Sahara and its evaluation as a cosmeceutical ingredient. *Industrial Crops & Products* 119: 249–254 .
- **HAMADA D., LADJEL S., 2015-** Chemical composition, in-vitro anti-microbial and antioxidant activities of the methanolic extract of *Anvillea radiata* Asteraceae. *RJPBCS*, 6 (2) : 1367-1373
  - **HARBORNE J.B., 1998-** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. 3th edition. Chapman and Hall, London. 203-214.
  - **HOPKINS W., 2003-** Physiologie Végétale, 2e édition, De Boeck Université, France, 532 p : 268-283p.
  - **JAITAK V, SHARMA K, KALIA K, KUMAR N, SINGH H.P., KAUL V.K., SINGH B 2010-** Antioxidant activity of *Potentilla fulgens*: An alpine plant of western Himalaya. *J. Food. Composition. Anal* 23(2): 142-147
  - **KALLA A., 2012-** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse de Doctorat en Sciences UNIVERSITE MENTOURI – CONSTANTINE.
  - **KEBBAB R., 2014-** Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété *Chamlal* : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Mmoire de magister en science biologique, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
  - **KHADIR A., SOBEH M., GAD H.A., BENBELAID F., BENDAHOU M., PEIXOTO H., SPORER F., ASHOUR M.L., WINK M., 2016-** Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Thymus lanceolatus*.
  - **KHALDI A., 2017-** Etude des effets antifongiques et antimycotoxiques des extraits des plantes médicinales de la région de Béchar. Thèse de doctorat en sciences, Université mustapha Stambouli Mascara.
  - **KOBANGUE L., MOZOULOVA D., 2010-** La décennie de la médecine traditionnelle, progrès et perspectives. CONFERENCE-DEBAT DE LA 8ème JOURNEE AFRICAINE DE MEDECINE TRADITIONNELLE 1-5p.
  - **KRIEF S., 2003-** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat en écologie et chimie des substances naturelles, MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE.

- **MAHMOUDI S., KHALI M., MAHMOUDI N., 2013-** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Revue « Nature & Technologie ». Sciences Agronomiques et Biologiques, (09) :35-40.
- **MANSSOURI M., EI OUADI Y., ZNINI M., COSTA J., BOUYANZER A., DESJOBERT J.M., MAJIDI L., 2015-** Adsorption proprieties and inhibition of mild steel corrosion in HCl solution by the essential oil from fruit of Moroccan *Ammodaucus leucotrichus*. 6 (3) 631-646p.
- **MIBINDZOU MOUELLET A., 2004-** Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegrer (rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de doctorat. University de Bamako, Mali. pp 58
- **NACZK M., SHAHIDI F., 2006-** Phenolics in cereals, fruits and Vegetables: occurrence, extraction and analysis. J. Pharm Biomed Anal, 41: 1523-1542 (1527).
- **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2004- b.** Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline M44-A, Wayne, Pennsylvania. meridionales.Vol II.Ed: centre nationale de la recherche scientifique, Paris. P 1170.
- **OMS., 2013-** Medecine traditionnel. Rapport du Secrétariat : 3-9.
- **OULD EL HADJ M.D., HADJ-MAHAMMED M., ZABEIROU H.,2003-** place des plantes spontanees dans la medecine traditionnelle de la region de ouargla (sahara septentrional est). Courrier du Savoir (3) : 47-51p.
- **PERUMAL S., PILLAI S., CAI L.W., MAHMOUD R., RAMANTHAN S., 2012-** Determination of minimum inhibitory concentration of *Euphorbia hirta* (L.) by tetrazolium microplate assay. Journal of Natural Products, 5: 68-76.
- **PIRBALOUTI A.G., SETAYESH M ., SIAHPOOSH A., MASHAYEKHI H., 2013-** Antioxidant activity, total phenolic and flavonoids contents of three herbs used as condiments and additives in pickles products.EXPERIMENTAL PAPER, 59(3).
- **PONCE A.G., FRITZ R., DELVALLE C., ROURA S.I., 2003-** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm. Wiss. u. Technol. 36 : 679-684.
- **PRIOR R.I., WU X.L., SCHAICH K., 2005-** Standardisez methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric FoodChem*, 53 (10): 4290-4302.

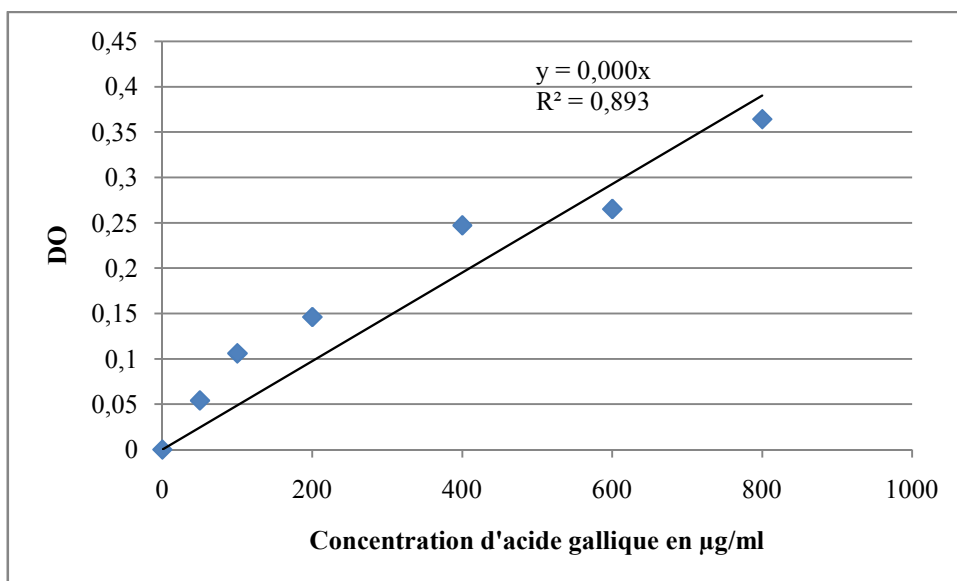
- **QUINCAMPOIX J.C., MAINARDI J.L.,2001-** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation* 10(3) : 267-275p.
- **RE R., PELLEGRININ., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE-EVANS C., 1998-** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology et Medicine*, 26 (9-10) : 1231–1237p.
- Références bibliographiques:
- **REZAIRE., 2012-** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat en phytochimie, Université des Antilles et de la Guyane.
- **RIB2REAU-GAYON P., 1968-** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris 254 pp.
- **RICE-EVANS C., MILLER N.J., BOLWELL P.G., BRAMLEY P.M., PRIDHAM J.B.,1995-** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoides. **22(4): 375-383p.**
- **ROUMY V., 2007-** étude phytochimique de plantes amazoniques d’antiplasmodiale, dont *pseudoxandra cuspidata* maas et *tapirira gulanensis* aubl. Thèse de doctorat en Sciences des Agroressources.
- **SEBAA A., MAROUF A., KAMBOUCHE N., DERDOUR A., 2018-** Phytochemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Ammodaucus leucotrichus* Fruit From Algerian Sahara. *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY* , 34(1):. 519-525
- **SFM., 2014-** Société Française de Microbiologie. [www.sfm-microbiologie.org](http://www.sfm-microbiologie.org)
- **SIFI I., BENADDOU F. Z., YOUSFI M., 2015-** Antioxidant and Antimicrobial Activities of Phenolic Extracts of Endemic Plants *Marrubium deserti* and *Ammodaucus leucotrichus* from Algeria. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*,9(1) :26-27.
- **SOOD K., YADAV R.N.S., 2014-** Effect of solvent on the extraction of antioxidant and antimicrobial components from *eryngium foetidum*L. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences (IJMPS)*, 4(5) : 31-40p.
- **SOUALEH N., SOULIMANI R., 2016-** Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie* (2016) 14:44-57p.

- **SOUFI O.,2009**-Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante de la mure. Thèse de magister en Contrôle de Qualité des Aliments, Certification, et méthodes de validation, UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA BEJAIA.
- **STANKOVIĆ M.S., 2011**- Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J. Sci.* 33 (2011) 63-72 (67).
- **SUN B. RICARDO-DA-SILVA J. M., SPRANGER I.,1998**- Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric. Food Chem*, 46 (10), 4267-4274.
- **SZAUFER-HAJDRYCH M., GOŚLIŃSKA O., 2004**- The quantitative determination of phenolic acids and antimicrobial activity of *Symphoricarpos albus* (L.) Blake. *Jan-Feb*;61(1):69-74.
- **TAHRI N., EL BASTI A., ZIDANE L., ROCHDI A., DOUIRA A., 2012**- Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la province de Settat (Maroc). *Journal of Forestry Faculty* -12 (2): 192-208p.
- **TELLI A., 2017**- activité anti-oxydante, antimicrobienne, antidiabétique de deux espèces spontanées utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Ouargla : *Ammodaucus leucotrichus* et *Anvillea radiata*.Thèse de doctorat en biologie, Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- **TELLI A., ANDREE ESNAULT M., OULD EI HADJ KHELIL A., 2016**- An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of Arid Environments* 127: 82-92
- **TREASER E., EVANS W.C., 1987**- Pharmacognosie, Billiaire Tindall.13 th edition. London : 61-62.
- **Z. LOUAIL., KAMELI A., BENABDELKADER T., BOUTI K., HAMZA K., KRIMATS., 2016**-Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.Seeds. *Mater. Environ. Sci.* 7 (7) : 2328-2334.
- **ZIANI B.E.C., RACHED W., BACHARI K., ALVES M.J., CALHELHA R.C., BARROS L., FERREIRA I.C.F.R., 2019**- Detailed chemical composition and functional properties of *Ammodaucus leucotrichus* Cross. & Dur. and *Moringa oleifera* Lamarck. *Journal of Functional Foods* 53: 237–247.

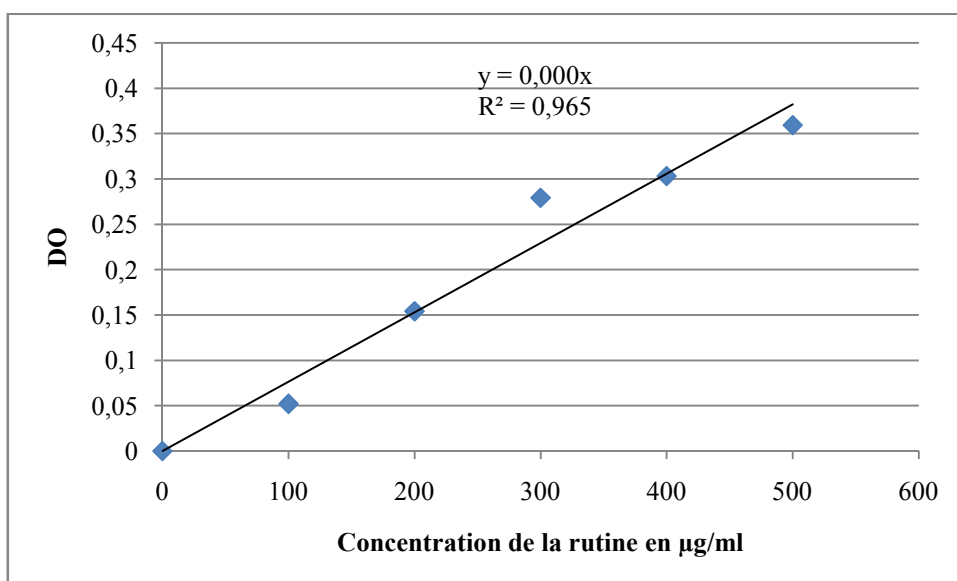
# *Annexes*

## Annexes

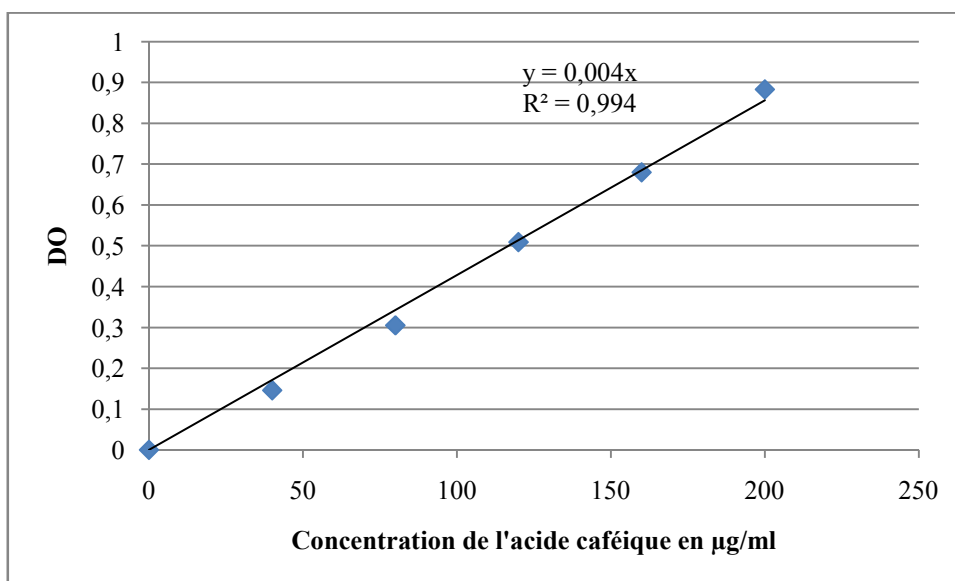
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



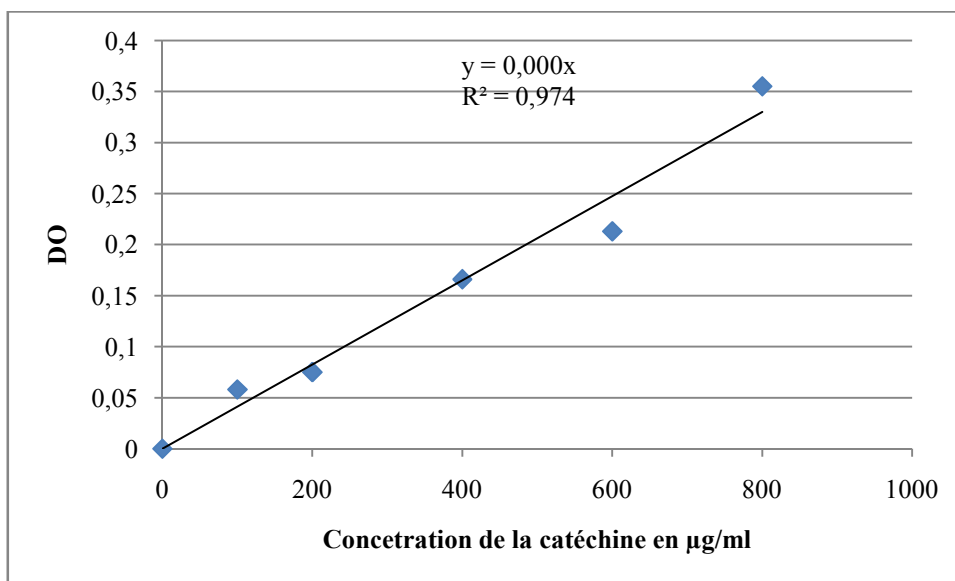
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la rutine



**Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide caféique.**

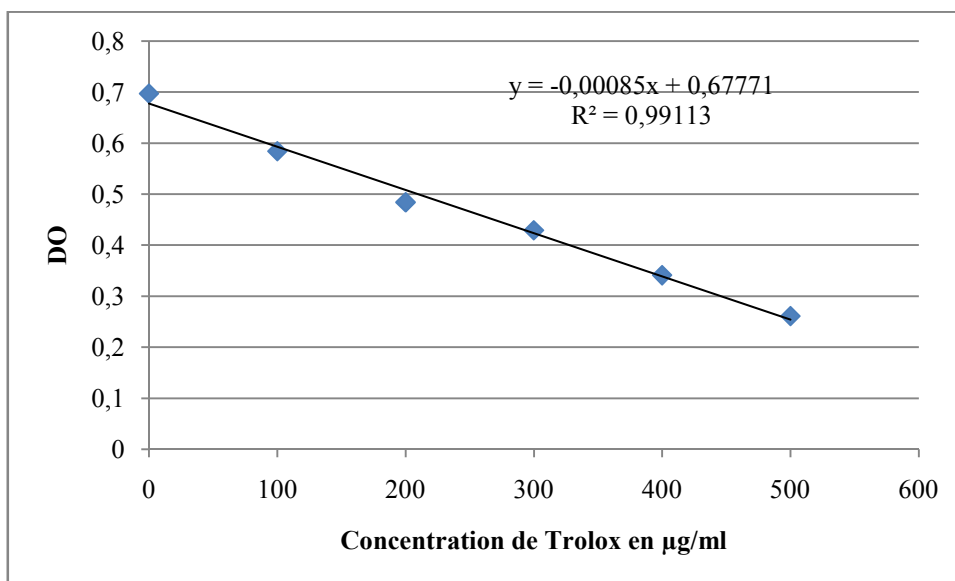


**Annexe 4 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.**

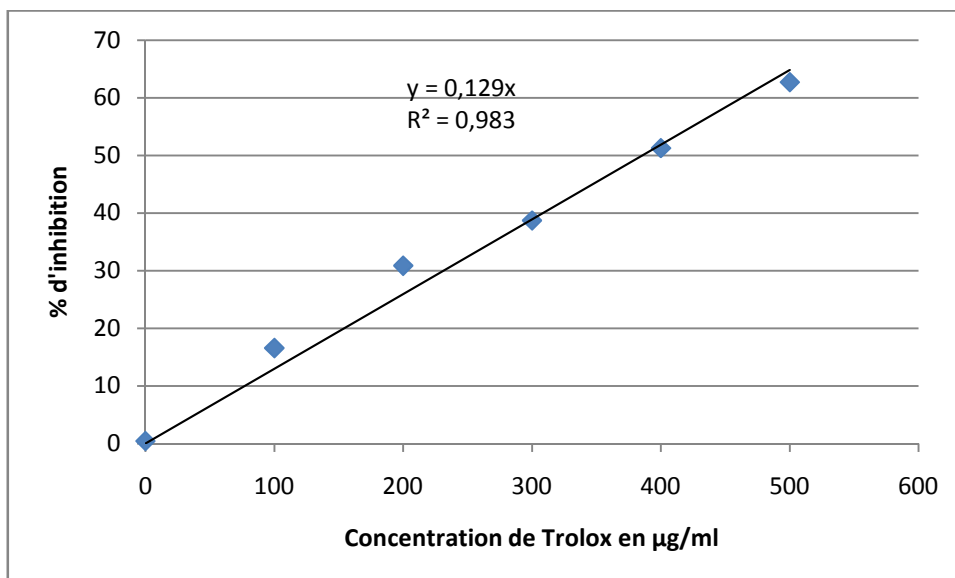




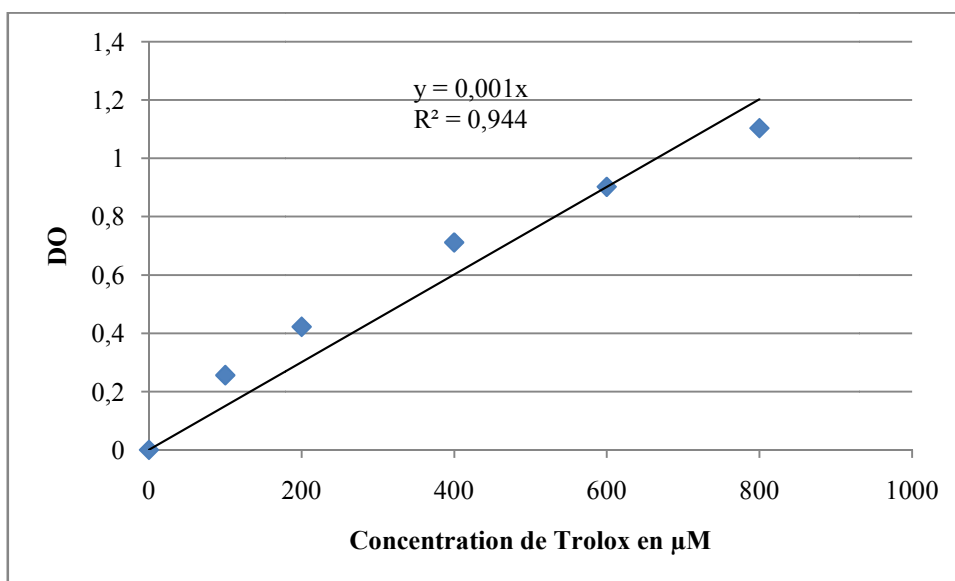
**Annexe 5** : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le test ABTS.



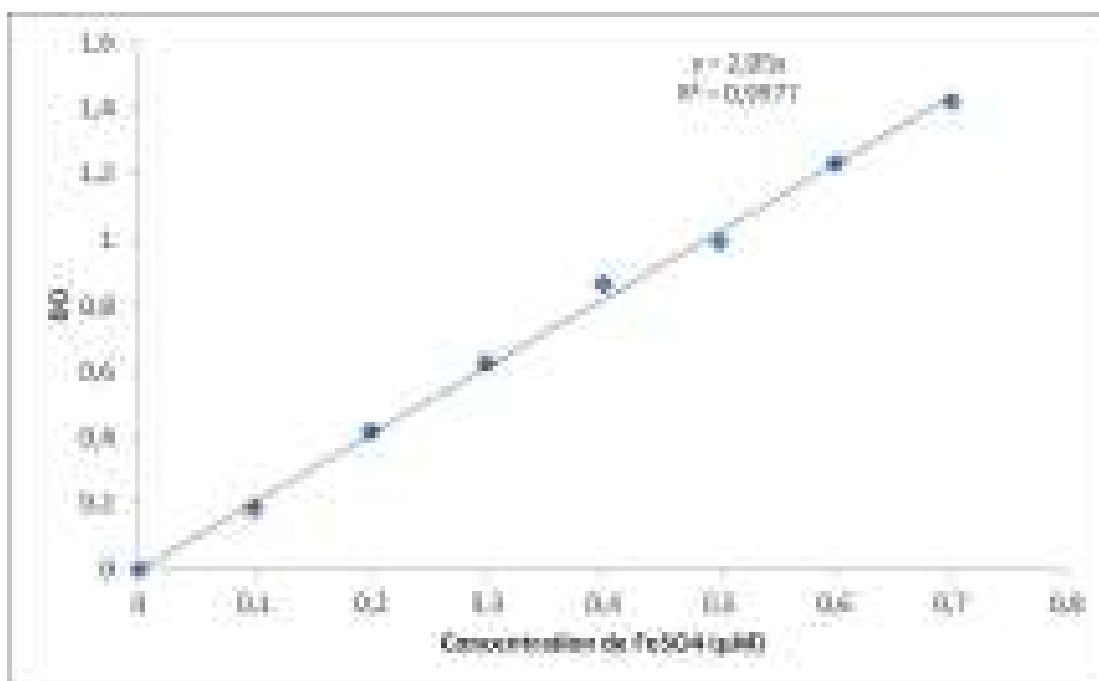
**Annexe 6** : Courbe d'étalonnage d'inhibition d'ABTS<sup>++</sup> par le Trolox

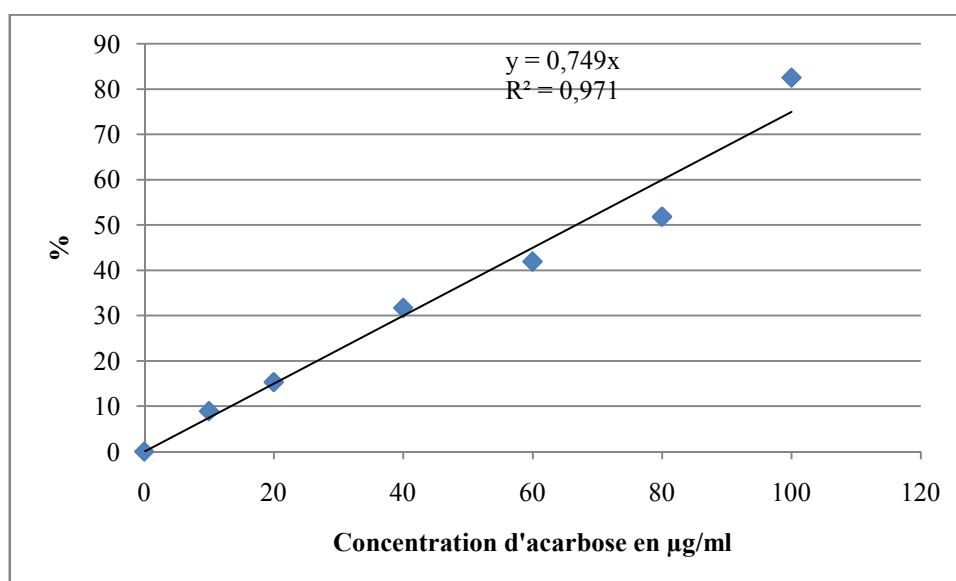


**Annexe 7 :** Courbe d'étalonnage de Trolox pour le test FRAP.



**Annexe 8 :** Courbe d'étalonnage de FeSO<sub>4</sub> pour le test FRAP.



**Annexe 9 :** Courbe d'étalonnage d'inhibition de l'alpha-amylase par l'acarbose.**Annexe 10:** Matrice de corrélation (Pearson) pour l'extrait d'EtPe.

Variables	R%	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	alpha amy
R%	<b>1</b>	1,000		1,000		1,000	1,000	1,000
PPT	1,000	<b>1</b>		1,000		1,000	1,000	1,000
FLV								
AcPh	1,000	1,000		<b>1</b>		1,000	1,000	1,000
TC								
ABTS	1,000	1,000		1,000		<b>1</b>	1,000	1,000
FRAP	1,000	1,000		1,000		1,000	<b>1</b>	1,000
alpha amy	1,000	1,000		1,000		1,000	1,000	<b>1</b>

Coefficients de détermination (Pearson) :

Variables	R%	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	alpha amy
R%	<b>1</b>	1,000		1,000		1,000	1,000	1,000
PPT	1,000	<b>1</b>		1,000		1,000	1,000	1,000
FLV								
AcPh	1,000	1,000		<b>1</b>		1,000	1,000	1,000
TC								
ABTS	1,000	1,000		1,000		<b>1</b>	1,000	1,000
FRAP	1,000	1,000		1,000		1,000	<b>1</b>	1,000



Variables	R%	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	FRAP	alpha amy
R%	<b>1</b>	0,250	0,250	0,250	1,000	0,250	0,825	0,250
PPT	0,250	<b>1</b>	0,250	1,000	0,250	0,250	0,008	1,000
FLV	0,250	0,250	<b>1</b>	0,250	0,250	1,000	0,667	0,250
AcPh	0,250	1,000	0,250	<b>1</b>	0,250	0,250	0,008	1,000
TC	1,000	0,250	0,250	0,250	<b>1</b>	0,250	0,825	0,250
ABTS	0,250	0,250	1,000	0,250	0,250	<b>1</b>	0,667	0,250
FRAP	0,825	0,008	0,667	0,008	0,825	0,667	<b>1</b>	0,008
alpha amy	0,250	1,000	0,250	1,000	0,250	0,250	0,008	<b>1</b>

## Activité anti-oxydante, antibactérienne et anti- $\alpha$ -amylase des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*

### Résumé

Ce travail vise à évaluer différentes activités biologiques d'*Ammodaucus leucotrichus*. L'extraction des principes actifs est effectuée par macération à froid en utilisant trois solvants de polarités différentes à savoir le méthanol, l'acétate d'éthyle et l'éther de pétrole. L'analyse phytochimique des différents extraits est effectuée par le criblage phytochimique et par la quantification de quelques classes des composés phénoliques. Plusieurs activités biologiques ont été évaluées : l'activité anti-oxydante en utilisant deux tests (ABTS et FRAP), l'activité antibactérienne par la diffusion sur milieu gélosé et par microdilution sur quatre souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus sp.*) et l'activité antidiabétique par la mesure de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase. Les résultats obtenus ont montré la richesse de l'espèce étudiée en composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, coumarines...etc.) et terpéniques. Les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en acides phénols et en tanins condensés sont obtenues avec l'extrait méthanolique qui sont de l'ordre de  $45,33 \pm 5,79$  mg EAC/g,  $18,27 \pm 2,33$  mg ER/g,  $1567,77 \pm 163,33$   $\mu$ g EAC/g et  $21,21 \pm 3,23$  mg EC/g respectivement. L'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a les meilleures capacités inhibitrice du radical cation ABTS<sup>•+</sup> et réductrice de fer avec des  $CI_{50}$  et  $CE_{50}$  égale à  $75,07 \pm 1,08$   $\mu$ g/ml et  $95,65 \pm 9,62$   $\mu$ g/ml respectivement inférieures à celles de l'antioxydant standards utilisé (le trolox  $CI_{50} = 139,33 \pm 10,87$   $\mu$ g/ml,  $CE_{50} = 193,33 \pm 21,57$   $\mu$ g/ml). En ce qui concerne l'activité antibactérienne, la souche de *S. aureus* est la plus sensible à l'action des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* avec des CMI allant de  $96,78 \pm 11,32$   $\mu$ g/ml pour l'extrait méthanolique à  $178,33 \pm 21,61$   $\mu$ g/ml pour l'extrait d'EtPe. La meilleure activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase a été obtenue avec l'extrait méthanolique où la valeur de  $CI_{50}$  est égale à  $79,33 \pm 9,60$   $\mu$ g/ml qui est inférieure à celle de l'acarbose ( $CI_{50} = 87,75 \pm 9,33$   $\mu$ g/ml). En conclusion, les résultats obtenus peuvent justifier l'utilisation traditionnelle de cette espèce pour traiter les maladies inflammatoires, infectieuses et du diabète.

**Les mots clés :** *Ammodaucus leucotrichus*, criblage phytochimique, composés phénoliques, activité anti-oxydante, activité

## نشاط مضادات الأكسدة ومضاد للجراثيم ومضاد $\alpha$ - الأميليز لمختلف مستخلصات *Ammodaucus leucotrichus*

### ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم الأنشطة البيولوجية المختلفة لـ *Ammodaucus leucotrichus*. يتم استخراج المكونات الفعالة بواسطة النقع البارد باستخدام ثلاثة مذيبات من أقطاب مختلفة، وهي الميثانول وخالات الإيثيل والإيثربترولولي. يتم إجراء التحليل الكيميائي النباتي للعديد من المستخلصات عن طريق الفحص الكيميائي النباتي وتقدير بعض فئات المركبات الفينولية. تم تقييم العديد من الأنشطة البيولوجية: نشاط مضادات الأكسدة باستخدام اختبارين (ABTS و FRAP)، والنشاط المضاد للبكتيريا عن طريق الانتشار على وسط أجار وعن طريق التخفيف الدقيق على أربع سلالات بكتيرية (*E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* و *Enterococcus sp.*) والنشاط المضاد لمرض السكر عن طريق قياس تثبيط  $\alpha$ -amylase. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ثراء الأنواع المدروسة في المركبات الفينولية (العفص، الفلافونويد، الكومارين ... الخ) والتربانويدات. يتم الحصول على أعلى نسبة من إجمالي البوليفينول، والفلافونويد، والأحماض الفينولية والعفص المكثف مع مستخلص الميثانول والتي تبلغ حوالي  $45.33 \pm 5.79$  ملغ EAC / غ،  $18.27 \pm 2.33$  ملغ ER / غ،  $1567.77 \pm 163.33$  ميكروغرام EAC / غ،  $21.21 \pm 3.23$  ملغ EC / غ. يحتوي المستخلص الميثانولي لـ *Ammodaucus leucotrichus* على أفضل القدرات المثبطة لـ ABTS الكيتون الجذري. وارجاع الحديد مع  $IC_{50}$  و  $EC_{50}$  يساوي  $75.07 \pm 1.08$  ميكروغرام / مل و  $95.65 \pm 9.62$  ميكروغرام / مل على التوالي بقيمة أقل مقارنة مع مضادات الأكسدة القياسية المستخدمة (ترولوكس)  $CI_{50} = 139.33 \pm 10.87$   $\mu$ g/ml،  $CE_{50} = 193.33 \pm 21.57$   $\mu$ g/ml). فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، فإن سلالة *S. aureus* هي الأكثر حساسية لعمل المستخلصات المختلفة من *Ammodaucus leucotrichus* مع MIC تتراوح بين  $96.78 \pm 11.32$  ميكروغرام / مل بالنسبة لمستخلص الميثانول إلى  $178.33 \pm 21.61$  ميكروغرام / مل لاستخراج EtPe. تم الحصول على أفضل نشاط تثبيط لـ  $\alpha$ -amylase باستخدام المستخلص الميثانولي حيث تساوي قيمة  $IC_{50}$   $79.33 \pm 9.60$  ميكروغرام / مل وهي أقل من قيمة الأكاربوز ( $CI_{50} = 87.75 \pm 9.33$   $\mu$ g/ml). في الختام، فإن النتائج التي تم الحصول عليها قد تبرر الاستخدام التقليدي لهذا النوع لعلاج الأمراض الالتهابية والمعدية والسكري.

**الكلمات المفتاحية:** *Ammodaucus leucotrichus*، الفحص الكيميائي النباتي، المركبات الفينولية، نشاط مضادات الأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأنزيمات.

## Antioxidant, antibacterial and anti- $\alpha$ -amylase activity of the various extracts of *Ammodaucus leucotrichus*

### Summary

This work aims to evaluate different biological activities of *ammodaucus leucotrichus*. The extraction of the active ingredients is carried out by cold maceration using three solvents of different polarities, namely methanol, ethyl acetate and petroleum ether. Phytochemical analysis of the various extracts is performed by phytochemical screening and quantification of some classes of phenolic compounds. Several biological activities were evaluated: the antioxidant activity using two tests (ABTS and FRAP), the antibacterial activity by diffusion on agar medium and by microdilution on four bacterial strains (*E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococcus sp.*) and antidiabetic activity by measuring the inhibition of  $\alpha$ -amylase. The results obtained showed the richness of the studied species in phenolic compounds (tannins, flavonoids, coumarins ... etc.) and terpenic. The highest contents of total polyphenols, flavonoids, phenolic acids and condensed tannins are obtained with the methanolic extract which are of the order of  $45.33 \pm 5.79$  mg EAC / g,  $18.27 \pm 2.33$  mg ER / g,  $1567.77 \pm 163.33$   $\mu$ g EAC / g and  $21.21 \pm 3.23$  mg EC / g respectively. The methanolic extract of *Ammodaucus leucotrichus* has the best inhibitory capacities of the radical cation ABTS<sup>•+</sup> and iron reducing with  $IC_{50}$  and  $EC_{50}$  equal to  $75.07 \pm 1.08$   $\mu$ g / ml and  $95.65 \pm 9.62$   $\mu$ g / ml respectively lower than those of the standard antioxidant used (trolox  $CI_{50} = 139.33 \pm 10.87$   $\mu$ g/ml,  $CE_{50} = 193.33 \pm 21.57$   $\mu$ g/ml). With regard to the antibacterial activity, the strain of *S. aureus* is the most sensitive to the action of the various extracts of *Ammodaucus leucotrichus* with MICs ranging from  $96.78 \pm 11.32$   $\mu$ g / ml for the methanolic extract to  $178.33 \pm 21.61$   $\mu$ g / ml for EtPe extract. The best inhibitory activity of  $\alpha$ -amylase was obtained with the methanolic extract where the  $IC_{50}$  value is equal to  $79.33 \pm 9.60$   $\mu$ g / ml which is lower than that of acarbose ( $CI_{50} = 87.75 \pm 9.33$   $\mu$ g/ml). In conclusion, the results obtained may justify the traditional use of this species to treat inflammatory, infectious diseases and diabetes.

**Key words:** *Ammodaucus leucotrichus*, phytochemical screening, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity, anti-