

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire-Salhi Ahmed-Nâama

Institut des Sciences et de Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Laboratoire de recherche:

Gestion durable des ressources naturelles dans les zones arides et semi-aride

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER Académique

En Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Présenté Par :

Belhadj Ikram Serour Souhila Chadli Nour Elhouda

Thème

**Etude de l'activité antioxydante des extraits de deux plantes médicinales
dans la région de Naâma (*Hammada schmittiana* & *Aloysia citriodora*)**

Soutenu le : 06 Juillet 2022

Devant le jury:

Président : M^{me} Derouiche Salima

M.C.B, Centre Universitaire de NAAMA

Examineur : M^{me} Aissaoui Nadia

M.C.B, Centre Universitaire de NAAMA

Encadreur: M^r Gherib Mohammed

Professeur, Centre Universitaire de NAAMA

Année universitaire 2021/2022



Remerciements

Nous remercions tout d'abord notre **allah** le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous souhaitons remercier notre directeur de mémoire **Pr.Gherib Mohammed**, pour le temps qu'il a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Nous le remercions de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés.

On exprime nos profonds remerciements pour :

Dr. Derouiche Salima pour l'honneur qu'il nous a fait pour assurer la présidence du jury.

Dr. Aissaoui Nadia d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier **Mr. Bouafia Miloud** et **Derbale Khadidja** pour nous aider dans ce travail et pour leur disponibilité, leurs conseils.

Un grand merci Aux ingénieurs du laboratoire de biochimie et laboratoire de la recherche scientifique pour leur aide durant toute la période de préparation.

Enfin, nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à finaliser ce modeste travail.





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très **chers parents**, pour leur encouragement, leur soutien et leur amour. Que Dieu les protège

A mes chers frères : **Younes, Khalil, Achraf** et **Amine**, j'espère que la vie leur donne tout le meilleur

A mes binômes : **Houda** et **Souhila** qui partageait avec moi tous les moments

A tous mes proches : **Latifa, Khaira, Rania** et **Imane**

A toutes mes amies et tous ceux que me sont chères

Akram





Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, nous avons pu achever ce travail que je dédie:

Mes chers et magnifiques **parents** pour leur patience, leur amour, leur soutien, leur encouragement et leurs sacrifices tout au long de ma vie, aucune expression ne serait exprimer mon grand amour, que Dieu les gardes

A mes très chers frères : **Kada, Sohbi, Soufiyane, Azdin et Rayane** à qui je souhaite tout le bonheur du monde

A toutes mes chères amies **Amani, Imene, Ikram et Houda** qui j'ai Passé des années inoubliables.

Souhila





Dédicaces

Avant tout, merci à Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'accorder
Son soutien durant les périodes les plus difficiles.

Je dédie ce travail à :

A mes **chers parents**, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites

A mes sœurs : **Fatma & Kholoud rabiâa**

A mes frères : **Abdelkarim & Abdelhadi**

A mon oncle : **Habib**

A mes collègues de ce travail : **Ikram & Souhila**

A tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont apporté leur soutien

A Tous ceux qui m'ont aidé directement ou indirectement dans la réalisation de ce
mémoire de près ou de loin.

Houda



Résumé

L'objectif de notre travail est l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de deux plantes médicinales récoltées dans la région de Naâma: *Hammada schmittiana* et *Aloysia citriodora*.

Les extraits organiques ont été obtenus par deux techniques: la méthode sous reflux (tiges et racines), la méthode de macération (feuilles) en utilisant le mélange de Méthanol/eau: 70/30 (v/v). Les extraits bruts ont été marqués par les meilleurs rendements sont de l'ordre de 28.06% (tiges), 26.44% (feuilles) et 17.46% (racines) chez *H.schmittiana*, et 29.51% (feuilles), 16.69% (tiges) chez *A.citriodora*, les plus faibles ont été enregistrés avec la fraction n-butanol.

Les extraits bruts obtenus de différentes parties de deux plantes étudiées ont subi des dosages en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés. L'extrait méthanolique des racines de *H.schmittiana* présente les teneurs les plus élevées. Ces teneurs sont de l'ordre de 6,711±0.01 mg EAG/ g, 5,174±0.07 mg EC/g et 0,826±0.01mg EC/g, respectivement. Pour l'espèce *A.citriodora* les grandes valeurs ont été trouvés dans des feuilles de l'ordre de 11,158±0.02 mg EAG/ g, 3,104±0.06 mg EC/g et 0,141±0.01mg EC/g, respectivement.

Par la suite, l'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée à travers deux méthodes : le test DPPH et le test FRAP. Cette étude a révélé une activité modérée dans les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de la partie racinaire de *H.schmittiana* de l'ordre de 27.48µg/ml, 29.34µg/ml, successivement. Pour la partie aérienne a été marquée par une faible activité par rapport à l'acide ascorbique (IC50= 5.97±0.01 µg/ml). Alors que l'extrait n-butanol des feuilles d'*A.citriodora* présente un meilleur pouvoir antioxydant important (7.47±0.01 µg/ml) cette valeur est comparable à celle du contrôle positif.

Les fractions acétate d'éthyle et n-butanol des racines de *H.schmittiana* présentent un pouvoir réducteur du fer moyen de l'ordre d'EC50 égal à 28 ± 0.02 µg/ml et 34 ± 0.01 µg/ml, successivement. La fraction n-butanol des feuilles et des tiges d'*A.citriodora* donne une meilleure capacité à réduire le fer 7±0.09 µg/ml et 8±0.02 µg/ml, respectivement. Ces valeurs sont proches à celles de l'acide ascorbique (EC50 = 4.4±0.02 µg/ml).

Mots clés : *Hammada schmittiana*, *Aloysia citriodora*, polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés, activité antioxydante.

ملخص

الهدف من عملنا هو دراسة الكيمائية النباتية ومضادات الأكسدة لمستخلصات لاثنين من النباتات الطبية التي تم حصادها من منطقة النعامة : *Aloysia citriodora* و *Hammada schmittiana*.

تم الحصول على المستخلصات العضوية بتقنيتين: طريقة التكتيف (السيقان و الجذور) , طريقة النقع (الأوراق) باستخدام خليط الميثانول / الماء: 30/70 (v/v) تميزت مستخلصات الخام بأفضل مردودية حيث بلغت 28.06% (السيقان) ، 26.44% (الأوراق) و 17.46% (الجذور) عند *H.schmittiana* و 29.51% (الأوراق) و 16.69% (السيقان) عند *A.citriodora*، اما اضعف معظمها سجل مع مستخلص بيتانول.

خضعت المستخلصات الخام التي تم الحصول عليها من أجزاء مختلفة من النباتين المدروسين لفحوصات في إجمالي البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف. مستخلص الميثانول لجذور *H.schmittiana* سجل اعلى محتوى هذه المحتويات بترتيب 6.711 ± 0.01 mg EAG / g، 5.174 ± 0.07 mg EC / g، 0.826 ± 0.01 mg EC / g على التوالي، اما بالنسبة ل *A.citriodora* تم العثور على قيم كبيرة في الأوراق في حدود 11.158 ± 0.02 mg EAG / g، $3,104 \pm 0.06$ mg EC/g، $0,141 \pm 0.01$ mg EC/g على التوالي.

بعد ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر باستخدام طريقتين: اختبار حصر الجذور الحرة واختبار ارجاع الحديد كشفت هذه الدراسة عن نشاط معتدل في مستخلصات أسيتات الإيثيل و بيتانول لجذور *H.schmittiana* حيث سجلنا بالترتيب $27.48 \mu\text{g/ml}$ ، $29.34 \mu\text{g/ml}$ على التوالي. اما بالنسبة للجزء العلوي فقد سجلت نشاط ضعيف مقارنة مع حمض الاسكوربيك ($\text{IC}_{50} = 5.97 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$) بينما مستخلص اوراق البيوتانول ل *A. citriodora* يحتوي على فاعلية ممتازة مضادة للأكسدة مقارنة بالاختبار الإيجابي ($7.47 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$).

مستخلصات اسيتات الإيثيل و البيتانول لجذور *H.schmittiana* سجلت قدرة متوسطة في ارجاع الحديد بترتيب يساوي $28 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ و $34 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$ على التوالي. مستخلص بيتانول للأوراق و السيقان *A.citriodora* سجل اكثر فاعلية في القدرة على ارجاع الحديد $7 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$ و $8 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ ، على التوالي. هذه القيم قريبة من تلك الخاصة بحمض الأسكوربيك ($\text{EC}_{50} = 4.4 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$).

الكلمات المفتاحية: *Aloysia citriodora*، *Hammada schmittiana*، إجمالي البوليفينول، الفلافونويد، العفص المكثف، مضادات الاكسدة.

Abstract

The objective of our work is the phytochemical study and antioxidant activity the extracts of two medicinal plants collected in the region of Naâma: *Hammada schmittiana* and *Aloysia citriodora*.

The organic extracts were obtained by two techniques: the reflux method (stems and roots), The maceration (leaves) method using the mixture of Methanol/water: 70/30 (v/v). The crude extracts were marked by the best rendement are around 28.06% (stems), 26.44% (leaves) and 17.46% (roots) in *H.schmittiana*, and 29.51% (leaves), 16.69% (stems) in *A.citriodora*, the lowest were recorded with the n-butanol fraction.

The crude extracts obtained from different parts of the two plants studied were assayed for total polyphenols, flavonoids and condensed tannins. The methanolic extract of the roots of *H. schmittiana* presents the highest contents. These contents are about 6.711 ± 0.01 mg EAG/ g, 5.174 ± 0.07 mg EC/g and 0.826 ± 0.01 mg EC/g, respectively. For *A.citriodora* species the high values were found in leaves in the range of 11.158 ± 0.02 mg EAG/ g, 3.104 ± 0.06 mg EC/g and 0.141 ± 0.01 mg EC/g, respectively.

Subsequently, the in vitro antioxidant activity was evaluated through two methods: the DPPH and FRAP assays. This study revealed a moderate activity in ethyl acetate and n-butanol fractions of the root part of *H.schmittiana* in the order of 27.48 $\mu\text{g/ml}$, 29.34 $\mu\text{g/ml}$, successively. For the aerial part was marked by low activity compared to ascorbic acid ($\text{IC}_{50}= 5.97\pm 0.01$ $\mu\text{g/ml}$). While the n-butanol extract of *A.citriodora* leaves showed a better significant antioxidant power (7.47 ± 0.01 $\mu\text{g/ml}$) this value is comparable to that of the positive control.

The ethyl acetate and n-butanol fractions of *H.schmittiana* roots show an average reducing power in the order of EC_{50} equal to 28 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$ and 34 ± 0.01 $\mu\text{g/ml}$, successively. The n-butanol fraction of *A.citriodora* leaves and stems gives a better capacity to reduce iron 7 ± 0.09 $\mu\text{g/ml}$ and 8 ± 0.02 $\mu\text{g/ml}$, respectively. These values are close to those of ascorbic acid ($\text{EC}_{50} = 4.4\pm 0.02$ $\mu\text{g/ml}$).

Key words: *Hammada schmittiana*, *Aloysia citriodora*, total polyphenols, flavonoids, condensed tannins, antioxidant activity.

Liste des abréviations

ACeOH	Acétate d'éthyle
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
ButOH	Butanol
DPPH	2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl
EAG	Equivalent Acide Gallique
EC₅₀	Concentration Efficace pour Réduire 50% du Fer
EC	Equivalent Catéchine
EQ	Equivalent Quercétine
ES	Extrait Sec
Ext	Extrait
FeCl₃	Chlorure de fer
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power (Pouvoir Réducteur du Fer)
HCl	Acide chlorhydrique
I%	Pourcentage d'inhibition
IC₅₀	Concentration Inhibitrice de 50% de DPPH
K₃Fe	Ferricyanure de potassium
MeOH	Méthanol
MS	Matière sèche
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
PPT	Polyphénols totaux
R²	Coefficient de détermination
ERO	Espèces réactives de l'oxygène

TC Tanins condensés
TCA Acide Tri-Chloro-Acétique
V / V Rapport Volume par Volume

Liste des figures

Figure 1 : Structure de base des composés phénoliques.....	6
Figure 2 : Structures chimiques des composés phénoliques simples	7
Figure 3 : structures chimiques des principales classes des flavonoïdes.....	7
Figure 4 : Différentes structures des tanins.....	8
Figure 5 : Photo originale de la plante <i>Hammada schmittiana</i>	11
Figure 6 : Photo des fleurs et feuilles d' <i>Aloysia citriodora</i>	13
Figure 7 :Balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants.....	18
Figure 8 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	21
Figure 9 :Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe ³⁺ et un antioxydant (AH).....	21
Figure 10 : Position géographique de récolte de plante <i>Hammada schmittiana</i>	24
Figure 11 : Schéma illustre les étapes suivies dans l'extraction.....	26
Figure 12 : Protocole du dosage des polyphénols totaux.....	28
Figure 13 : Protocole du dosage des flavonoïdes.....	29
Figure 14 : Protocole du dosage des tanins condensés.....	30
Figure 15 : Protocole de test DPPH.....	31
Figure 16 : Protocole de test FRAP.....	33
Figure 17 : Rendement d'extraction de la plante <i>Hammada schmittiana</i>	35
Figure 18 : Rendement d'extraction de la plante <i>Aloysia citriodora</i>	35
Figure 19 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	37
Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	37
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	38

Liste des tableaux

Tableau 1 : La classification botanique pour l'espèce <i>Hammada schmittiana</i>	12
Tableau 2 : La classification botanique pour l'espèce <i>Aloysia citrodora</i>	14
Tableau 3 : Principaux constituants chimiques d' <i>Aloysia citriodora</i>	15
Tableau 4 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les parties d'extrait méthanolique de deux plantes <i>Hammada schmittiana</i> et <i>Aloysia citriodora</i>	38
Tableau 5 : Valeurs de l'IC50 des extrait méthanoliques et ses différentes fraction des deux espèces <i>Hammada schmittiana</i> et <i>Aloysia citriodora</i>	41
Tableau 6 : Valeurs de l'EC50 des extrait méthanoliques et ses différentes fraction des deux espèces <i>Hammada schmittiana</i> et <i>Aloysia citriodora</i>	42

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1: Les plantes médicinales et phytothérapie

I. les plantes médicinales.....5

II. phytothérapies.....5

III. Métabolites secondaires.....5

III.1. Les composés phénoliques.....5

III.1.1. Généralités, structures et classification.....5

III.1.1.1. Les acides phénoliques.....6

III.1.1.2. Les flavonoïdes.....7

III.1.1.3. Les tanins.....8

IV. Méthode d'extraction des substances bioactives.....8

IV.1. Sous reflux.....9

IV.2. Macération.....9

IV.3. Infusion.....9

Chapitre2: Plantes étudiées

I. *Hammada schmittiana*..... 11

I.1. Description botanique.....11

I.2. Répartition et écologie.....11

I.3. Classification botanique.....12

I.4. Composition et propriétés biologiques.....12

II. *Aloysia citriodora*.....13

II.1. Description botanique.....	13
II.2. Classification botanique.....	14
II.3. Composition chimique.....	14
II.4. Usage traditionnel.....	15

Chapitre 3: Activité antioxydante

I. Stress oxydatif.....	18
II. Radicaux libres.....	19
III. Systèmes de défense antioxydante.....	19
IV. Maladies liées au stress oxydatif.....	20
V. Evaluation de l'activité antioxydante.....	20
V.1. Test de DPPH.....	20
V.2. Test de FRAP.....	21

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal.....	24
II. Extraction.....	24
II.1. Préparation des extraits bruts.....	25
II.2. Préparation des extraits acétate d'éthyle et n-butanol.....	25
III. Dosage des polyphénols totaux.....	27
IV. Dosage des flavonoïdes.....	28
V. Dosage des tanins condensés.....	29
VI. Etude de l'activité antioxydante.....	30
VI.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2diphényle- 1-picrylhydrazyl).....	30
VI.2. Pouvoir Réducteur du Fer (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	32

Chapitre 2: Résultats et Discussion

I. Rendements des extraits.....	35
II. Teneurs en composés phénoliques.....	36
II.1. Teneurs en polyphénols totaux.....	38
II.2. Teneurs en flavonoïdes.....	39
II.3. Teneurs en tanins condensés.....	40
III. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité Antioxydante.....	40
III.1. Capacité de Piégeage du radical libre DPPH.....	40
III.2. Capacité de réduction du fer FRAP.....	42
Conclusion et perspectives.....	45
Références bibliographiques.....	48

Annexes

Introduction

générale

Depuis l'existence de l'homme sur terre il fait le recours aux ressources naturelles pour vivre. Au début, il a utilisé les plantes médicinales, pour soulager et guérir les maladies humaines. Le développement des recherches phytothérapies facilite l'identification des composants efficaces au niveau des plantes qui sont utilisées dans divers secteurs, à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie. Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80 % des gens dépendent de la médecine traditionnelle pour les soins de santé (**O.M.S, 2002**).

L'Algérie constitue un véritable réservoir phylogénétique avec sa flore riche et diversifiée (**Dobignard, 2010 et Chatelain, 2013**). Elle possède un patrimoine botanique très riche, avec 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, mais reste peu de recherches et peu d'exploration pharmacologique (**Quezel et Santa, 1963**), pour que l'Algérie devrait rendre le marché des plantes médicinales a fin de tires profit de son riche potentiel (**A.P.S, 2015**).

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés thérapeutiques qui sont dues à la présence substances naturelles bioactive appelés: les métabolites secondaires. Notamment les composés phénoliques qui sont principalement reconnus pour leurs importantes propriétés antioxydantes. De nombreuses recherches sur les caractéristiques biologiques de certains extraits de plantes ont permis d'identifier de nombreux composants actifs qui sont employés dans la synthèse de nombreux médicaments utilisés aujourd'hui (**Gbenou et al., 2011**). Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur des cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Les polyphénols végétaux, en particulier, sont fréquemment utilisés en thérapeutique comme antioxydants, anti-inflammatoires et inhibiteurs enzymatique (**Kreif, 2003**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont impliquées dans des processus physiologiques comme la défense immunitaire... mais toujours en faible quantité. Lorsqu'il y a une production excessive de ERO peut être toxique pour les cellules produire un stress oxydatif entraînant développement de diverses maladies telles que : le cancer, neurodégénératives (parkinson, alzheimer), le vieillissement, le diabète et les maladies inflammatoires (**Lehucher-Michel et al., 2001**).

Les chercheurs dans les domaines des sciences biologiques, chimiques et médicinales portent un intérêt sur les antioxydants naturels en raison de leurs propriétés thérapeutiques efficaces, ces derniers largement présents dans les plantes médicinales et les aliments, en particulier les polyphénols présentent un large d'effets biologiques, notamment des propriétés anti-inflammatoires, anti-âge, anticancéreux, et anti-athérosclérose. L'extraction efficace et l'évaluation appropriée des antioxydants des plantes alimentaires et médicinales sont essentielles pour explorer les sources

potentielles d'antioxydants et faciliter leur application dans divers domaines tels que les aliments fonctionnels, les additifs alimentaires et les produits pharmaceutiques (**Ping et al., 2017**).

Le but de notre recherche est l'étude phytochimique des différentes parties de *Hammada schmittiana* (feuilles, tiges et racines) et *Alyosia ciriodora* (feuilles, tiges), ainsi que d'évaluer l'activité antioxydante de ces plantes de la région de Naâma.

Le travail sera réparti en deux parties essentielles :

- La première partie est une synthèse bibliographique répartie en trois chapitres :
 - Généralités sur les plantes médicinales, phytothérapies et métabolismes secondaires des plantes
 - Description des plantes étudiées.
 - L'étude de l'activité antioxydante
- La deuxième partie est l'étude expérimentale divisée en deux chapitres
 - Matériel et méthodes
 - Les résultats et discussion enfin une conclusion générale et perspectives

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1

Les plantes médicinales et phytothérapie

I. les plantes médicinales

Toutes les plantes contenant une ou plusieurs substances pouvant être employées dans le but de se soigner (Sofowora, 2010).

Les plantes médicinales possèdent des propriétés bénéfiques pour la santé humaine qui sont utilisées de différentes manières : macération, décoction et infusion. Peut utiliser une ou plusieurs de leurs parties (fleurs, feuilles, tiges et racines) (Dutertre, 2011). Elle est la base de la phytothérapie (Catier et Roux, 2007).

Ces plantes peuvent être utilisées à des fins hygiéniques, nutritionnelles ou d'épice (Chabrier J., 2010).

II. Phytothérapie

Le terme "phytothérapie" est étymologiquement composé de deux racines grecques : « *Phyton*= plante et *Therapien* = traitement » qui signifient essentiellement traitement avec les plantes (Gayet, 2013).

La phytothérapie est l'étude des plantes médicinales et donc une méthode d'utilisation des propriétés médicinales des plantes pour traiter, soulager ou prévenir les maladies (Chamer, 2016). Elle désigne les médicaments à base d'extraits des plantes et les principes actifs naturels (Boussaid *et al.*, 2014).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), la phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et est encore largement utilisée dans certains pays, y compris les pays en développement (Boussaid *et al.*, 2014).

III. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés organiques complexes synthétisés et accumulés en faible quantité par les plantes (Lutge *et al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007), elles peuvent être classifiés en différents groupes selon leurs caractéristiques chimiques parmi eux: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins... (Macheix, JJ., *et al* 2005).

III.1. Les composés phénoliques

III.1.1. Généralités, structures et classification

Les « composés phénoliques » ou « polyphénols » sont les antioxydants les plus courants trouvés dans la nature (Menat, 2006). Ils ont tous en commun un ou plusieurs cycles benzéniques :

au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbone est présent dans leur structure (**Hennebelle *et al.*, 2004**). Cette structure possède une ou plusieurs fonctions hydroxyles et varie des molécules simples (acides phénoliques simples) à des molécules polymériques (tanins condensés) dans la plupart des cas. Plus de 8000 molécules phénoliques ont été identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Les polyphénols interviennent dans différents aspects de la vie végétale, dans la physiologie végétale (lignification, interactions symbiotiques...), les mécanismes de défense des plantes (interactions biotiques et abiotiques) ou la coloration des fleurs. Ils sont également bénéfiques pour la santé humaine en raison de leur activité sur le métabolisme humain et de leurs propriétés antioxydantes (**Rösch, D *et al.*, 2004**). Ces métabolites sont présents dans toutes les parties des plantes, notamment le pollen, les arbres, les fruits, les feuilles, les tiges, les racines, les graines et les fleurs (**Boizot et Charpentier, 2006**). D'un point de vue thérapeutique, les composés phénoliques sont constitués la base des principes d'activité retrouvés dans les plantes médicinales (**Macheix *et al.*, 2005**).

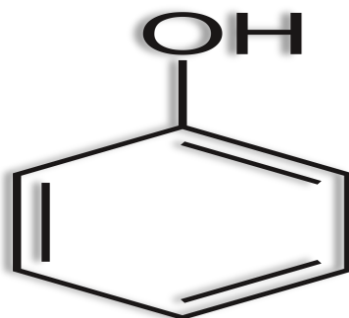


Figure 1 : Structure de base des composés phénoliques (**Dacosta, 2003**).

III.1.1.1. Les Acides phénoliques

Le composé phénolique le plus simple, applicable à tous les composés organiques avec des groupes fonctionnels carboxyle et des groupes hydroxyle phénolique (**Mokrini, 2006**)., Existents en grande quantité dans les aliments, et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont : des acides benzoïques (C6-C1) ou des acides cinnamiques (C6-C3) (**figure 2**). Ces acides phénoliques peuvent être subdivisés en : acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques (**Cai *et al.*, 2006**).

L'acide benzoïque est plus courant que l'acide cinnamique et comprend principalement l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide vanillique (**Vermeris et Nicholson, 2006**).

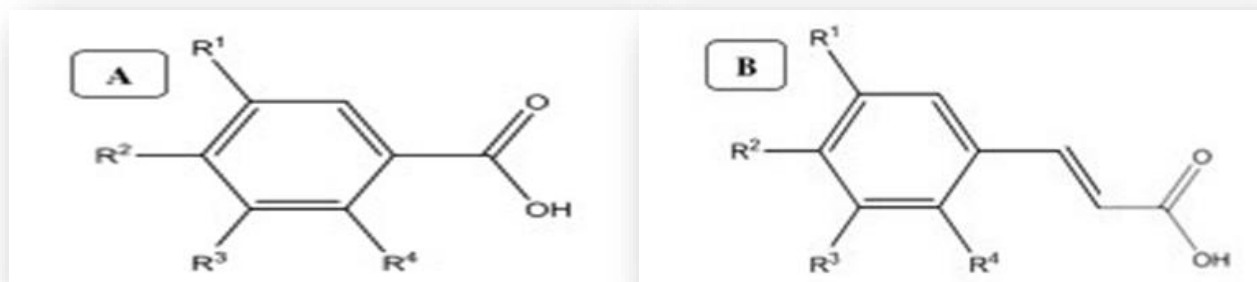


Figure 2 : Structures chimiques des composés phénoliques simples (A: Les acides benzoïques, B: Les acides cinnamiques) (Vermerris et Nicholson, 2006).

III.1.1.2. Les Flavonoïdes

Le terme flavonoïde est dérivé du mot flavedo qui signifie la couche externe des écorces d'orange, mais d'autres auteurs suggèrent que le terme « flavonoïde » est dû à la couleur jaune qu'il produit (flavus en latin) (Karaali *et al.*, 2004 ; Malesev et Kuntic, 2007).

Ces molécules sont souvent décrites dans les légumineuses. Ce sont des composés phytochimiques et caractérisent 6500 représentants différents (Harborne et Williams, 2000 ; Akroum, 2011). Il est omniprésent dans tous organes végétaux et fait donc partie intégrante de l'alimentation humaine. Ces substances très réactives et importantes, en particulier les diphenyl propanes à 15 carbones qui forment la structure C6-C3-C6 (deux cycles aromatiques reliés par 3 ponts carbonés) (Bessaoud ; Stahlhut *et al.*, 2015). Ils peuvent être divisés en différentes catégories, principalement les flavanones, les flavonols, les flavones, les anthocyanidines (Narayana, 2001; Malesev et Kuntic, 2007).

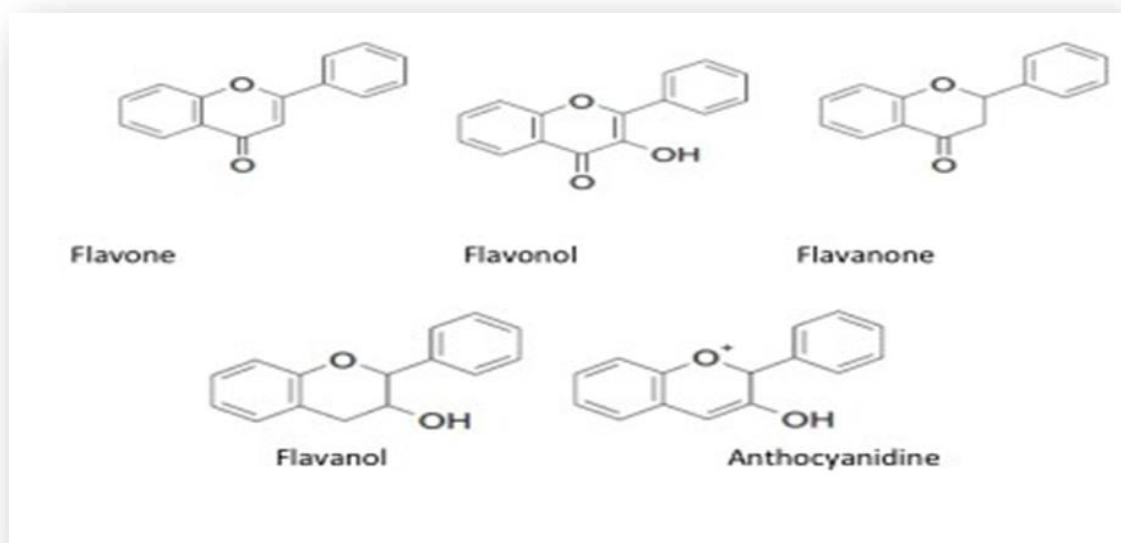


Figure 3 : structures chimiques des principales classes des flavonoïdes (Balasundram *et al.*, 2005).

III.1.1.3. Les Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques de poids moléculaire élevé qui sont abondants dans différents types de plantes. Utilisés par l'homme depuis l'antiquité pour traiter les peaux d'animaux, on les retrouve dans presque toutes les parties des végétaux (bois, écorce, racines, feuilles et fruits). Ces composés ont la capacité de se lier aux protéines (**Frutos *et al.*, 2004 ; Macheix *et al.*, 2005 ; Harborne *et al.*, 2009**).

Ils sont aujourd'hui répartis en deux catégories selon leur nature chimique et leur structure : les tanins hydrolysables et condensés (catéchines ou procyanidines) (**Figure 04**) (**Bennick, 2002; Frutos *et al.*, 2004 ; Naumann *et al.*, 2018**).

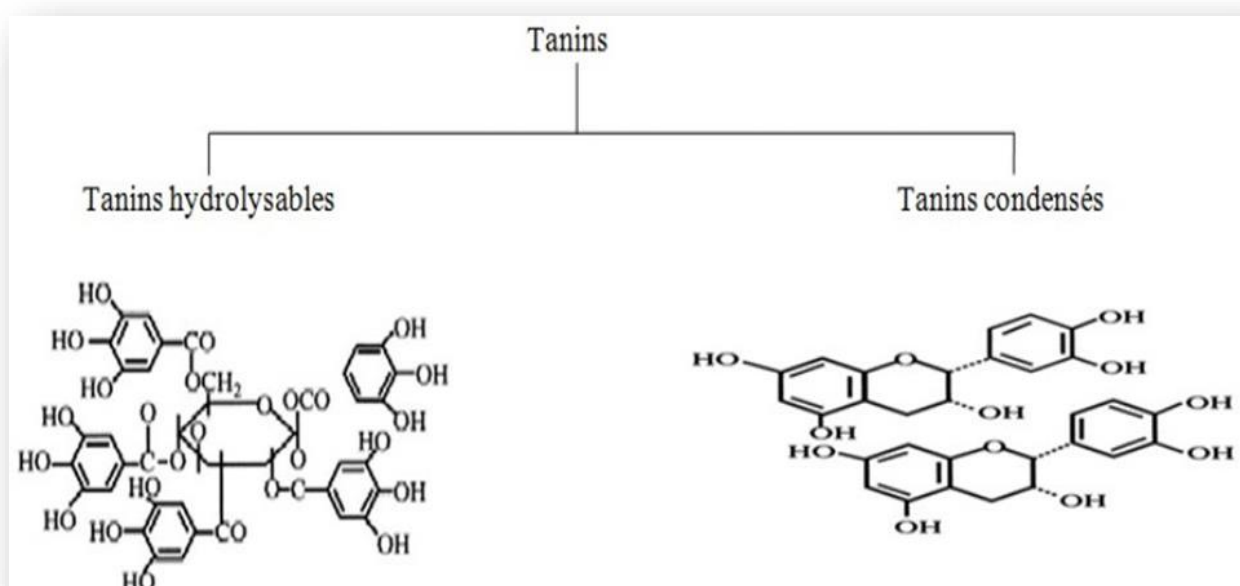


Figure 4 : Différentes structures des tanins (**Naczki et Shahidi, 2004**).

IV. Méthode d'extraction des substances bioactives

L'extraction des polyphénols est réalisée par divers procédés traditionnels et intensifiés (**Panja, 2017**). Les premières techniques d'extraction de produits aromatiques d'origine végétale ont vu le jour lorsque l'humanité a réalisé l'intérêt pour la nature environnante et ses bienfaits.

La méthode traditionnelle consiste à extraire l'extrait brut de la végétale via l'eau (pour les molécules hydrosolubles) ou l'huile (pour les molécules liposolubles) en utilisant le procédé de base le plus simple (**Benzeggouta, 2015**). Les techniques d'extraction les plus courantes sont : le sous reflux, la macération et l'infusion.

.IV.1. Sous reflux

C'est une technique d'extraction à chaud solide-liquide, réalisée à une température constante (température de reflux) égale au point d'ébullition du solvant. L'évaporation de solvant se condense sur le réfrigérant et retombe dans le ballon, permettant au solvant d'être ainsi recyclé. L'ébullition (agitation), le chauffage (augmentation de la solubilité) et le reflux permettent une extraction efficace à l'aide d'un appareillage relativement simple (**Handa S *et al.*, 2008**).

IV.2. Macération

La macération est la technique la plus simple d'extraction solide-liquide, laissant la poudre de matière végétale en contact avec un liquide tel que de l'eau froide (macération aqueuse) pour en extraire les principes actifs à température ambiante pendant un temps plus ou moins long. Elle fonctionne sur la plupart des écorces, rhizomes et racines (**Feknous *et al.*, 2014; Benzeggouta, 2015, Lehmann, 2013**).

IV.3. Infusion

C'est une méthode d'extraction simple consisté à recouvrir d'eau bouillant une quantité déterminée d'espèces végétales fraîches ou séchées et en les trempant complètement pour en extraire les composants thérapeutiques. Il convient à l'extraction des parties fines ou hachées de l'espèce végétale telle que les graines, fleurs, feuilles, racines. Ainsi que les substances volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Benzeggouta, 2015**).

Chapitre 2

Plantes étudiées

I. *Hammada schmittiana*

Hammada schmittiana est une espèce de plantes appartient à la famille des *Amaranthaceae* qui est composée de 800 espèces réparties sur 75 genres (Ozenda, 1991). Elle pousse sur un sol sablonneux fin. *H.schmittiana* est une espèce sableuse présente dans les milieux à bioclimats bas arides (Boucherit *et al.*, 2017).

I.1. Description botanique

Hammada schmittiana est un arbuste de 20 à 50 cm de haut, ramifié à partir de la base, dont les tiges articulées ont une épaisseur de 2-3 mm, blancs. Il possède des feuilles opposées de couleur générale verte très pâle; les fleurs bisexuées sont situées à l'aisselle des feuilles supérieures et ont des graines horizontales (Botsch, 1964).



Figure 5 : Photo originale de la plante *Hammada schmittiana* (13/05/2022)

I.2. Répartition et écologie

Les genres de *Hammada* sont originaires notamment d’Afrique du Nord et du Moyen-Orient, endémique saharienne où on la trouve surtout dans les pâturages désertiques (Quezel et Santa, 1963).

I.3. Classification botanique

La systématique d'espèce *Hammada schmittiana* est représentée dans le **tableau 1** ci-dessous :

Tableau 1 : La classification botanique pour l'espèce *Hammada schmittiana*

Règne	Plantae
Division	<i>Tracheophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Caryophyllales</i>
Famille	<i>Amaranthaceae</i>
Genre	<i>Hammada</i>
Espèce	<i>Hammada schmittiana</i> (Pomel) Botsch
Synonyme	= <i>Arthrophytum schmittianum</i> (Pomel) Maire & Weiller, <i>Haloxylon schmittianum</i> Pomel

I.4. Composition et propriétés biologiques

La plante *H.schmittiana* renferme des alcaloïdes, des triterpènes, des coumarines, des dérivés stérols, des dérivés cycloheximides. La partie aérienne contient une série d'alcaloïdes dont l'haloxynine, anabasine, halosaline, hordénine, pipéridine, N-méthyltyramine, aldoripéridine et haloxine. Ils servent à la défense contre les herbivores et les insectes (**Ferheen et al., 2005**).

II. *Aloysia citriodora*

Généralement, appelé «Tizana ou Louiza ». C'est une espèce de plantes appartient à la famille des *Verbénacées*, originaire d'Amérique du Sud, introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (Afrique du Nord et Midi de la France) (Bruneton, 2009). L'infusion de cette plante est l'une des tisanes les plus consommées (Lenoir, 2011), l'*A.citriodora* est cultivée dans les climats tempérés comme plante odorante et ornementale, ses feuilles sont utilisées en phytothérapie. À la fin de l'été, elles sont récoltées. Elle s'adapte à tous les types des sols et nécessite de grandes quantités d'eau (Pascual *et al.*, 2001).

II.1. Description botanique

Autres désignations botaniques : l'*Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton, *Lippia citriodora* (Kunth), *Lippia triphylla* ou *verveine odorante*. C'est un sous arbrisseau vivace, les tiges anguleuses, cannelées (Cheurfa et Allem, 2016); leur hauteur varie de 1,50 à 3,00 m (Figueiredo *et al.*, 2002). Les feuilles vert pâle, allongées, rugueuses au toucher, de longueur 3 à 7 cm et de 1 à 2 cm de large, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles extrêmement courts. Les fleurs longues, disposées en épis, et ont quatre pétales soudés à la base et étalés en quatre lobes qui sont de deux couleurs différentes : blanc à l'extérieur et bleu-violet à l'intérieur (Ghédira et Goetz, 2017) (Figure 6).

Caractérisée par une odeur de citron lorsqu'elle est froissées (Chapman, 2009); c'est pourquoi elle est utilisée en herboristerie et en industrie de la parfumerie (Perrot *et al.*, 1974).



Figure 6 : Photo des fleurs et feuilles d'*Aloysia citriodora* (Ghédira et Goetz, 2017).

II.2. Classification botanique

Classification botanique d'*Aloysia citriodora* selon **Cronquist (1981)**.

Tableau 2 : La classification botanique pour l'espèce *Aloysia citrodora*

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Verbenaceae</i>
Genre	<i>Aloysia</i>
Espèce	<i>Aloysia citrodora</i>

✓ Noms vernaculaires

Français : verveine citronnée, verveine du Pérou ou verveine vraie

Anglais : lemon beebrush, lemon verbena

Arabe : لوزية الليمون

II.3. Composition chimique

La première analyse en laboratoire de sa composition a été effectuée par **Carnat et al (1999)**. Cette étude démontre la présence de dérivés hydroxycinnamiques, dont le principal est le verbascoside, ainsi que de flavonoïde, principalement la lutéoline 7-diglucuronide.

Quantitativement, la concentration en polyphénols de l'infusion d'*A.citriodora* a été évaluée à 675 mg/l dont 24% de flavonoïde et 76% d'acide phénolique. Les deux principaux composants, la lutéoline 7-diglucuronide et le verbascoside, avaient des concentrations respectives de 100 mg/l et 500 mg/l (**Carnat et al., 1999**).

Tableau 3 : Principaux constituants chimiques d'*A.citriodora* (Ghédira et Goetz, 2017).

Familles de constituants chimiques	Constituants principaux
Flavonoïdes	Lutéoline, salvigénine, eupatorine, cirsimaritrine, eupafoline, 6-hydroxylutéoline, lutéoline-7-O- β -glucoside, hispidutine, diosmétine, chrysoériol, apigénine, pectolinarigénine, cirsilol et apigénine (Skaltsa H, et Shamma G., 1988).
Huile essentielle (0,1 à 0,7 %)	Citronellol, limonène, néral, géraniol, géraniol, cinéole, bêta-caryophyllène, curcumène, alphapinène, sabinène, bêta-ocimène (Argyropoulou C, et al., 2007 ; Bellakhdar J, et al., 1994).
Acides phénols	Acide 4-Hydroxycinnamique, actéoside, acide dihydrocafféique (Bruneton J, 2016 ; Ombito JO., et al., 2014).
Iridoïdes	Gardoside, verbénaline, thévéside, aspéruloside (Bruneton J, 2016).
Autres dérivés phénylpropanoïques	Eukovoside, martinosite, forsythoside (Bruneton J, 2016).

II.4. Usage traditionnel

Aloysia citriodora à une longue histoire dans la médecine traditionnelle comme le traitement de, rhume, la fièvre, l'asthme et la grippe, elle est utilisée largement pour lutter contre les flatulences, l'indigestion, les coliques, la diarrhée, l'insomnie et l'anxiété (Abuhamdah et Mohammed, 2013).

Les parties aériennes de la plante *A.citriodora* sont les parties les plus employées (feuilles et fleurs). L'infusé de feuille est utilisée traditionnellement dans certains pays européens tels que traitement gastro-intestinal et sont considérées comme particulièrement bénéfique pour l'indigestion

et le traitement des douleurs stomacales. Elle est agréable à boire et s'emploie notamment dans les cas des digestions difficiles, les ballonnements, les brûlures d'estomac (**Pascual *et al*, 2001**).

Des analyses *in vitro* à l'aide de plusieurs tests montrent les diverses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antispasmodiques. Des chercheurs ont trouvé que l'huile essentielle d'*A.citriodora* possède une propriété antibactérienne contre d'*Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Mycobacterium tuberculosis* (**Cheurfa, 2016**).

Chapitre 3

Activité antioxydante

Dans les dernières années, Le terme « stress oxydatif » qui envahit le monde des sciences biologiques et médicales et qui désigne une situation dans lequel la cellule ne peut plus contrôler la présence des radicaux oxygénés dangereux en excès (Favier., 2003). L'oxygène moléculaire est un composant clé pour les organismes vivant en milieu aérobie, car il peut produire de l'énergie en oxydant la matière organique. En effet, une partie de l'oxygène (entre 1 à 2%) a la capacité de capter des électrons et créer des espèces partiellement réduites connues sous le nom de radicaux libres ou d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Baudin, 2006).

Dans les cellules intactes, il existe un équilibre entre l'élimination et la formation des radicaux libres. Cependant, cet équilibre peut évoluer vers une formation excessive de radicaux libres ou des concentrations diminuent d'antioxydants. Cet état est appelé "stress oxydatif", et il peut à long terme causer de graves dommages (Shinde *et al.*, 2012).

I. Stress oxydatif

La balance oxydant/antioxydant est équilibré dans des conditions normales. Mais dans certaines circonstances, en raison d'une production excessive de radicaux libres (alcool, tabac, pollution...) ou une diminution de la capacité antioxydante (apport insuffisant en micronutriments antioxydants, inactivation des enzymes), il existe un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense est responsable d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (Sohal *et al.*, 2002). Lorsque production des espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) dépasse les défenses antioxydantes de l'organisme, la perturbation de cet équilibre correspond à un état dit de « stress oxydatif » (Roussel, 2009).

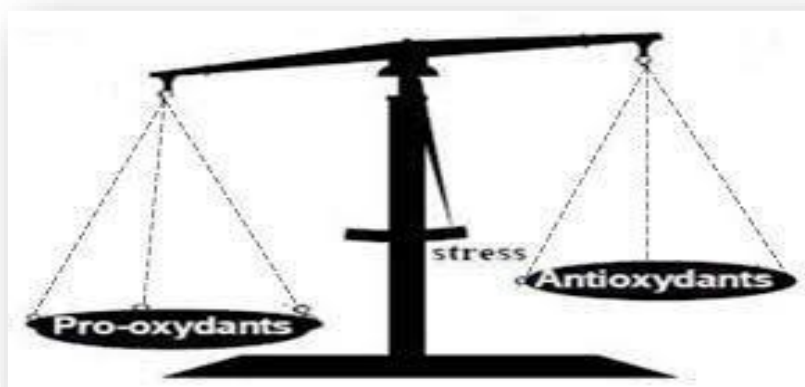


Figure 7: Balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants (Favier, 2006).

II. Radicaux libres

Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques qui possèdent un électron célibataire; ils ont la capacité de dégrader de façon irréversible les principaux éléments constitutifs des cellules d'un organisme, ce qui entraîne des dommages importants à la structure et au métabolisme des cellules (**Anisio, 2005**). Les caractéristiques chimiques de ces molécules leur confèrent fréquemment une durée de vie très courte (10^{-4} à 10^{-6} secondes), un haut niveau de réactivité chimique et une grande instabilité (**Aurousseau, 2002 ; Weidinger et Kozlov, 2015**). Le terme "dérivés réactifs de l'oxygène" inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde (O_2), radical hydroxyle (OH), monoxyde d'azote (NO), ainsi que certains dérivés réactifs d'oxygènes non radicalaires dont la toxicité est importante : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxy-nitrite ($ONOO^-$) (**Oldham et Bowen, 1998**).

Les radicaux libres peuvent être à l'origine de multiples lésions cellulaires :

- les lipides, les protéines (**Jacob, 2007**)
- l'ADN (modification des bases, casseur des brins) (**Cherubini A et al., 2005**)
- les membranes cellulaires (changement de la fluidité, perméabilité altération des propriétés, fonctionnelles des cellules) (**Poston L, et Raijmakers., 2004**).

III. Systèmes de défense antioxydante

Chez tout individu dans un tissu sain, la production des ERO est contrôlée par le système de défense antioxydant, qui est capable de faire face et de détruire les radicaux libres en excès. La balance antioxydant/pro-oxydant est dite en équilibre (**Adjimani et Asare, 2015**).

Les antioxydants sont des substances capables d'interagir avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs, permet de retarder, d'inhiber ou ralentir l'oxydation des substrats biologiques. Les antioxydants sont toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration capable de prévenir et réduire le degré de dommages oxydatifs des biomolécules, c'est une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydatif au sein de l'organisme (**Merzougui et tadj., 2012**).

Il existe deux classes d'antioxydants : enzymatique et non enzymatique :

✓ Antioxydants enzymatiques

L'organisme humain constitue d'un système enzymatique : catalase (CAT), superoxyde dismutase (SOD), et glutathion peroxydase (GPx) (**Avissar et al., 1989**).

✓ Antioxydants non enzymatiques

Les vitamines C et E, le β -carotène, les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins, qui sont les principaux antioxydants non enzymatiques que l'on retrouve dans les aliments, démontrent l'importance d'avoir une alimentation équilibrée et riche en fruits et légumes afin de maintenir un équilibre cellulaire adéquat entre les oxydants et les antioxydants (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

IV. Maladies liées au stress oxydatif

La plupart des maladies causées par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale radicaux libres (**Mohammedi, 2013**). De nombreux travaux montre que le stress oxydant est impliqué dans le développement de plusieurs pathologies (maladies cardiovasculaires, cancer, diabète,...) (**Pincemail et al., 2002**).

En provoquant l'apparition de molécules biologiques anormales et en surexprimant des gènes spécifiques, le stress oxydant sera un développement de nombreuses maladies telles que : le diabète, alzheimer, parkinson, œdème pulmonaire, cancer, syndrome de détresse respiratoire aigu, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré, cataracte, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose (**Atawodi, 2005 ; Georgetti et al., 2003**).

V. Evaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer de l'activité antioxydante, par exemple : le test DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) et FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (**Prior et al., 2005**). Ces méthodes diffèrent les unes des autres selon les techniques analytiques impliquées dans le fonctionnement du procédé d'oxydation (**Magalhaes et al., 2008**).

V.1. Test de DPPH

La molécule du DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable il est capable de capter un proton ou un électron (**Iqbal et al., 2005**).

La mesure de la capacité antioxydante par DPPH est basée sur la capacité d'un composé à réduire le radical libre DPPH[°] en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (HA), entraînant la formation de la forme non radicalaire DPPH-H (**figure8**). La réduction de DPPH en DPPH-H lui fait perdre sa couleur violette à couleur jaune, qui peut être suivie par spectrophotométrie à 515 nm (**Michel, 2011**).

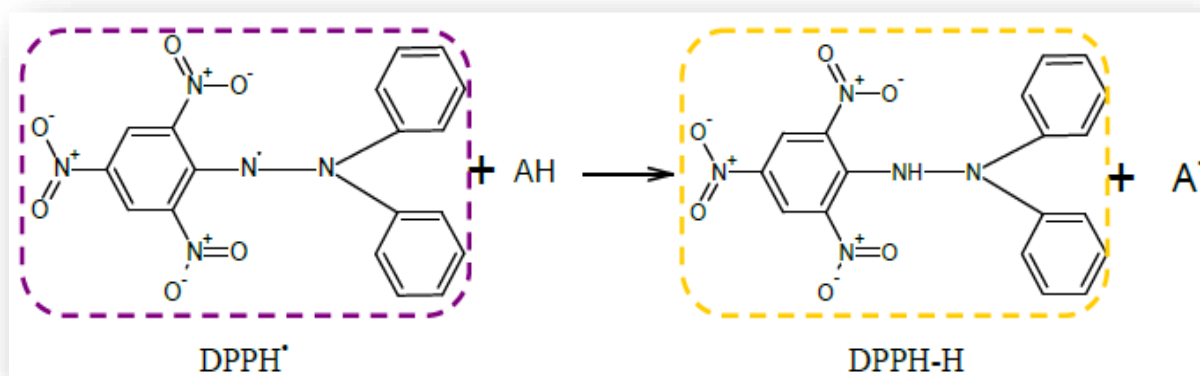


Figure 8: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Michel, 2011).

V.2. Test de réduction de fer FRAP

Le test FRAP met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron ainsi permet d'évaluation d'activité antioxydante de l'extrait testé, ce teste caractérisé par : un test simple, reproductible, universel et peut appliquer aux plantes (extraits organiques) (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Le pouvoir réducteur de l'extrait est lié à sa capacité antioxydante. Cette technique a été utilisée pour mesurer la capacité de l'extrait à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. Le fer ferrique, initialement jaune, se réduit en présence d'atomes d'électrons et vire au bleu ou au vert, l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm. le changement de couleur est proportionnel à l'activité antioxydante (Floegel *et al.*, 2011 ; Atto, 2011).

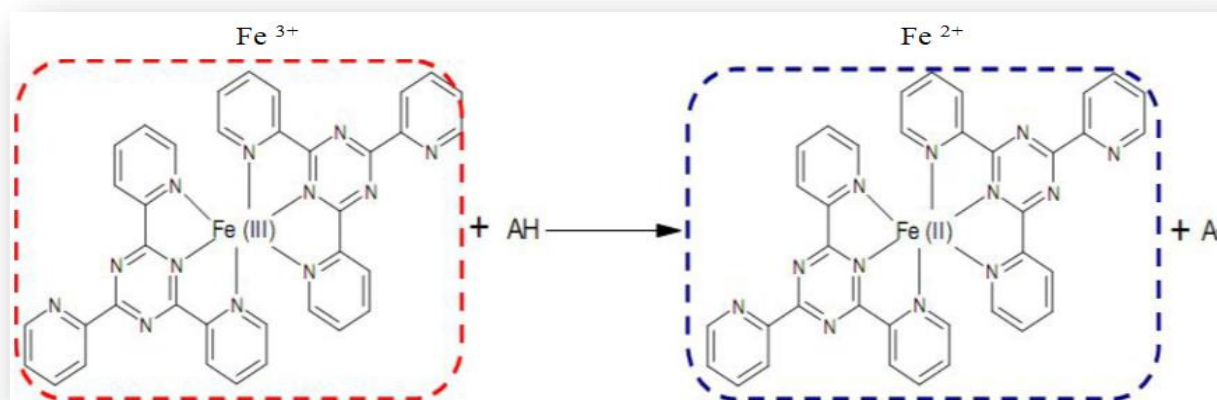


Figure 9: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe^{3+} et un antioxydant (AH) (Benzie et Strain, 1996).

PARTIE

EXPERIMENTALE

Chapitre 1

Matériel et Méthodes

Le présent travail est réalisé au niveau de laboratoire de Biochimie et de Laboratoire de la Recherche Scientifique _ Institut des Sciences et Technologies _ Centre Universitaire Salhi Ahmed_ Naâma.

Les extraits méthanoliques obtenus ont fait l'objet d'une étude de leurs composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés). Ainsi que l'examen de propriétés antioxydantes des extraits bruts avec leurs fractions acétate d'éthyle et n-butanol par deux méthodes: DPPH et FRAP. Dans l'objectif de déterminer des propriétés thérapeutiques possibles.

I. Matériel végétal

La plante *Hammada schmittiana* (feuilles, tiges et racines) et la plante *Alyosia ciriodora* (feuilles, tiges) ont été récolté durant le mois de Février 2022 dans la région de la wilaya de Naâma. Les parties de deux plantes sélectionnées sont séchées à l'aire libre. La matière végétale a été broyée en poudre, puis soumise à l'extraction.

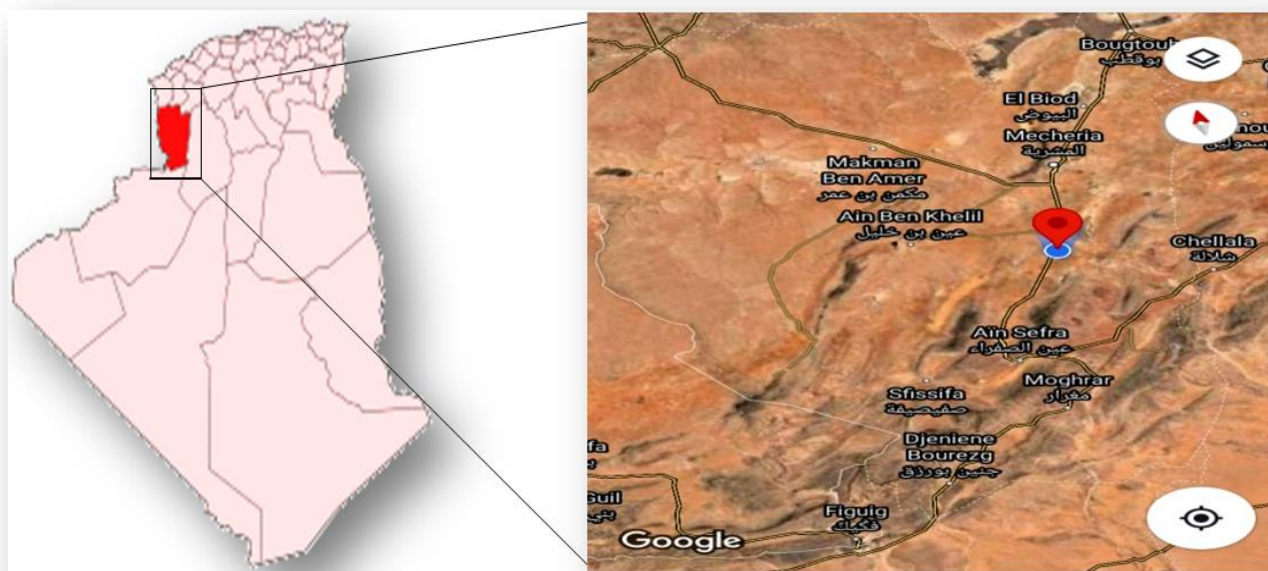


Figure 10: Position géographique de récolte de la plante *Hammada schmittiana* (Google Maps).

II. Extraction

L'étape d'extraction est considérée comme une étape importante, a pour but la désorption des molécules actives de la matière végétale et déterminer la nature et la quantité des molécules extraites (Mendiola, 2007).

Dans notre étude, les extraits utilisés ont été préparés selon deux méthodes d'extraction qui sont :

- Extraction sous reflux
- Extraction par macération

Les extraits préparés étaient : extrait de méthanol, acétate d'éthyle et n-butanol. La préparation des extraits des composés phénoliques est réalisée suivant le protocole **Bekkara et al., 1998**, avec quelques modifications.

II.1. Préparation des extraits bruts

➤ Préparation des extraits méthanoliques sous reflux

3g de poudre du matériel végétal de chaque partie sélectionné de deux plantes *H.schmittiana* (tiges et racines), *A.citriodora* (tiges) est mise en contact avec le mélange méthanol/eau (70 : 30) (v/v). La préparation est portée sous reflux pendant 2 h à 70 °C. Après refroidissement, le mélange est soumis à filtration puis évaporée sous pression réduite à sec. Le résidu sec est pesé, puis repris par 3 ml de méthanol et est conservé à 4 °C.

➤ Préparation des extraits méthanoliques par macération

3g des feuilles de deux plantes étudiées sont mise en macération avec le mélange méthanol/eau (70:30) (v/v) pendant 24h à une température ambiante. Après extraction l'extrait est filtré; le filtrat récupéré est séché à sec. Le résidu sec est pesé, puis repris par 3 ml de méthanol et est conservé à 4 °C jusqu'à l'utilisation.

II.2. Préparation des extraits acétate d'éthyle et n-butanol

Les résidus secs obtenus après évaporation du filtrat méthanolique de chaque partie étudié, sont partagés entre 10 ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau tiède dans une ampoule à décanter. Après la décantation (24h), la phase d'acétate d'éthyle est récupérée et séchée par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 60 °C. Le résidu sec est repris par 3ml de méthanol et conservé à +4°C. La phase aqueuse issue de l'extraction avec l'acétate d'éthyle est, quant à elle, partagée avec 10 ml du n-butanol. La phase n-butanol est séchée au rotavapor à 60°C. Le résidu sec est repris par 3 ml de méthanol et conservé à +4°C.

Le protocole d'extraction est résumé dans le schéma ci- dessus (**Figure 11**).

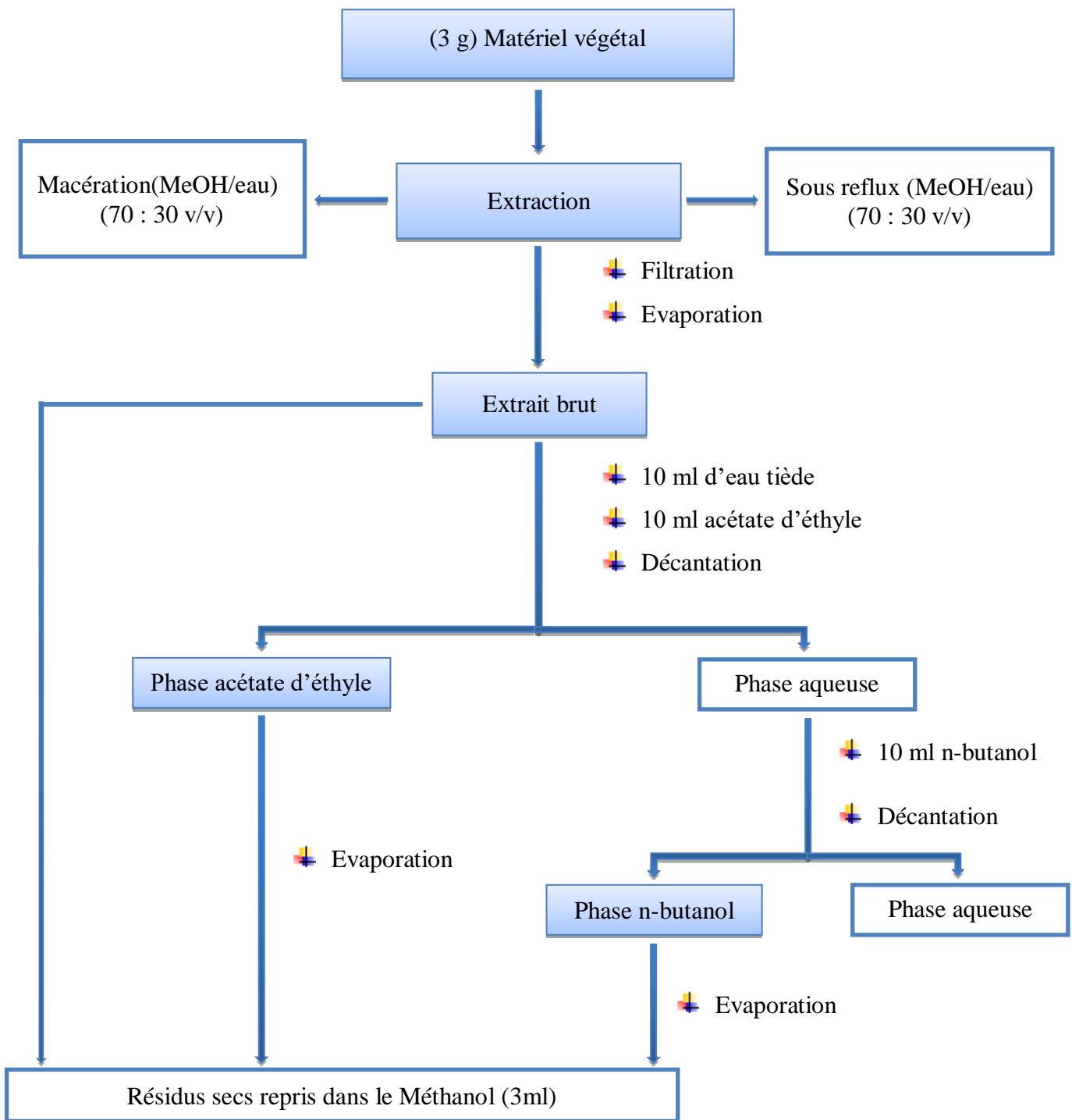


Figure 11 : Schéma illustre les étapes suivies dans l'extraction

➤ Calcul du rendement

Le rendement d'extraction est calculé par la formule ci-dessus. Il est exprimé en fonction de la matière sèche (Harborne, 1980).

$$\text{Rd \%} = \left[\frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{P3}} \right] \times 100$$

Rd% : Rendement exprimé en %.

P1 : Poids du ballon après évaporation.

P2 : Poids du ballon vide.

P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ.

III. Dosage des polyphénols totaux

L'analyse quantitative des polyphénols totaux est réalisée selon la méthode décrite par Vermerius et Nicholson, (2006).

a) Principe

La quantité de polyphénols totaux a été déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupes hydroxyle présents dans l'extrait (Singleton V.L. *et al.*, 1999).

b) Mode opératoire

Dans des tubes à essai, on mélange 2000 µl d'une solution de Na₂CO₃ à 2% fraîchement préparée avec 100 µl de l'extrait brut dilué. Après agitation au vortex on laisse 5 min et on ajoute 100 µl de la solution de Folin, le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à 750 nm contre un blanc en remplaçant l'extrait par le MeOH.

L'acide gallique est utilisé à différentes concentrations pour construire une courbe d'étalonnage dans les mêmes conditions expérimentales. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de poids sec de la plante (mg EAG/g).

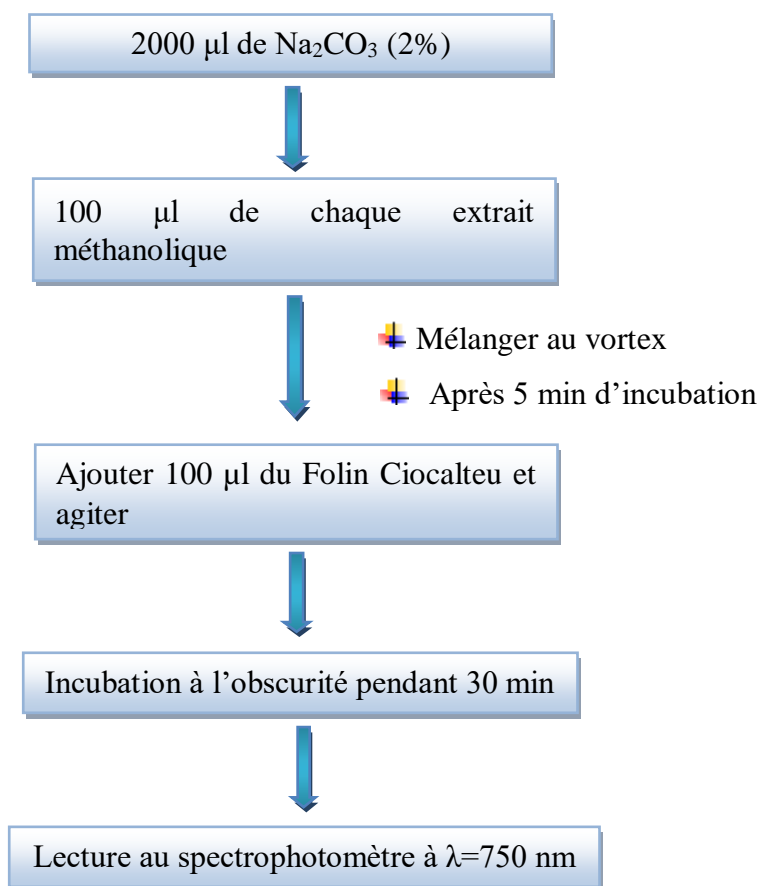


Figure 12 : Protocole du dosage des polyphénols totaux

IV. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par la méthode décrite par **Ardestani et Yazdanparast, 2007**.

a) Principe

Le principe de la méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et la soude pour former des complexes roses qui absorbent à 510 nm (**Barros et al., 2011**).

b) Mode opératoire

Un volume de 1500 µl de MeOH est introduit dans des tubes à essai contenant 500 µl de l'extrait brut dilué, suivis de 150 µl d'une solution de NaNO₂ à 5%. Après 5 min, on ajoute 150 µl d'AlCl₃ à 10%, le tout est laissé pendant 11 min. Ensuite, 500 µl NaOH à 4% sont additionnés au mélange. Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à λ=510 nm, la lecture est effectuée contre un blanc.

La catéchine est préparée à différentes concentrations pour tracer la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de poids sec de la plante (mg EAG/g).

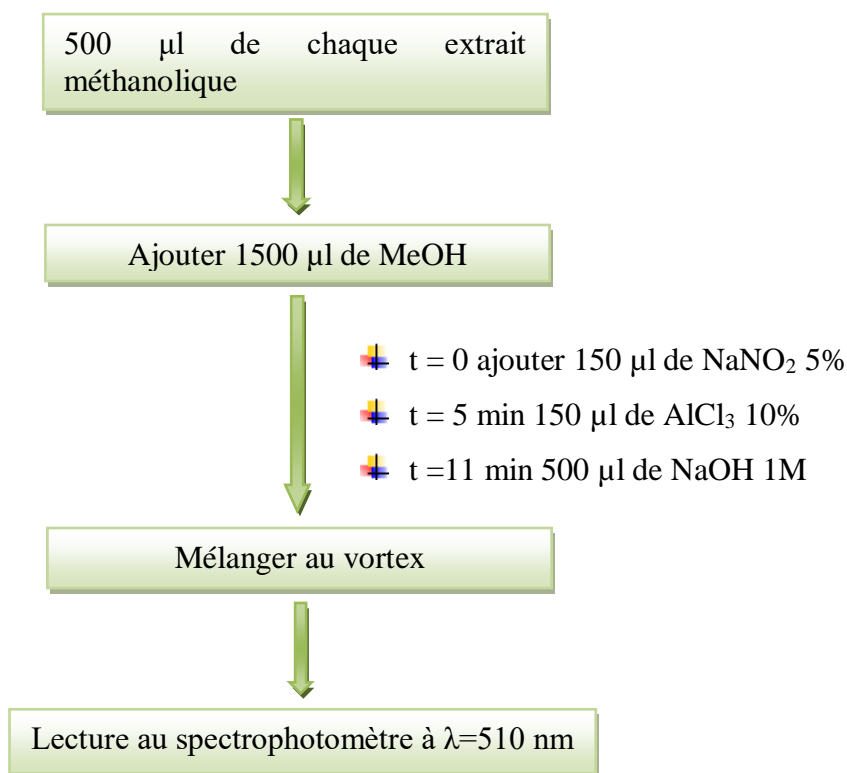


Figure 13 : Protocole du dosage des flavonoïdes

V. Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985)

a) Principe

La technique est une méthode colorimétrique basée sur la dépolymérisation des tanins condensés en milieu acide, qui, lors de la réaction avec la vanilline, les convertit en anthocyanidols rouges facilement détectables à 550 nm (Makkar, 2000 ; Schofield *et al.*, 2001).

b) Mode opératoire

Dans des tubes à essai, on mélange 50 µl de chaque extrait méthanolique dilué et 1500 µl de la solution vanilline/méthanol à 4 %, on agite au vortex. Puis, on ajoute 750 µl de HCl (97%). Le mélange est mis à l'obscurité à température ambiante pendant 20 min. la lecture de la densité optique au spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc.

A partir de la solution mère de catéchine, différentes concentrations sont préparées qui permettent de tracer une courbe. Les résultats sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme de poids sec de la plante (mg EC / g).

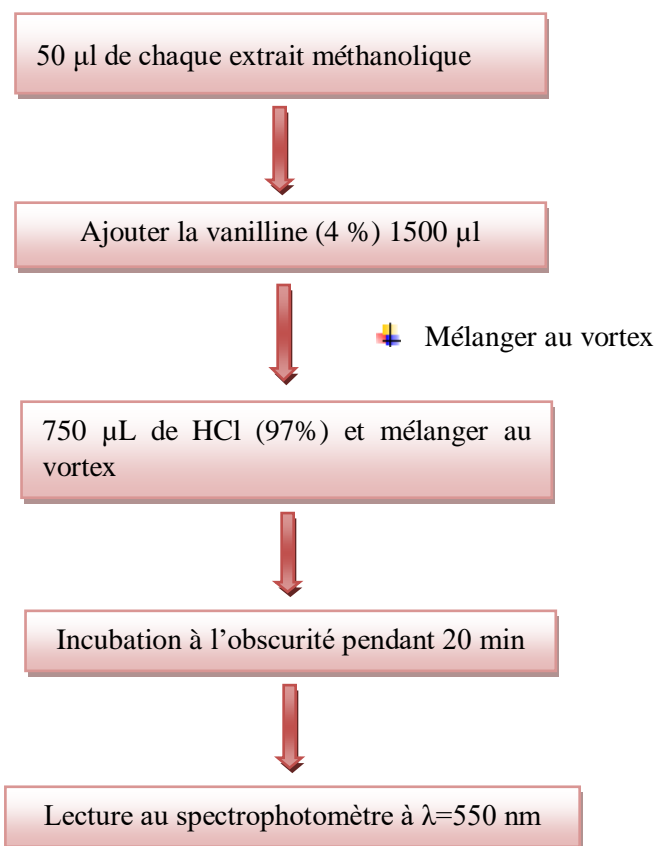


Figure 14 : Protocole du dosage des tanins condensés

VI. Etude de l'activité antioxydante

VI.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2diphényle- 1-picrylhydrazyl)

Le protocole expérimental suivi est celui d'*El-Haci et al. (2009)*.

a) Principe

Le test du DPPH qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de l'IC₅₀ des substances antioxydants contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺. L'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 515 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antioxydante (*Molyneux, 2004*).

b) Mode opératoire

Les tubes à essai, contiennent 50 µl de différentes concentrations des extraits et on mélange avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0.025g/ L) fraîchement préparée. On incube à la température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min et mesurée à 515 nm contre un blanc (**figure 15**).Le contrôle négatif est préparé par le mélange de 50 µl de méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH. L'acide ascorbique est un contrôle positif a été préparé dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante (**Wang et al., 2002**) :

$$I\% = [(Abs C - Abs E) / Abs C] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition

Abs C : Absorbance du contrôle

Abs E : Absorbance d'échantillon

L'IC50 (concentration inhibitrice de 50%) est la concentration du substrat qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH déterminée graphiquement à partir des équations des régressions logarithmiques pour chaque fraction.

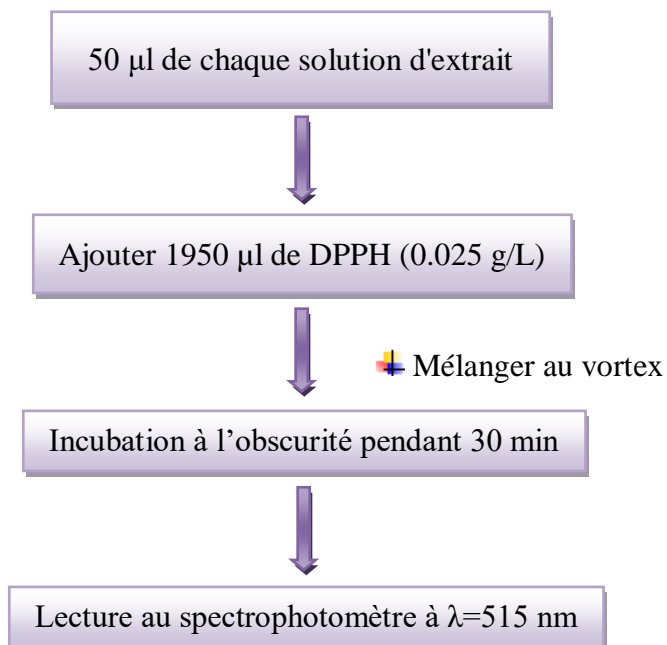


Figure 15: Protocole de test DPPH

VI.2. Pouvoir Réducteur du Fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le protocole expérimental suivi pour étudier le pouvoir réducteur du fer FRAP, est celui d'Oyaizu (1986).

a) Principe

Cette méthode dépend sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à une longueur d'onde $\lambda=700$. La forme réduite de cette complexe donne une couleur verte qui est proportionnelle à l'activité antioxydante (Öztürk *et al.*, 2007).

b) Mode opératoire

Un volume de 100 μl de différentes concentrations des extraits est mélangé avec 250 μl d'une solution tampon phosphate 0.2M (pH 6.6) et 250 μl et d'une solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Ensuite, l'incubation de ce mélange au bain-marie pendant 20 min à 50°C, puis 250 μl de TCA à 10% sont additionnés, les tubes sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 5 min. Après on ajoute 500 μl d'eau distillée à 500 μl du surnageant et 100 μl d'une solution de FeCl_3 à 0.1% sont ajoutés au mélange. L'absorbance est lue à 700 nm contre un blanc. L'acide ascorbique est un contrôle positif a été préparé dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les résultats permettant de calculer la concentration efficace (EC50), c'est la concentration d'extrait qui correspond à une absorbance de 0,5.

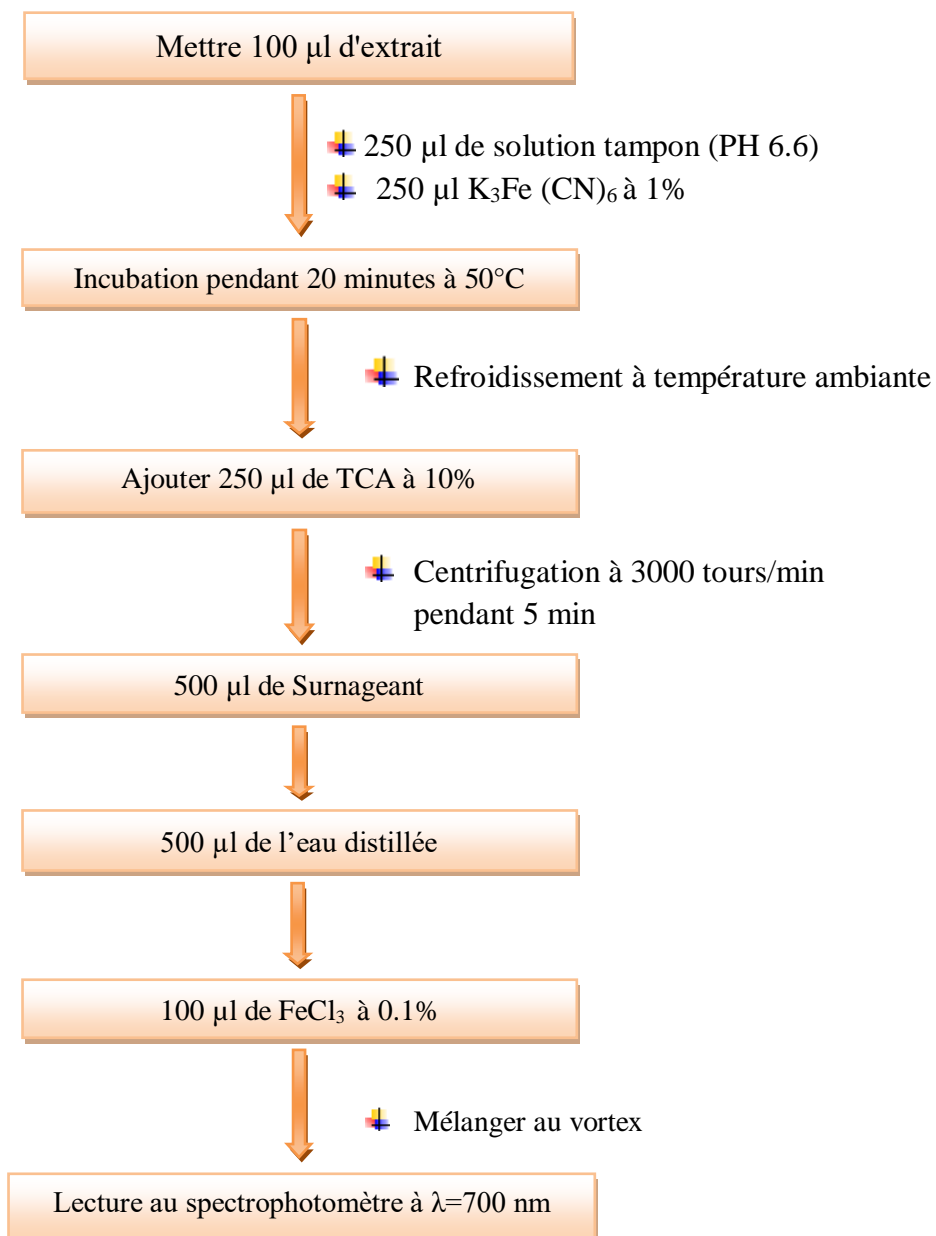


Figure 16: Protocole de test FRAP

✓ **Analyse statistique**

Les résultats du dosage et de l'activité antioxydante obtenue ont été exprimés par la moyenne de 3 répétitions \pm écartype. Les équations des courbes ainsi que les coefficients de détermination (R^2) ont été réalisés par Microsoft Office Excel 2010.

Chapitre 2

Résultats et Discussion

I. Rendements des extraits

Les différents rendements obtenus en extraits bruts méthanoliques et leurs fractions des différentes parties de deux plantes *Hammada schmittiana* et *Aloysia citriodora*, sont illustrés dans la **figure 17**, **figure 18**.

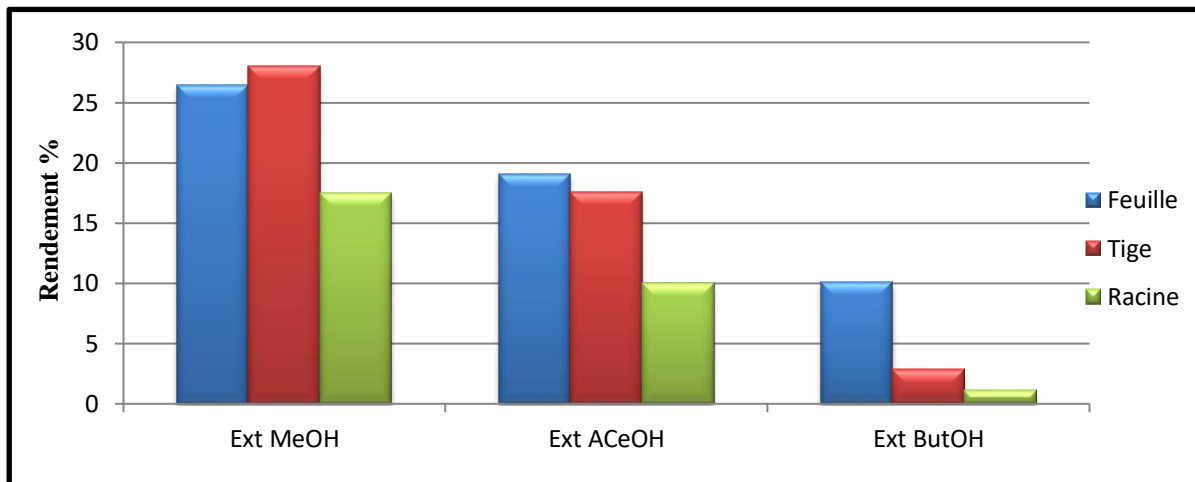


Figure 17: Rendement d'extraction de la plante *Hammada schmittiana*

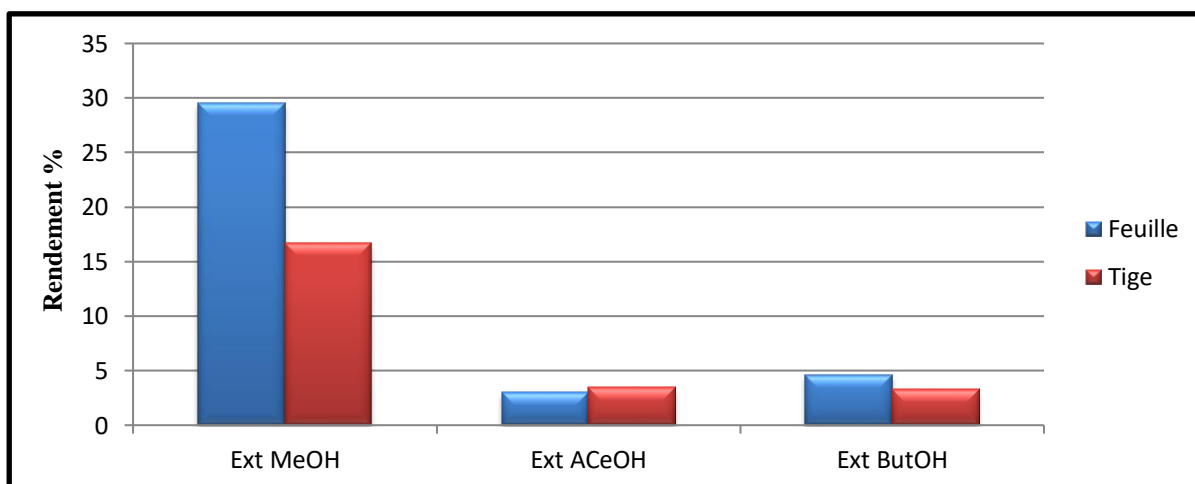


Figure 18: Rendement d'extraction de la plante *Aloysia citriodora*

Pour 3g du matériel végétal sec, les résultats obtenus montrent que les rendements d'extraction varient de 1.12 à 28.06% pour l'espèce *H.schmittiana*, et de 3.02 à 29.51% chez l'espèce *A.citriodora*. Dans cette étude, les meilleurs rendements sont enregistrés dans les extraits bruts méthanoliques, alors que celui des extraits n-butanol sont les plus faibles.

D'après l'étude de **Mohammedi Z., 2013** ont montré que le rendement d'extrait méthanolique et ses différentes fractions d'acétate d'éthyle et n-butanol de la plante *Arthropytum schmittianum*

(*Hammada schmittiana*) qui sont de l'ordre de 13.095%, 3% et 16.88% respectivement. Nos résultats sont supérieurs.

A notre connaissance et selon la bibliographie disponible, Il n'y a pas beaucoup de travail sur l'espèce *Hammada schmittiana*. Pour cela, les résultats de cette étude sont comparés à ceux obtenus dans les plantes du genre *Hammada*.

D'après **Khelaifa, M, hoiudi, A., 2021** qui ont montré que le rendement des extraits méthanoliques de la plante du même genre *Haloxylon scoparium* est les plus élevée (22%) par la méthode d'infusion. Nos résultats sont en accord avec leurs travaux.

Pour la plante *Aloysia citriodora*, l'étude de **Rashid, H.M et al., 2022** révèlent que le pourcentage de rendement obtenu à partir de l'extrait acétate d'éthyle avec 2.3 %. Cette valeur inférieure à nos résultats.

Le rendement d'extraction dépend de l'espèce de la plante étudiée, l'origine géographique, et les facteurs environnementaux tels que la température et la qualité du sol (**Bouchouka, 2016**).

II. Teneurs en composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent le groupe principal qui contribue à l'activités biologiques des plantes parmi eux l'activité antioxydante (**Tachakittirungrod et al., 2007**). Par conséquent, nous avons étudié les teneurs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés de l'extrait brut préparé par spectrophotométrie, en utilisant les équations des régressions linéaires pour les courbes d'étalonnage.

➤ Courbes d'étalonnages

Des solutions standard d'acide gallique et de catéchine préparées à différentes concentrations sont utilisées pour réaliser les courbes d'étalonnages.

➤ Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux

Cette courbe a été construite en utilisant l'acide gallique comme référence. La formule de régression linéaire pour cette courbe est $y = 0.0016x + 0.0019$ avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.9868$).

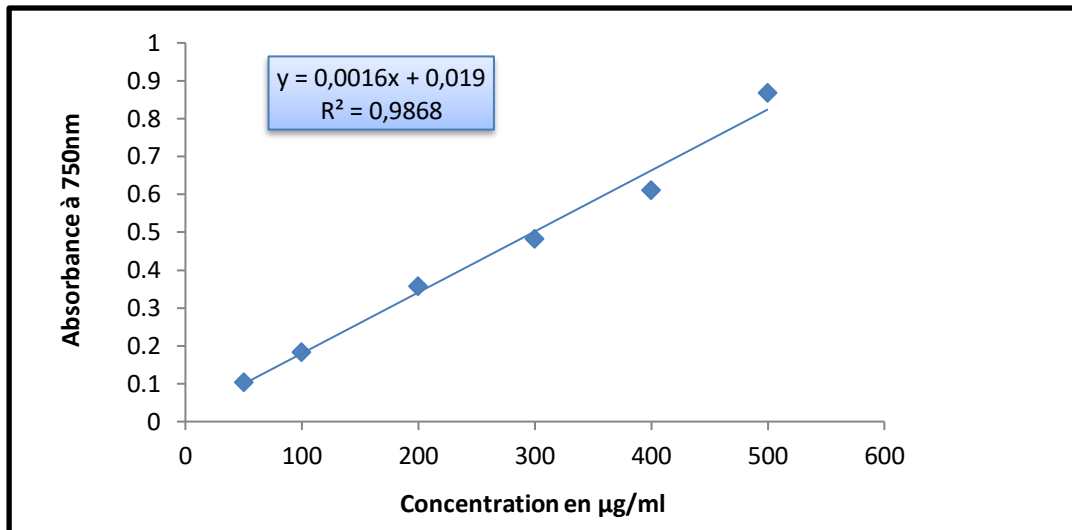


Figure 19: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

➤ **Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes**

La substance de référence utilisée pour créer cette courbe est la catéchine. La formule de régression linéaire pour cette courbe est $y = 0.0023 x + 0.0157$ avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.9946$).

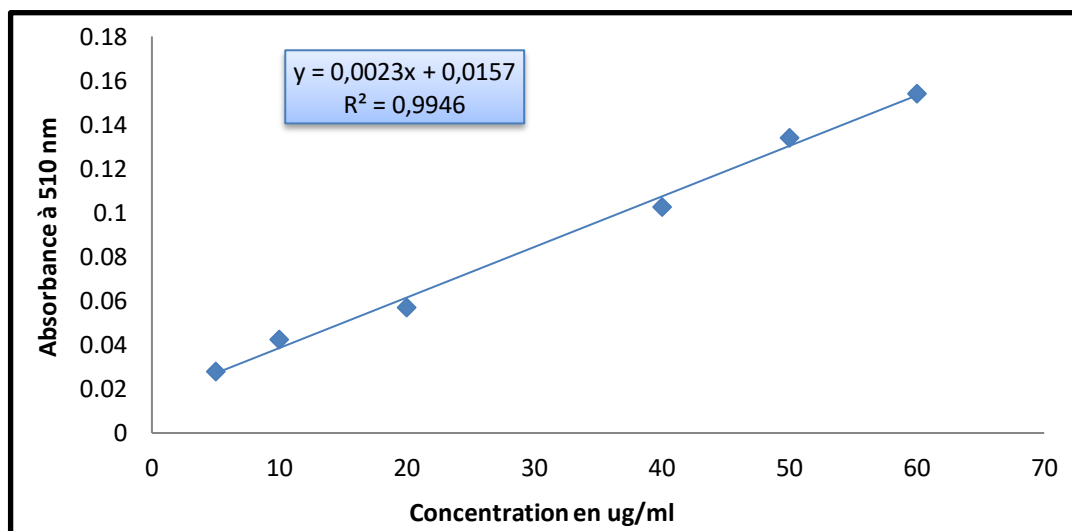


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

➤ **Courbe d'étalonnage pour le dosage des tanins condensés**

La courbe est créée en utilisant la catéchine comme référence. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de $y = 0.0003 x + 0.0173$ avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.9965$).

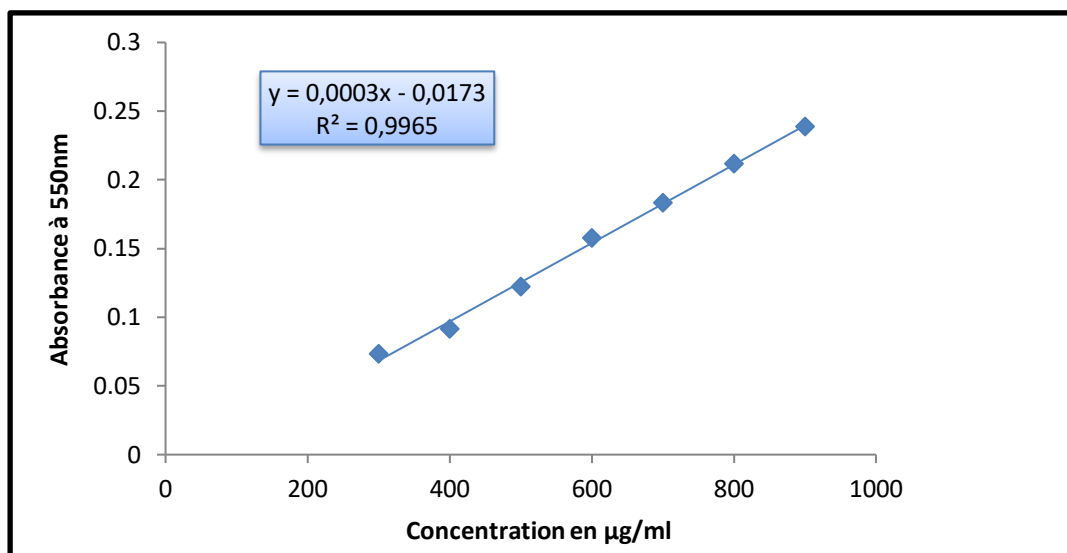


Figure 21: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

II.1. Teneurs en polyphénols totaux

Les résultats de taux en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans nos extraits méthanoliques de deux espèces *Hammada schmittiana* et *Aloysia citriodora* sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les parties d'extrait méthanolique de deux plantes *Hammada schmittiana* et *Aloysia citriodora*

		Polyphénols totaux (mg EAG/ g ES)	Flavonoïdes (mg EC/ g ES)	Tanins condensés (mg EC/ g ES)
<i>Hammada schmittiana</i>	Feuilles	0,279±0.02	0,137±0.01	0,021±0.04
	Tiges	0,925±0.03	0,774±0.01	0,031±0.01
	Racines	6,711±0.01	5,174±0.07	0,826±0.01
<i>Aloysia citriodora</i>	Feuilles	11,158±0.02	3,104±0.06	0,141±0.01
	Tiges	0,585±0.04	0,376±0.01	0,032±0.01

Les résultats du dosage des polyphénols totaux de l'espèce *H.schmittiana* montrent que l'extrait méthanolique des racines est la meilleure teneur avec 6,711±0.01mg EAG/g ES, en

comparaison avec l'extrait des tiges et feuilles de l'ordre de $0,925 \pm 0,03$ mg EAG/g ES et $0,279 \pm 0,02$ mg EAG/g ES, respectivement.

Les résultats obtenus par **Mohammedi Z., 2013** sur *Arthrophytum schmittianum* (*Hammada schmittiana*) pour les extraits bruts méthanolique la teneur des polyphénols totaux de $24,44 \pm 2,13$ mg EAG/g. Ce résultat est relativement supérieur à ceux que nous avons trouvés.

En comparant pour les autres espèces du genre *Hammada*, selon **Khelaifa. M, Hoiudi. A., 2021**, l'extrait méthanolique de la plante *Hammada scoparia* est plus riche en polyphénols ($307,7 \pm 0,040$ mg EAG/ g E). Nos résultats sont plus faibles.

Les résultats montrent que la teneur des polyphénols totaux de $163,16$ mg GAE/g MS d'extrait méthanolique de *Haloxylon scoparium* séché au lyophilisateur. Ces résultats obtenus par **Rached W., 2009** sont supérieurs à nos résultats.

Chez l'espèce *A.citriodora* nous avons observé que les feuilles sont les plus riches en PPT ($11,158 \pm 0,02$ mg EAG/g ES), suivi de celui des tiges avec un teneur $0,585 \pm 0,04$ mg EAG/g ES.

D'après l'étude de **Losagni et al., 2014** ils ont trouvé une teneur en polyphénols égale à $39,33$ mg EAG/g MS. Donc notre extrait méthanolique des parties aériennes d'espèce *A.citriodora* est plus faible en polyphénols que celui de cette étude.

Il paraît que notre extrait méthanolique des feuilles d'*A.citriodora* renferme une teneur en PPT inférieur à celle obtenue par **Ramoul B et Bouchoucha A., 2021**, $114,75$ mg EAG/g MS d'extrait.

II.2. Teneurs en flavonoïdes

Ce dosage révèle que les racines de *H.schmittiana* renferme les plus importantes teneurs en flavonoïdes, avec une valeur de $5,174 \pm 0,07$ mg EC/ g ES. D'autre part, les tiges et les feuilles ont enregistré des teneurs plus faibles; leurs concentrations ont atteint $0,774 \pm 0,01$ mg EC/ g ES et $0,137 \pm 0,01$ mg EC/ g ES, successivement.

L'étude de **Mohammedi Z., 2013** sur *A.schmittianum*, révèle des teneurs en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique de $15,968$ mg EC /g par contre nos résultats sont inférieurs.

Autres travaux sur le même genre *H.scoparia*, les teneurs en flavonoïdes pour les extraits méthanoliques de l'ordre $0,139$ mg EQ/g MS et $2,72$ mg EQ/g, réalisés par **Belhadj T., et al., 2015** et **Boulanouar et al., 2014** respectivement. Ces résultats sont relativement proches de ceux que nous avons obtenus.

Chez l'espèce *A.citriodora*, la teneur la plus élevée en flavonoïdes a été enregistrée dans les feuilles avec un taux $3,104 \pm 0.06$ mg EC/ g ES. Alors que les concentrations les plus faibles ont été celles des tiges ($0,376 \pm 0.01$ mg EC/ g ES).

Comparativement à l'étude menée par **Aziri H. et Djenad F., 2017** qu'ont trouvé des teneurs en flavonoïdes des extraits d'*Aloysia citriodora* par l'infusion, varient de 1,33 à 5,51 mg EQ/ g MS. Ces valeurs sont comparables à nos résultats.

II.3. Teneurs en tanins condensés

La concentration la plus élevée en TC a été mesurée dans l'extrait des racines de *H.schmittiana*, avec un taux de $0,826 \pm 0.01$ mg EC/ g ES, par rapport aux extraits des tiges et feuilles, où nous enregistrons des teneurs de l'ordre de $0,031 \pm 0.01$ mg EC/ g ES et $0,021 \pm 0.04$ mg EC/ g ES, respectivement.

En revanche, le travail mené par (**Guerrah M., et al., 2014**) sur le genre *Hammada*, montre que les teneurs en tanins condensés des parties aériennes de *Haloxylon scoparium* est égale 0.431 mg EGA/g séché à l'étuve. Notre résultat est plus faible.

Chez *A.citriodora*, les feuilles sont les plus riches en TC ($0,141 \pm 0.01$ mg EC/ g ES) en comparaison avec les tiges dont l'extrait méthanolique enregistre la teneur $0,032 \pm 0.01$ mg EC/ g ES.

Selon notre recherche, il n'existe pas de travaux antérieurs sur les tanins condensés et ce qui nous a empêchés de comparer nos résultats avec d'autres travaux.

Ces variabilités sont dues selon la déférence des parties étudiées et l'espèce, qui sont un facteur important et déterminant qui influence la nature des composés phénoliques et leurs quantités ; ainsi que les facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (les conditions de stockage, les facteurs climatiques et la maturité) et du fait l'origine géographique, la période de récolte et selon les méthodes d'extraction appliquées et le séchage (**Podsedek, 2007; Falleh et al., 2008**).

III. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits est réalisée *in vitro* par deux techniques: le DPPH et FRAP.

III.1. Capacité de piégeage du radical libre DPPH

La méthode du DPPH est une méthode largement utilisée du fait de sa rapidité et de sa simplicité dans l'analyse de l'activité antioxydante (**Bozin et al., 2008**).

Les taux d'inhibition ont été calculés pour chacune des concentrations, en se basant sur les densités optiques obtenues à partir des préparations (les différents extraits et l'acide ascorbique).

Les graphes portés dans l'**annexe 1** et l'**annexe 2** la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de différentes fractions appartiennent à la même partie et avec l'antioxydant de référence (l'acide ascorbique).

L'IC₅₀ déterminées par extrapolation de ces courbes est rapportées en µg/ml, les valeurs sont représentées dans le **tableau 5**.

Tableau 5: Les valeurs de l'IC₅₀ des extraits méthanoliques et ses différentes fraction des deux espèces *H.schmittiana* et *A.citriodora*, avec IC₅₀ de l'acide ascorbique; les résultats obtenus, exprimés en µg/ml.

	<i>Hammada schmittiana</i>			<i>Aloysia citriodora</i>	
	Feuille	Tige	Racine	Feuille	Tige
Ext MeOH	2332.26±0.01	644.97±0.01	60.6±0.01	44.93±0.01	224.72±0.01
Ext ACeOH	1341.14±0.01	325.08±0.01	27.48±0.02	17.45±0.01	80.33±0.03
Ext ButOH	191.33±0.01	70.11±0.01	29.34±0.01	7.47±0.01	24.15±0.02
IC 50 de l'acide ascorbique = 5.97±0.01µg/ml avec R² = 0,9122					

D'après les résultats, on remarque que l'IC₅₀ des extraits acétate d'éthyle et n-butanol des racines de *H.schmittiana* de l'ordre de 27.48±0.02 µg/ml et 29.34±0.01 µg/ml successivement, a montré une activité modérée à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 5.97 ± 0.01 µg/ml). Les autres extraits de même plante montrent une activité qui reste très inférieure comparée à celui du contrôle positif.

Comparativement au travail de **Mohammedi Z., 2013**, qu'a trouvé des valeurs d'IC₅₀ des fractions n-butanol et acétate d'éthyle d'*A.schmittianum* de l'ordre de (9.59±0.1931 µg/ml),(10.07±0.1533 µg/ml) respectivement. Ces valeurs sont très importantes par rapport nos résultats.

Selon l'étude de **Guettiani S., 2021**, sur l'espèce *Haloxylon scoparium*, l'extrait de la fraction n-butanol des feuilles présente une valeur d'IC₅₀ = 7 µg/ml. Ce résultat est plus actif par rapport notre travail.

Les résultats obtenus par **Rached W., 2009** sur l'activité anti-radicalaire d'extrait des parties ariennes du même genre de l'espèce *Haloxylon scoparium*, a révélé que $IC_{50} = 54.53 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur est inférieure à celle que nous avons trouvée.

Chez *A.citriodora*, la fraction n-butanol des feuilles semble avoir l'activité antioxydante la plus élevée avec une $IC_{50} = 7.47 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$ proche de celle de l'acide ascorbique. La fraction acétate d'éthyle des feuilles et n-butanol des tiges présentent à leur tour des bons effets inhibiteurs avec des valeurs de l'ordre de $17.45 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$, $24.15 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$, respectivement. Par contre, la plus faible a été exprimée par l'extrait méthanolique des tiges ($IC_{50} = 224.72 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$).

Selon **Ramoul B et Bouchoucha A., 2021** ont obtenu une capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique des feuilles d'*Aloysia citrodora* dont la valeur d' IC_{50} est $31.52 \mu\text{g/ml}$ qui est proche de nos résultats de l'extrait méthanolique des feuilles ($44.93 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$).

III.2. Capacité de réduction du fer FRAP

C'est un test simple, rapide et reproductible. Elle est basée sur la capacité des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} (**Benhammou et al., 2009**).

Dans notre travail, les valeurs obtenus ont permis de tracer des courbes de différentes fractions appartiennent à la même partie de la plante et avec l'acide ascorbique (**Annexe 3 et Annexe 4**).

Le pouvoir réducteur d'un extrait a été évalué par l' EC_{50} . Ce dernier est la concentration efficace qui réduit le fer à une absorbance de 0.5 (**Goudjil et al., 2015 ; Kusmardiyani et al., 2016**).

Les résultats du **tableau 6** montrent des valeurs d' EC_{50} de nos extraits et d'acide ascorbique.

Tableau 6: Les valeurs de l' EC_{50} des extraits méthanoliques et ses différentes fractions des deux espèces *H.schmittiana* et *A.citriodora* avec IC_{50} de l'acide ascorbique; les résultats obtenus, exprimés en $\mu\text{g/ml}$.

	<i>Hammada schmittiana</i>			<i>Aloysia citriodora</i>	
	Feuille	Tige	Racine	Feuille	Tige
Ext MeOH	965 ± 0.02	600 ± 0.03	95 ± 0.06	53 ± 0.03	287 ± 0.03
Ext ACeOH	2408 ± 0.01	429 ± 0.04	28 ± 0.02	19 ± 0.03	73 ± 0.04
Ext ButOH	644 ± 0.03	177 ± 0.03	34 ± 0.01	7 ± 0.09	8 ± 0.02
EC 50 de l'acide ascorbique = $4.4 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ avec $R^2 = 0,9996$					

La capacité à réduire le fer des parties aériennes de la plante *H.schmittiana* est largement inférieur dans différents extraits (extrait méthanolique, acétate d'éthyle et n-butanol) par rapport à l'acide ascorbique ($EC_{50} = 4.4 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$). Alors que dans la partie racinaire présente un pouvoir réducteur moyen dans la fraction acétate d'éthyle et n-butanol de l'ordre d' EC_{50} égal à $28 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ et $34 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$, successivement.

En ce que concerne le genre *Hammada*, aucune étude n'a été réalisée sur sa capacité de réduction de fer pour comparer avec nos résultats.

D'autre part, nos résultats sont faibles que ceux obtenus par **Allaoui et al., 2016** sur l'extrait acétate d'éthyle des parties aériennes de l'espèce *Hammada scoparia* de la région de Ghardaïa au Sahara septentrional Algérien, où a été enregistré $EC_{50} = 172.152 \mu\text{g/ml}$.

Chez l'espèce *A.citriodora*, l'extrait n-butanol des feuilles et des tiges possèdent un pouvoir de réduction du fer le plus actif de l'ordre de $7 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$ $8 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$, respectivement. Ces EC_{50} sont comparables à ceux de l'acide ascorbique ($4.4 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$). Alors que, la fraction acétate d'éthyle des feuilles montre aussi une bonne activité; traduite par d' EC_{50} $19 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$. En revanche, l'extrait méthanolique des tiges semble être le moins actif avec l' EC_{50} la plus élevée ($287 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$).

Nos résultats sont plus faible que celui-ci trouvée dans l'étude de **Aziri H. et Djenad F., 2017** sur des extraits d'*Aloysia citriodora* qui enregistrent plus fort pouvoir réducteur de fer qui variant de $0,05 \pm 0,01$ à $0,66 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$.

La différence de pouvoir antioxydant entre les échantillons est due probablement à la variation des espèces de plantes utilisées et à la teneur et la nature de leurs composés phénoliques. Ces résultats sont cohérents avec ceux publiés dans la littérature par plusieurs auteurs selon lesquels l'activité antioxydante potentielle des extraits des plantes médicinales dépend de la teneur en composés phénoliques (**Stagos et al., 2012 ; Amri et al., 2015 ; Guettaf et al., 2016**)

On conclut qu'il y a une forte relation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante. Par conséquent, il est clair que la forte activité enregistrée dans notre extrait est due à la présence des composés phénoliques.

Conclusion

et perspectives

L'utilisation thérapeutique des plantes pour le traitement de maladies est très ancienne. Les plantes médicinales restent toujours une source inépuisable des matières premières disponibles pour l'industrie cosmétique ou pharmaceutique et pour la découverte de nouvelles molécules de futurs médicaments.

Pour cette raison, l'objectif de ce travail était d'évaluer la teneur des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés, qui diffère l'une de l'autre par leurs conditions de séchages, méthodes d'extraction et stockages, ainsi qu'une évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits de *Hammada schmittiana* et d'*Aloysia citriodora*.

La première étape qui consistait à l'extraction des composés phénoliques, nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait et de conclure que les extraits méthanoliques possèdent un rendement élevé dans les deux plants étudiés.

L'étude phytochimique des extraits méthanoliques de deux plantes médicinales étudiées a révélé une meilleure teneur en polyphénols totaux, flavonoïde et tannins condensés de la partie racinaire de *H.schmittiana* de l'ordre de $6,711\pm 0.01$ mg EAG/ g, $5,174\pm 0.07$ mg EC/g et $0,826\pm 0.01$ mg EC/g, respectivement. Tandis que, l'espèce *A.citriodora* ont été enregistrées dans les feuilles avec $11,158\pm 0.02$ mg EAG/g, $3,104\pm 0.06$ mg EC/g et $0,141\pm 0.01$ mg EC/g, successivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés a été réalisée en employant deux méthodes: DPPH et FRAP. Les résultats de *H.schmittiana* présentent une propriété antioxydante modérée dans les fractions acétate d'éthyle ($IC_{50} = 27.48\pm 0.02$ μ g/ml, $EC_{50} = 28\pm 0.02$ μ g/ml) et n-butanol ($IC_{50} = 29.34\pm 0.01$ μ g/ml, $EC_{50} = 34\pm 0.01$ μ g/ml) des racines. Alors que, dans la partie aérienne a été marquée par une faible activité.

Cependant, la verveine (*A.citriodora*) présente le potentiel antioxydant le plus fort, et le meilleur pouvoir réducteur du fer enregistré avec l'extrait n-butanol des feuilles ($IC_{50} = 7.47\pm 0.01$ μ g/m, $EC_{50} = 7\pm 0.09$ μ g/ml), et des tiges ($EC_{50}=8\pm 0.02$ μ g/ml) comparable à celles de l'acide ascorbique.

Nous avons observé une relation entre les composants phénoliques de nos extraits et l'activité antioxydante; cette relation est soutenue par des recherches bibliographiques démontrant les propriétés de donneur de protons par composés phénoliques.

Nous pensons montrer à travers ce travail que les plantes constituent un réservoir très intéressant pour la recherche dans le futur.

Nos perspectives de recherche sont les suivantes :

- Utiliser une autre technique d'extraction avec des solvants différents
- Faire des autres dosages des molécules bioactives: alcaloïdes
- Réaliser d'autres tests d'évaluation d'activité antioxydante: chélateur de fer...
- Étudie autres activités biologiques: antibactérienne, antifongique

Références

bibliographiques

A

- A.P.S (Algérie Presse Service), 2015 - Plantes aromatiques et médicinales en Algérie: un marché potentiel non structuré.
- Abderrazak M. et Joël R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
- Abuhamdah R, Mohammed A. 2014. Chemical, molecular pharmacology and neuroprotective properties of the essential oil derived from *Aloysia citrodora* Palau: Durham University.
- Adjimani, J.P., Asare, P., (2015). Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicology Reports*, 2, 721-728.
- Akroum, S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels (Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine).
- Allaoui L M., Cheriti A.k., Chebouat E., Dadamoussa B., and Gherraf., N.E, 2016 . Comparative study of the antioxidant activity and phenols and flavonoids contents of the ethyl acetate extracts from two saharan CHENOPODACEA: *Haloxylon scoparium* AND *Traganum nudatum*; *Algerian journal of arid environment*:6(1) 71-79.
- Amri O, Elguiche R, Tahrouch S, Zekhnini A, & Hatimi A (2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 7: 672-678
- Anisio Francisco SOARS. Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes: adiponectine et prostaglandines (2005). thèse doctorat.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on *in vitro* protein glycoxydation, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2402-2411.
- Argyropoulou C, Daferera D, Tarantilis PA, et al (2007) Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (*Verbenaceae*) at two developmental stages. *Biochem Syst Ecol* 35:831–7.
- Atawodi S. E. (2005). Antioxidant potential of African plants. *African J. of Biotec.* 4 (2): 128-133.
- Attou A., (2012). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis* (*Fidjel*) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. p: 47.
- Arousseau B (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquence sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leur production, *Animal product*, 15: 67-82.

- Avissar N., Whitin J.C., and Allen P.Z. (1989). Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* 2: 15850-15855.
- Ayad. R. Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : *Zygophyllum Cornutum (ZYGOPHYLLACEAE)*. Mémoire de magister; Université Mentouri de Constantine; 2008.
- Aziri, H., Djenad F., 2017. Etude comparative de la composition phénolique et de l'activité antioxydante de quelques infusions (Tisane et thé). Mémoire de Master Académique en Sciences Biologiques, université Université A. MIRA – Bejaia, 36p.

B

- Bakchiche B, Gherib A, Smail A, Custódia Gago, M. Grac,a Miguel; Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils; *Industrial Crops and Products* 46, 85–96 (2013).
- Ballasundram N, Sundram K, Samman S (2007). Phenolic compounds in plants and agricultural products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*. 99 : 191-203.
- Barros, L., Cabrita, L., Boas, M.V., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R. (2011). Chemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidant activity of wild plants. *Food Chemistry*, 127: 1600-1608.
- Baudin B (2006). Oxidative stress and cardiovascular pathology. *Medecine thérapeutique cardio-logie*, 2: 43-52.
- Bekkara, F., Jay, M., Viricel, M.R. (1998). Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cv's differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudation, *Journal Plant and Soil*, 203, 27-36.
- Bellakhdar J, El Idrissi A, Canigual S, (1994) Composition of lemon verbena (*Aloysia triphylla* [L'Hérit.] Britton) oil of Moroccan Origin. *J Essent Oil Res* 6:523–6.
- Belhadj T S., Hadj-Mahammed M., and Yousfi M. 2015. Study of the antioxidant activity of phenolic extracts of *A. halimus* L and *Haloxylon scoparium* Pomel northern Sahara. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(11):258-264.
- Belmimoun A. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales. Thèse de doctorat. Université Mustapha Stambouli- Mascara 2016 : 143p.

- Benhammou, N., AtikBekkara, F., KadifkovaPanovska, T. (2009). Antioxidant activity Of methanolicextracts and some bioactive compounds of *Atriplexhalimus*. C. R. Chimie, 12 :1259–1266
- Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, 13 (2): 184-196.
- Benzeggouta, N. (2015). Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées (Thèse de doctorat, Université des frères Mentouri, Constantine).
- Benzie I.F.F., et Strain J.J., (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP. Anal biochem 239:70-76.
- Bessaoud, S. (2015). Evaluation de quelques paramètres de la balance oxydants/antioxydants chez des rats diabétiques recevant de la quercétine.
- Biozot.N;Charpentier.J.P. (2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés Phénoliques des organes d'un arbre .le cahier des techniques de l'Inra .p-p-79-82.
- Botsch (1964).NovostiSistVysshRast. 1: 362.
- Boucherit, H., Benabdeli, K. &Benaradj, A. 2017. Caractérisation floristique de la steppe a *Hammadascoparia* dans l'atlas Saharien oranais (Naama-Algérie). Revue Agrobiologia 7(2): 483-490. Boulos, L. 1999. La flore de l'Egypte. I. Al HadaraPublishing, Le Caire, Egypte.
- Bouchouka E., 2016. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes saharienne. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba. 126p.
- Bougandoura N, Bendimerad N. 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraitsaqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthassp. Nepeta (L) BriqRev«Nature&Technologie» B-Sciences Agronomiques et Biologiques 9:14-19.*
- Boussaid I., Boulaiche S., Bouzenir D.2014.diabète de type 2 et phytothérapie : plantes *hypoglycémiantes* utilisées par des sujet diabétique. Mémoire de Diplôme de Master, Université Constantine1, 101p.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., etIgic, R. (2008). Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum L., Alliaceae*), Food Chemistry, 111 : (2008) P. 925-929
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran,A., Igic, R. (2008). Phenolics as antioxidant singlarlic(*AlliumsativumL.,Alliaceae*),FoodChemistry,
- Bruneton, J. (2009). "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales." Paris. Lavoisier. 1269 p.

- Bruneton J (2016) Pharmacognosie–phytochimie–plantes médicinales, 5e éd. Tech & Doc/Lavoisier, Paris, pp 848–9.

C

- Cai, Y.Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q. & Corke, H. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life sciences*, 78 (25): 2872-2888.
- Carnat A, Fraisse D et Lamaison J, 1999. The aromatic and polyphenolic composition of *lemon verbena* tea. *Fitoterapia*, 70(1): 44-49.
- Catier O., Roux D. (2007) Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3ème édition. WOLTERS KLUWER : 13.
- Chaboussou AD, Chabauty A. 2013. Modes opératoires des extraits végétaux en viticulture biologique. *L'Agriculture Biologique en pays de la Loire*:1-4.
- Chabrier J., plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, thèse de doctorat, université Henri Poincaré - Nancy 1, France, 2010.
- Chapman RE. 2009. Terpene chemistry of *Lemon verbena* (*Aloysiacitriodora*): natural variation and response to ecological and agricultural variables: Ph. D. Thesis, University of Georgia, Athens, GA.
- Chemar K., 2016 – Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoire de Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11.
- Cherubini A, et al. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. (2005). 39: 841-852.
- Cheurfa, M., Allem, R., Reducing, F., Power, A., (2016). Evaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Herit.) d'Algérie *in vitro*. 181-187
- Cronquist A., 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. 1262 P.

D

- Dacosta Y (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta. Paris: 317.
- Dobignard A., 2010. et Chatelain C., 2013 Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord (4 vol.), Genève, C.J.B.G.
- Dutertre J., 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales. 120p.

E

- El-Haci, I.A., Didi, A., AtikBekkara, F., Gherib, M. (2009). *In vitro* antioxidant activity and total phenolic contents in methanol crude extracts from the Algerian medicinal plant *Limoniastrumfeei*, Scientific Study & Research, 10, 329-336.

F

- Faivre Cl., Lejeune L., Staub H., Goetz P. (2006). *Zingiber officinale Roscoe*, Phytothérapie, 2: 99-102p.
- Falleh H, Ksouri R., Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus L. organs*, and their biological activities. *Comptes rendus biologies*.331 (5) : 372-379.
- Favier Alin., (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*,(8): 108.
- Feknous S, Saidi F, Said M.R (2014). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis L.*). Revue « Nature & Technologie ». A- Sciences fondamentales et Engineering, n° 11/Juin 2014. Pages 07 à 13.
- Ferheen S., Ahmed E., Afza N., Malik A., Shah M. R., Nawaz S.A., Iqbal C.M. Haloxylines A and B, antifungal and cholinesterase inhibiting piperidine alkaloids from *Haloxylonsalicornicum*. *Chemicalpharmaceutical bulletin* 2005, 53(5), 570-572.
- Figueiredo RO, Stefanini MB, Ming LC, Marques M et Facanali R, 2002. Essential Oil Composition of *Aloysiatriphylla* (L'Herit) Britton Leaves Cultivated in Botucatu, São Paulo, Brazil, page 131-134.
- Floegel A., Kim D-O., Chung S-J, SKoo S I, Chun O K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24. 1043–1048.
- Frutos P., Hervás G., Giráldez G.F. et Mantecón A.R. (2004). Tannins and ruminant Nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2 (2): 191-202.

G

- Gayet, C. (2013). Guide de poche de phytothérapie. Paris: Quotidien malin.
- Gbenou JD, Ahounou JF, Ladouni P, Agbodjogbe WKDD, Tossou R, Dansou P, Moudachirou M. 2011. Propriétés anti-inflammatoires des extraits aqueux de *Sterculiasetigera Delile* et du mélange *Aframomum melegueta K. Schum* – *Citrus aurantifolia Christmet Panzer*. *Int.J.Biol.Chem.Sci.*, 5(2): 634-64.

- Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescencemedhod. *AAPS PharmSci.* 5 (2):5p.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, M. C., Aberkane, H., Bousselsela, S. M., & OuedMoukhtar. (2015). Polyph énoles totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti de Noé*. *Phytothérapie*, 13, 118 – 129.
- Ghédira K, Goetz P. 2017. *Verveine odorante, Aloysiacitriodora Paláu (Lippiacitriodora)*. *Phytothérapie* 15(1):33-37.
- Goudjil MB, Ladjel S, Bencheikh S, Zighmi S, Hamada D (2015). Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves and *Pharmaceutical Research.* 7(1) :379-385.
- Guerrah, Mou nira., Segueni ,Meriem ,2015. Contribution à l'étude biochimique de quelques plantes médicinales dans le Sahara septentrional algérien. Mémoire de Master Académique en Sciences Biologiques, Université Echahid Hamma Lakhdard'El-oued, 66p.
- Guettaf S, Abidli N, Kariche S, Bellebcir L, & Bouriche H (2016). Screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharæ* (Coss & Dur). *Phytochemical pharmacia letter* 8: 50-60.
- Guettiani, Safa Elyakine, 2021. Activités antioxydant de plante médicinale (*Haloxylon scoparium* pomel). Mémoire de Master Académique en Sciences Biologiques, université Université Mohamed Khider de Biskra, 35p.

H

- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD (2008) *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.* International Centre for Science and High Technology.
- Harborne JB, Williams CA (2000). Advances in flavonoid research since. *Phytochemistry.* 55 (6) : 481-504.
- Harborne JB. *Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology.* New series (8):1980; 329-402.
- Harbourne N., Marete E., Jacquier J.C. et O'riordan D., 2009- Effect of drying methods on the phenolic constituents of *meadowsweet (Filipendulaulmaria)* and *willow (Salix alba)*. *LWT- Food Science and Technology*, Vol. 42: 1468-1473.
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F, 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. 1: 3 – 6.

I

- I.Fecka, A. Kowalczyk, W. Cisowski. *J. Planar Chromatogr* ; 2004 ; p17- 22.

- Iqbal S., Bhangar M., Anwar F. (2005). Antioxydant proprieties and component of some commercially available varieties of ricebran in Pakistan. *FoodChemistry*93: 265-272.

J

- Jacob, L. (2007). L'insuffisance rénale aiguë. EditionSpringer, p 88.
- Julkunen-Titto.R. Phenolic constituents in the leaves of northemwiliows methods for the analysis of certain phenolics" *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 1985, Vol. (33), page: 213.

K

- Karaali A., Boyacioălu D., Gőnez G. etŐzçe lik B., 2004- Flavonoids in fruit and Vegetables; their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European Commision's the 6th framework programme for research. Istanbul technical University. Turkey. 156-168.
- Khelaifa M., HoiudiA, 2021. Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des principes actifs de la plante médicinale *Hammada Scoparia*.Mémoire de Master Académique en Sciences Biologiques, université *Echahid Hamma* Lakhdar – El-OUED, 62p
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentsAntioxydantesou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
- 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 plante consommées, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
- Kusmardiyani S, Novita G etFidrianny I (2016). Antioxidant activities from various extracts of different parts of *Kelakai (Stenochlaenapalustris)* grown in central Kalimantan– Indonesia. *Asian J Pharm Clin Res*. 2: 215-219.

L

- Lasagni VR, Reides CG, Ferreira SM, Llesuy SF. 2014. The protective effect of *Aloysia triphylla* aqueous extracts against brain lipid-peroxidation. *Food & function* 5(3):557-563.
- Lehmann H. 2013. Le médicament à base de plantes en Europe: statut, enregistrement, contrôles: Université de Strasbourg.
- Lehucher M MP, Lesgards JF, Delubac O, Stocker P, Durand P,&Prost M (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Pressemedicale*, 30: 1076- 1081.

- Lenoir L. 2011. Effet protecteur des polyphénols de la *verveine odorante* dans un modèle d'inflammation colique chez le rat: Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I.
- Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed: Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

M

- Macheix JJ, Fleuriet A et Allemand CJ (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économiques. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, Suisse,p. 4-5
- Magalhães LM. , Segundo MA., Reis S., Lima JL.2008. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. Anal ChimActa.14;613.
- Mahmoudi S., Khali M. et Mahmoudi N. 2013- Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'*artichaut* (*CynarascolumusL.*). Nature & Technologie, Vol. 2: 35-40.
- Makkar, H.P.S. 2000. Quantification of tannins in tree foliage: Working document. In: FAO/IAEA, Vienna.
- Malešev D., Kuntić V. 2007- Investigation of metal-flavonoid chelates and the Determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. Journal of the Serbian chemical society, Vol. 72 (10): 921-939.
- Menat, É. (2006). Les polyphénols de *thé*, du *vin* et du *cacao*. Phytothérapie, 4(1), 40-45.
- Mendiola, J. C. L. (2007). Viana celebra los acontecimientos de lamonarquía. *Cuadernos de etnología y etnografía de Navarra*, 39(82), 67-112.
- Merzougui, I., &Tadj, H. (2012). Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'*Ammoidesverticillata* De la région de Tlemcen (Doctoral dissertation).
- Michel T., 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'*argousier* (*Hippophaëramnoides*). Thèse pour l'obtention du grade de: Docteur de l'université d'Orléans. Discipline: Chimie Analytique – Phytochimie. France. 181-182p.
- Mohammedi Z., 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie.Thèse Doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. p170.
- Mokrini, R. (2006). Mécanismes radicalaires dans la dégradation de composés Phénoliques en chimie sous rayonnement : Radiolyse gamma des chalcones et de l'acidefêrulique en solutions alcooliques. Chapitre III. Thèse de doctorat. Université de Limoges.1-106.

- Molyneux, P. (2004) The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26, 211-219.

N

- Naczki, M. & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis- a review. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41: 1523-1542.
- Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R. et Krishna D.R., 2001- Bioflavonoids, Classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology. Vol. 33 : 2-16.
- Naumann, H., Sepela, R., Rezaire, A., Masih, S.E., Zeller, W.E., Reinhardt, L.A., Robe, J.T., Sullivan, M.L. & Hagerman, A. (2018). Relationships between Structures of Condensed Tannins from Texas Legumes and Methane Production During *in vitro* Rumen Digestion. Molecules, 23, 1-16.

O

- O.M.S, (2002). Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.
- Okuda T, Ito H. 2011. Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants- Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. Molecules 16: 2191-2217
- Oldham K. M. and Bowen P.E. (1998). Oxidative stress in care: is antioxidant supplementation beneficial. J. Am. Diet. Assoc., 98:1001-1008
- Ombito JO, Salano EN, Yegon PK, et al (2014) A review on the chemistry of some species of genus *Lippia* (*Verbenaceae* family). J SciInnov Res 3:460–6
- Oyaizu M., 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jap. J. Nutr. 44: 307-315.
- Ozenda P. 1991. Flore et végétation du sahara. 2ème édition. CNRS. Paris, 344p.
- Öztürk M., Aydogmus-Oztürk F., Emin Duru M., Topçu G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of *Rhubarb* (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. Food chemistry 103: 623-630.

P

- Pandey KB et Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2009; 2 (5) : 270 –278.

- Panja, P. (2017). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion in Food Science*. Doi: 10.1016/j.cofs.2017.11.012.
- Pascual ME., Siowing K., Carretero E., Sanchez Mata D., Villar A. (2001): *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J.Ethnopharmacol* 76:201-214.
- Perrot, E. and R. Paris (1974). "Les plantes médicinales." Presses universitaires de France. 244 p.
- Pierre M., Lis .M (2007) *Secrets des plantes*. Editions *Artemis*, Paris 1: 463. T.J.Mabry, K.R.Markham, and M.B.Thomas. « The systematic identification of flavonoids ». Springer-Verlag New York; Heidelberg; 1970; p254.
- Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 16 :233-239
- Ping Xu Dong, Ya Li, Xiao Meng, Tong Zhou, Yue Zhou, Jie Zheng, Jiao-Jiao Zhang et Hua-Bin Li., (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources, *Journal of International Journal of Molecular Sciences*, 18(1): 96.
- Podsedek A.(2007). Natural antioxydants and antioxidant capacity of *Brassica vegetables* :A review .*LTW Food science and technology*.40 :1-11.
- Poston L, et Raijmakers M-T-M. Trophoblast Oxidative Stress, Antioxidants and Pregnancy Outcome. (2004). 18: 72-78.
- Prior RL., Wu X., Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53(10): 4290-4302.
- Proestos C., Lytoudi k., Mavromelanidou OK., Zoumpoulakis P., Sinanoglou VJ. Antioxidant Capacity of Selected Plant Extracts and Their Essential Oils. *Antioxidants* 2013; 2: (1) 11-22.

Q

- Quezel P. et Santa S. (1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome 2. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 603 p.

R

- Rached W., 2009- Évaluation du potentiel antioxydant des plantes médicinales et analyse phytochimique. Université d'Oran Es-Sénia. p173.
- Rashid, H.M.; Mahmud, A.I.; Afifi, F.U.; Talib, W.H. Antioxidant and Antiproliferation Activities of Lemon Verbena (*Aloysia citrodora*): An *in vitro* and *in vivo* Study. *Plants* 2022, 11, 785.

- Ramoul B, Bouchoucha A, 2021. Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire de l'espèce : *Aloysia citrodora* L. Mémoire de Master Académique en Sciences Biologiques, universités Frères Mentouri Constantine, 57p
- Raven Evert et Eichorn. (2000). Biologie végétale. 6ème édition. De Boeck université. Paris. p 32.
- Rösch, D., Krumbein, A. and Kroh, L.W. (2004) Antioxidant gallocatechins, dimeric and trimeric proanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) pomace. European Food Research and Technology, 219(6), 605-613.
- Roussel, A.M. (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir ? Journal of Cahiers de nutrition et de diététique, 44: 230-236.

S

- Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. Int. Journal of Food Science Tech. 8 : 121-137.
- Schofield, P.; Mbugua, D.M.; Pell, A.N) 2001(.Analysis of condensed tannins: a review. Animal Feed Science and Technology, v.91, p.21-40.
- Shinde A., Ganu J., Naik P. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A review/Journal of Dental & Allied Sciences.2012; 1(2):63-66.
- Singleton V.L, R.Orthofer, R.M.Lamuella-Raventos, " Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent " Methods Enzymol., 1999, Vol. (299), page: 152.
- Skaltsa H, Shammass G (1988) Flavonoids from *Lippiacitriodora*.Planta Med 54:465.
- Sofowora A. (2010) Plante medicinales et medicines traditionnelle d'Afrique. 1^{ère} édition. KARTHALA : 22.
- Sohal R. S., Mockett R.J. and Orr W.C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free Radical Biology&Medicine, 33, 575-586.
- Stahlhut, S.G., Siedler, S., Malla, S., Harrison, S.J., Maury, J., Neves, A.R. & Forster, J. (2015). Assembly of a novel biosynthetic pathway for production of the plant flavonoid fisetin in *Escherichia coli*. Métaboliques engineering, 31: 84-93.
- Stagos D, Portesis N, Spanou C, Mossialos D, Aligiannis N, & Chaita E (2012).Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. Food and chemical toxicology, 50: 4115-4124.

T

- Tachakittirungrod, S., Ikegami, F. et Okonogi, S. (2007). Antioxidant Active Principles Isolated from *Psidium guajava* Grown in Thailand. *Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm.)* 75: 179-193.

U

- Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E. 2000. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.* 33: 55-64.

V

- Vermerris, W., Nicholson, R. (2006). Isolation and Identification of Phenolic Compounds, *Phenolic Compound Biochemistry*, Published by Springer, Dordrecht, 62-191.
- Vincent AM, Russell JW, Low P & Feldman EL (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25: 612-628.

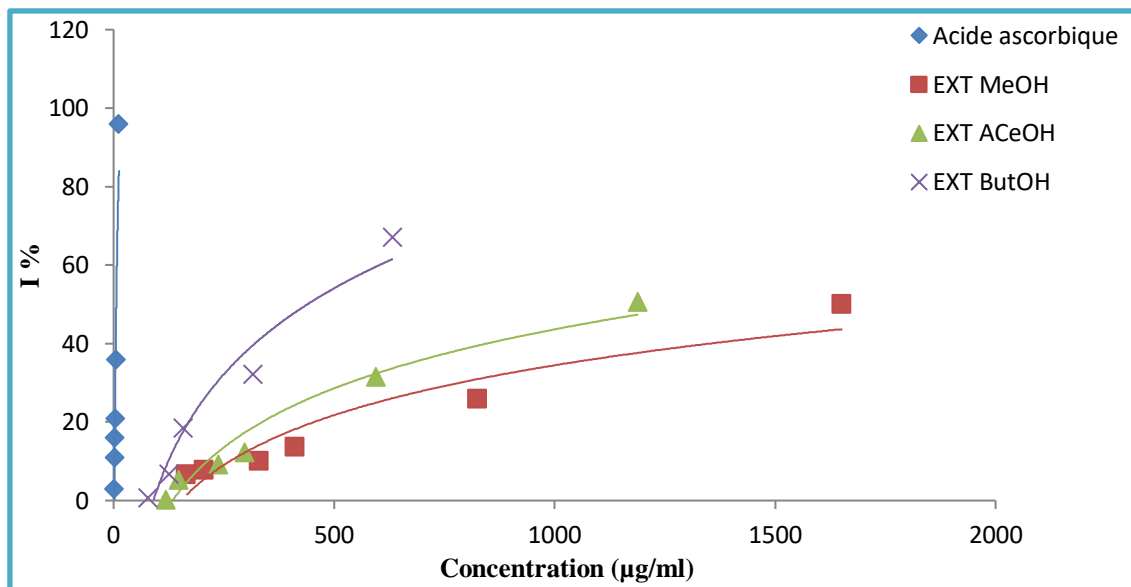
W

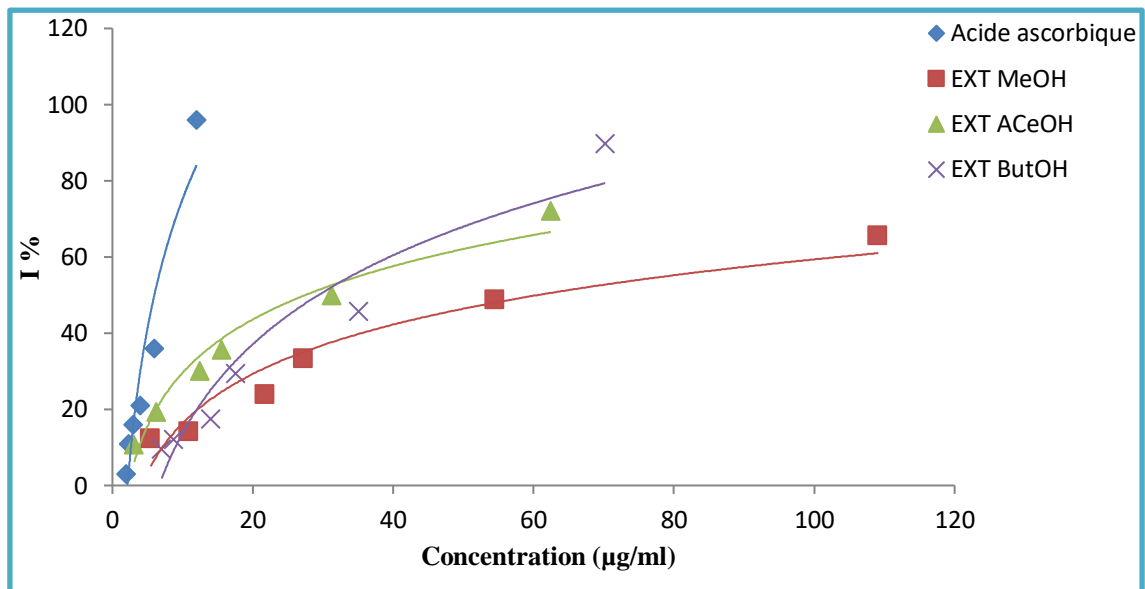
- Wang s. y., Chen P. F., Chang., S. T. (2005). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves againsts wood decay fungi. *Bioresource Technology*, 96: 813-818.
- Weidinger A & Kozlov AV (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5: 472–84.

Annexes

Annexe 1

Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et ses différentes fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'espèce *Hammada schmittiana*.

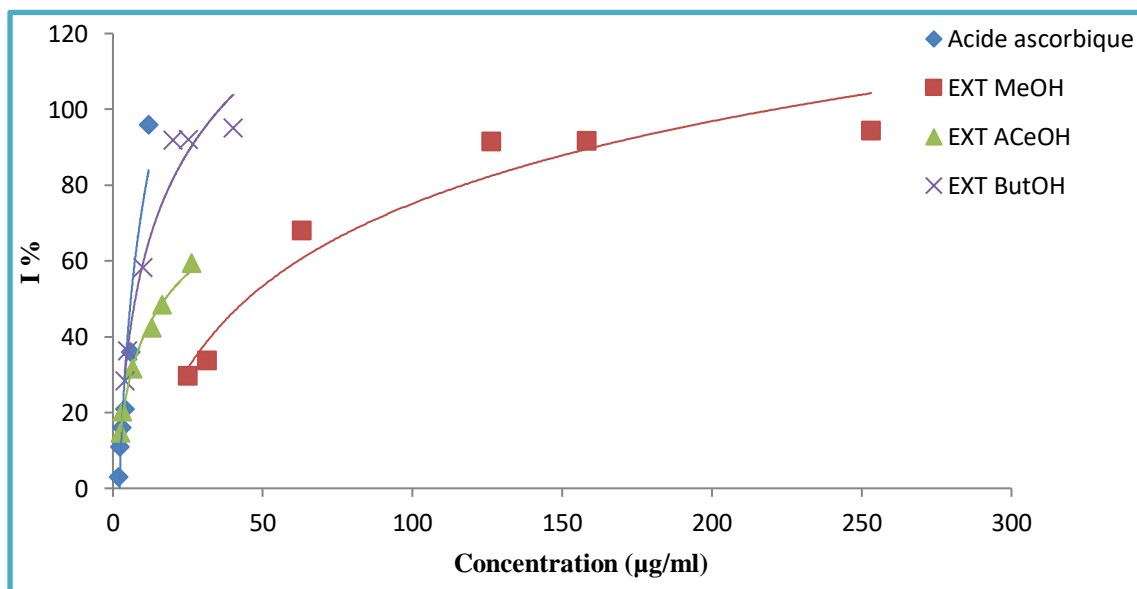




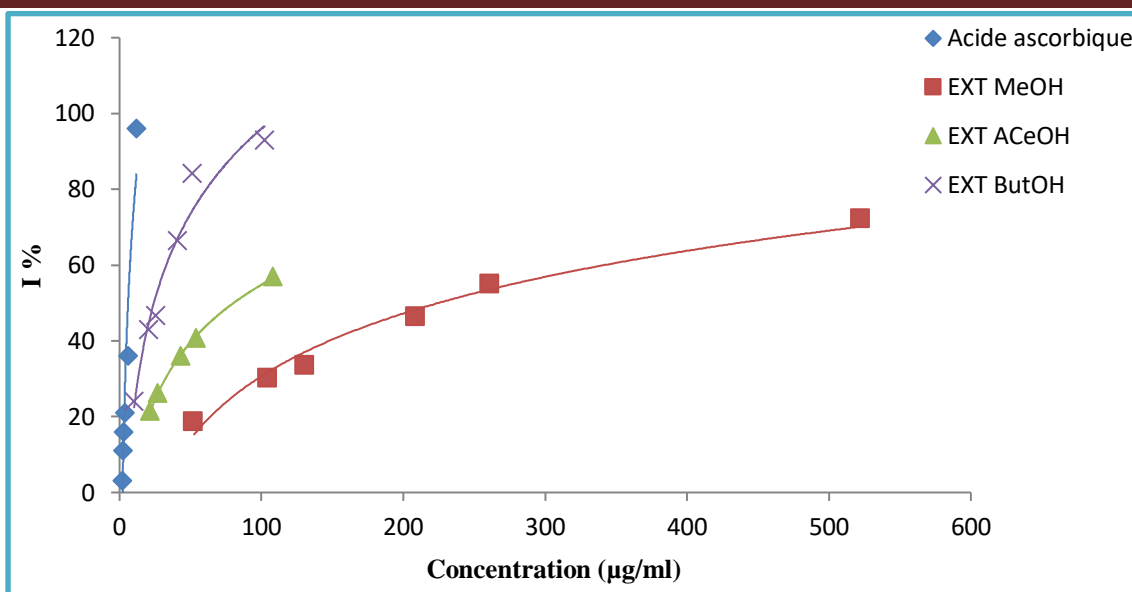
Extraits des racines

Annexe 2

Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et ses différentes fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'espèce *Aloysia citriodora*.



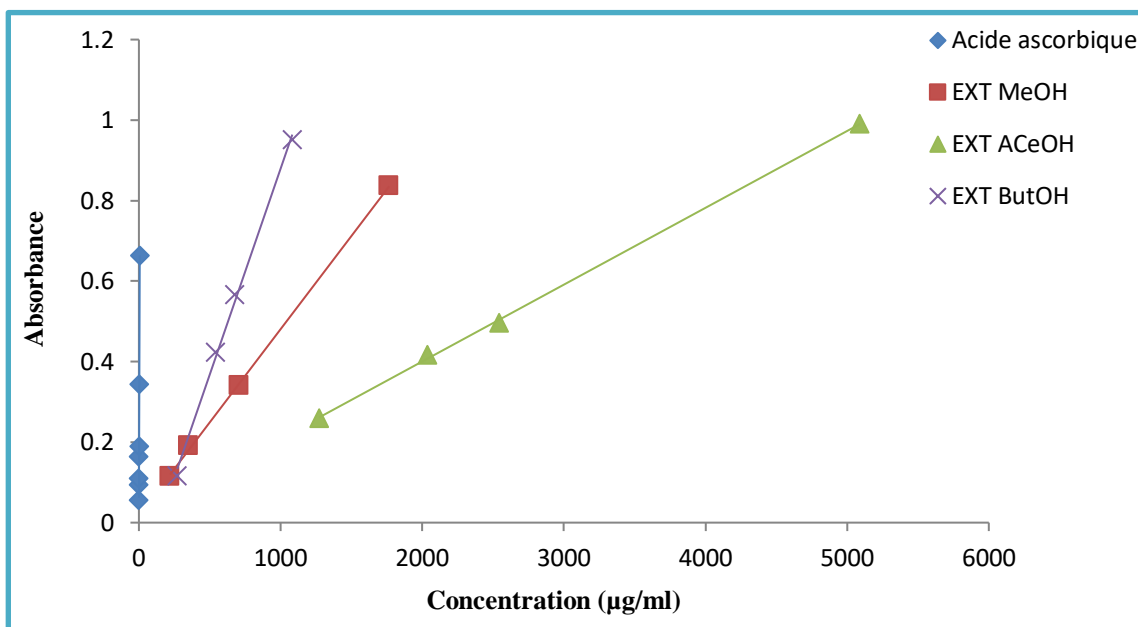
Extraits des feuilles



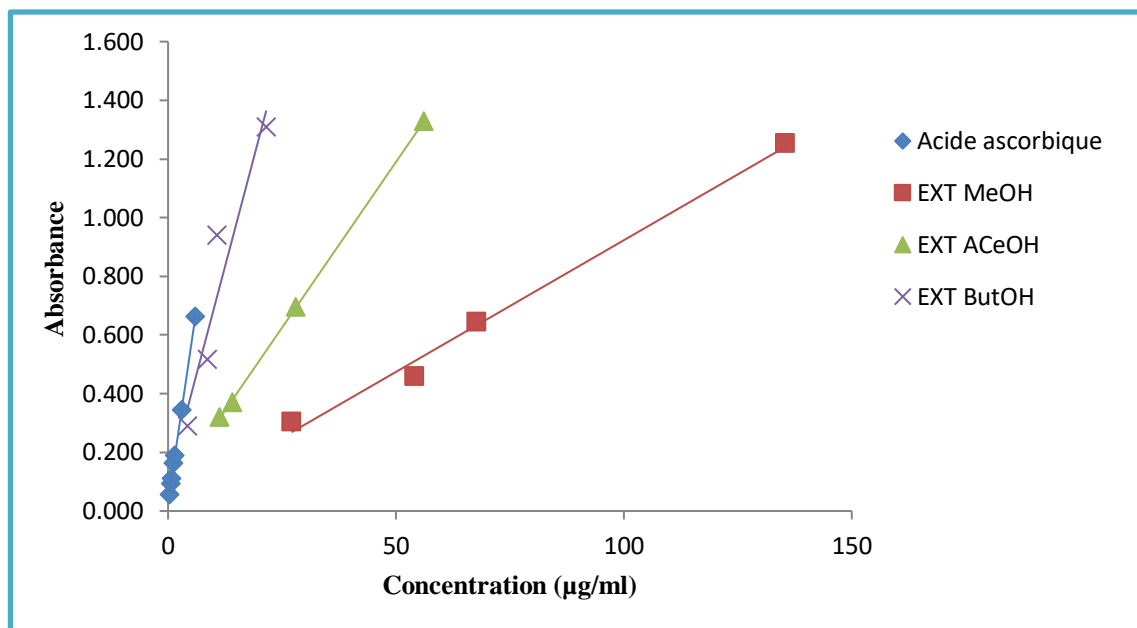
Extraits des tiges

Annexe 3

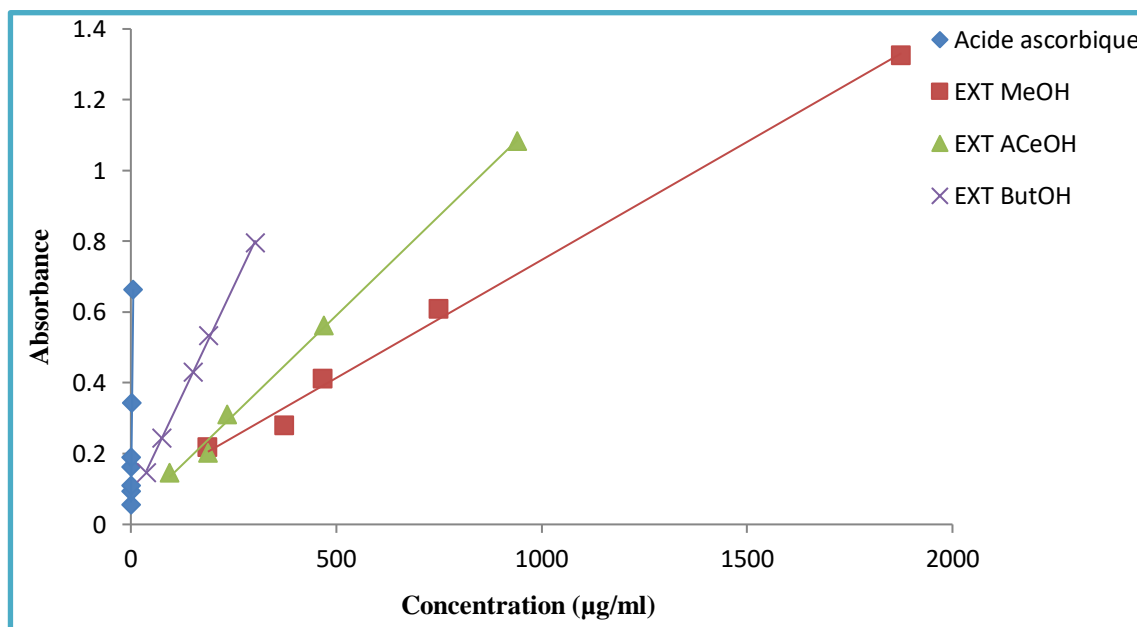
Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et ses différentes fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'espèce *Hammada schmittiana*.



Extraits des feuilles



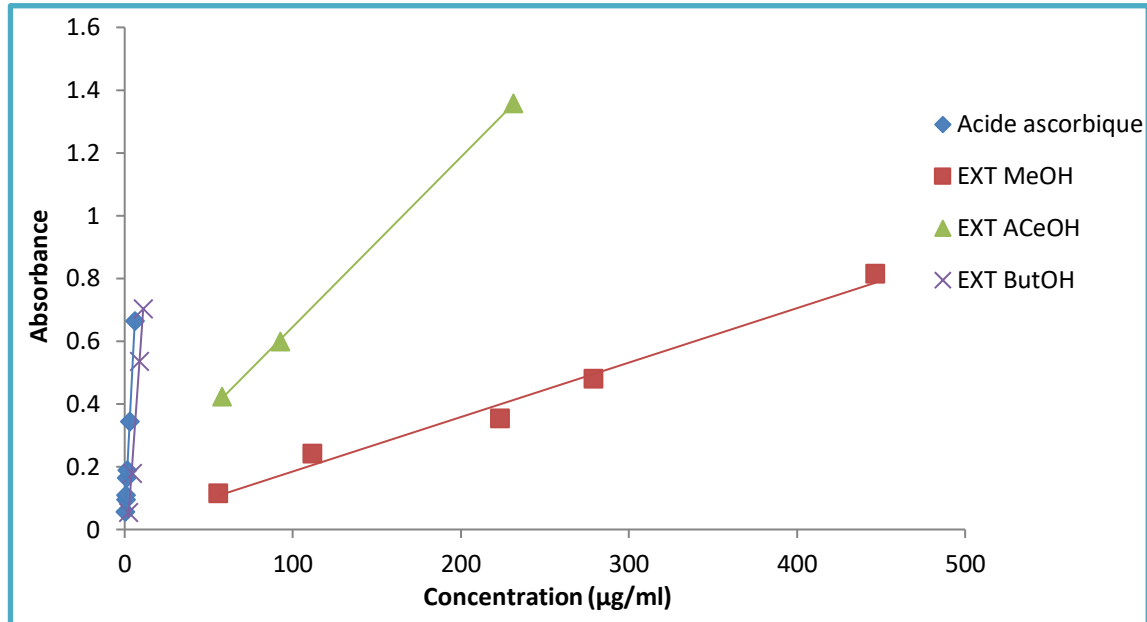
Extrais des tiges



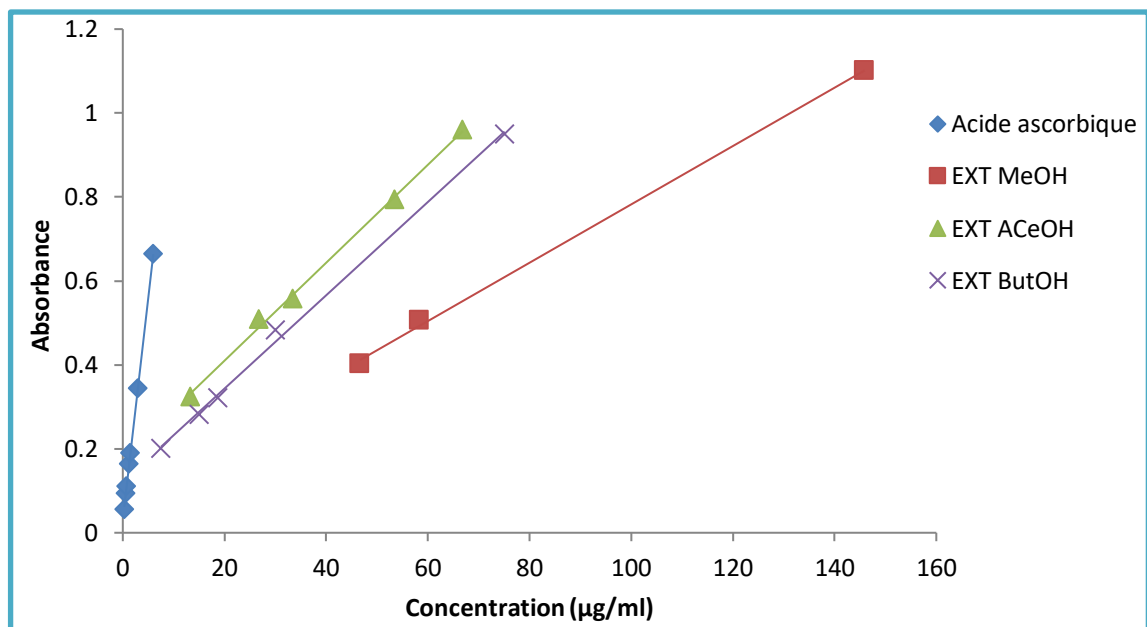
Extrais des racines

Annexe 4

Pouvoir réducteur du fer en fonction des concentrations de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques et ses différentes fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'espèce *Aloysia citriodora*.



Extraits des feuilles



Extraits des tiges