



N° d'ordre :

N° de série :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Etude biologique des extraits phénoliques issus d' *Ammodaucus leucotrichus*

Présenté par :

- ❖ Talaoui Salima
- ❖ Chikha Belgacem Belkis
- ❖ Hamidi Nada Elrayhan

Devant le jury composé de :

Mme TOUMI Ikram

Présidente

M.C.A, Université d'El Oued

Mr TLILI MOHAMMED Laid

Examinateur

M.C.B, Université d'El Oued

M elle RAMDANE Farah

Promotrice

M.C.A, Université d'El Oued

Remerciements

*Nous tiens à remercier en premier lieu **ALLAH**, le tout Puissant de nous avoir donné courage, santé et patience pour achever ce travail*

*Nous tenons à remercier très vivement notre encadreur **M elle RAMDANE Farah** Maitre de conférences à l'Université EChahid Hamma Lakhder d'El -Oued pour avoir acceptée d'encadrer ce travail et pour ses conseils et ses précieuses orientations, ses encouragements, sa patience qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail.*

*Nos sincères et respectueux remerciements vont également à **Mme TOUMI Ikram** Maitre de conférences à l'Université EChahid Hamma Lakhder d'El -Oued qui nous a honoré en acceptant d'être président de ce jury et pour ses précieux conseils.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr. TLILI MOHAMMED Laid** Maitre conférences à l'Université EChahid Hamma Lakhder d'El -Oued de nous avoir accordé le privilège de participer à ce jury et d'examiner avec soin ce mémoire. Tout l'honneur lui en revient.*

*Nous exprimons nos remerciements aussi au et **Dr. Chouikh Atef** (Professeur à l'Université Echahid Hamma Lakhder/ EL Oued pour l'identification de l'espèce végétal*

*Nos remerciements vont aussi tous les techniciens du **Laboratoire D'Analyses Médicales EL-Medjed EL-Oued.***

*Nous tenons à remercier particulièrement **M elle GOUBI Sana** ingénieur du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie et tous les techniciens chacun et son nom, **Madame Salma, Latifa, Mouna, Bouchra, Mr Omar, Soultan, et Housam**, pour leur aide durant toute la période de notre travail.*



Dédicace

Je dédie ce mémoire à:

*Mes très chers parents Mama et Papa qui m'ont
beaucoup soutenue et encouragée et qui ALLAH les
protège et leur accorde une longue vie.*

*Je leurs adresse mes remerciements les plus profonds,
pour leurs encouragements et leurs conseils et
surtout leur compréhension et pour tous les efforts
qu'ils ont fournis pour nous permettre une meilleure
vie.*

Ma deuxième mère Mama Hasnia

Mon chère frères Abd el Kader

A tout ma famille Talaoui

A tous mes amis chacun et son nom

*A mes chères amies : Marwa, Requia, Mabrouka, et
Hafsia*

*A ma promotion de biochimie appliquée année 2017-
2022*

*Je me rappellerai toujours de tous les bons moments
que nous avons partagés ensemble et qui resteront
gravés dans ma mémoire.*

*Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la
réalisation de ce mémoire .*

Talaoui Salima





Dédicace

A mes parents

En témoignage de leur amour et soutien

Que Allah les préserve en bonne santé

Et leur accorde longue vie

A toute ma famille et mes amis

A tous ceux que j'aurai oublié de citer

*mais qui existent au fond de mon cœur et de ma
pensée.*

Hamidi nada elrayhan





Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A mes chers parents CHIKHA BELGACEM
DJEBBARI ET DAHEM LOUIZA Aucune dédicace
ne saurait exprimer mon respect, mon amour
éternel et ma considération pour les sacrifices que
vous avez consenti pour mon instruction et mon bien
être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que
vous me portez depuis toute ma vie. Puisse Dieu, le
Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue
vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A mes chères SŒURS : KARIMA, FARAH, ET
HIBA EL-RAHMAN pour leurs encouragements
permanents, et leur soutien moral.*

*A mes chers frères : SALIM ET KHALED pour leur
appui et leur encouragement, En témoignage de mon
affection fraternelle, de ma profonde tendresse et
reconnaissance.*

A ma petite BAHIA EL-DIN

*A mon cher fiancé DAHEM MOUHAMED qui
m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux
tant*

allégués, et le fruit de votre soutien infallible.

Chikha belgacem belkis



Résumé

Ce travail est consacré à une étude quantitative et semi qualitative de la plante désertique *Ammodaucus leucotrichus* de la famille des Apiacées et de quelques activités biologiques de la partie aérienne de cette plante. Dans cette étude, le rendement le plus élevé par macération a été obtenu pour l'extraire de méthanol (11,186%), quant aux solvants organiques éther de pétrole et dichlorométhane, le rendement a été (1,495%) (2,412%) respectivement. L'analyse phytochimique des extraits a révélé la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes. Le taux de phénols totaux, des flavonoïdes, ainsi que de tanins totaux a été déterminé avec des teneurs les plus élevées dans l'extraire de méthanol ($46,78 \pm 1,75 \mu\text{g E AG/mg}$), ($24,95 \pm 2,39 \mu\text{g E Q/mg}$) et ($27,60 \pm 2,73 \mu\text{g E AG/mg}$) respectivement. L'activité antioxydante de divers extraits a été évaluée à l'aide de trois méthodes différentes: Technique piégeage du radical (DPPH), pouvoir réducteur de l'ion férrique (FRAP) et technique de phosphomolybdate (PPM). L'activité antimicrobienne a été déterminée par la méthode du disque appliquée à quatre souches, Les trois extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ont montré qu'ils avaient un effet sur toutes les souches bactériennes testées.

Mots clés : *Ammodaucus leucotrichus*, polyphénols, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

الملخص

خصص هذا العمل إلى دراسة كمية ونصف نوعية للنبات الصحراوي أم دريقة (الكمون الصوفي) من العائلة الخيمية و بعض الأنشطة البيولوجية للجزء الهوائي لهذا النبات. في هذه الدراسة المستخلص الاعلى مردود عن طريق عملية النقع لهذا النبات كان للمستخلص الميثانولي (11,186 %)، أما فيما يتعلق بالمذيبات العضوية ايثر البترول و ثنائي كلورو ميثان فكان المردود (1,495%) (2,412 %) على الترتيب. كشف التحليل الكيميائي النباتي للمستخلصات عن وجود مركبات ثانوية مثل البوليفينول، الفلافونويد، القلويدات و التربينات. تم تحديد نسب الفينول الكلي، الفلافونيدات، و كذلك التينينات الكلية فكانت أكبر محتوياتها في مستخلص الميثانول (1,75±46,78) ميكروغرام مكافئة لحمض الغاليك / ملغ من الكتلة الجافة (، 2,39±24,95) ميكروغرام مكافئة للكرستين / ملغ من الكتلة الجافة، و (2,73±27,60) ميكروغرام مكافئة لحمض التانيك / ملغ من الكتلة الجافة) على الترتيب. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في مختلف المستخلصات باستعمال ثلاثة طرق مختلفة: تقنية إرجاع الجذر الحر (DPPH) ، تقنية إرجاع الحديد الثلاثي (FRAP) ، و تقنية الفوسفوموليبيدات (PPM) تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات بطريقة الأقراص المطبقة على أربعة سلالات، أظهرت المستخلصات الثلاثة لنبته أن لها تأثير على جميع السلالات الجرثومية المختبرة.

الكلمات المفتاحية : الكمون الصوفي، البوليفينول، الفلافونويد، التانينات، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات.

Abstract

This work is devoted to a quantitative and semi-qualitative study of the desert plant *Ammodaucus leucotrichus* of the Apiaceae family and some biological activities of the aerial part of this plant. In this study, the highest yield by maceration was obtained. for the methanol starter (11.186%), as for the organic solvents petroleum ether and dichloromethane, the yield was (1.495%) (2.412%) respectively The phytochemical analysis of the extracts revealed the presence of secondary metabolites such as polyphenols , flavonoids, alkaloids and terpenes The rate of total phenols, flavonoids, as well as total tannins was determined with the highest contents in the methanol extract (46,781,75 ug E AG mg), (24, 9542.39 ug E Q/mg) and (27.60±2.73 HE E AG mg) respectively. The antioxidant activity of various extracts was evaluated using three different methods: Radical Scavenging Technique (DPPH), Ferric Ion Reducing Power (FRAP) and Phosphomolybdate Technique (PPM). Antimicrobial activity was determined by the disc method applied to four strains. The three extracts of *Ammodaucus leucotrichus* showed that they had an effect on all the bacterial strains tested.

Key words : *Ammodaucus leucotrichus*, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity antimicrobial activity.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Partie 01_Synthèse bibliographique

Chapitre I

Composés phénoliques, structures et activités

I.1. Généralités	5
I.2. Sources des polyphénols	5
I.3. Classification	5
I.4. Biosynthèse des polyphénols	6
I.5. Rôles et intérêts des composés phénoliques	8
I.5.1. Chez les plantes	8
I.5.2. Chez l'homme	9
I.6. Activités biologiques des composés phénoliques	9
I.7. Flavonoïdes	11
I.8. Tanins	13

Chapitre II

Ammodaucus leucotrichus

II.1. Description de la famille Apiaceae	16
II.2. Genre d' <i>Ammodaucus</i>	16
II.3. Espèce d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	16
II.3.1. Description botanique	16
II.3.2. Nomenclature et classification d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	17
II.3.3. Utilisation traditionnelle de la plante	18
II.3.4. Etudes phytochimiques antérieures sur <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	18

Partie 02_Partie expérimentale

Chapitre I

Matériels et méthodes

I.1. Matériel	22
I.2. Méthodes	22

Chapitre II
Résultats et discussion

II.1. Résultats	33
II.1.1. Calcul du rendement	33
II.1.2. Tests phytochimiques	33
II.1.3. Résultats de l'étude quantitative	34
II.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante	36
II.1.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	38
II.2. Discussion	40
Conclusion
Références bibliographiques.....	46
ANNEXES	59

N° du Figure	Titre	Page
Figure 01	Structure de base des composés phénoliques	5
Figure 02	Voies de biosynthèse des polyphénols	8
Figure 03	Squelette général des flavonoïdes	11
Figure 04	Structure chimique des tanins	14
Figure 05	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>	17
Figure 06	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> avant et après broyage	22
Figure 07	Schéma d'extraction par épuisement successif par les solvants organiques	23
Figure 08	Structure de DPPH et DPPH •	27
Figure 09	Schéma du protocole d'activité antimicrobienne d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> (photos originales)	31
Figure 10	Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	34
Figure 11	Teneur en flavonoïdes des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	35
Figure 12	Teneur en tanins totaux des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	35
Figure 13	Activité anti-oxydante des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> par le test DPPH	36
Figure 14	Activité anti-oxydante des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> par le test FRAP	37
Figure 15	Activité anti-oxydante des différents extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> par le test de PM	38

Liste des Tableaux

N° du tableaux	Titre	Page
Tableau 01	Structure des squelettes des polyphénols	6
Tableau 02	Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme	11
Tableau 03	Distribution alimentaire des principaux classes des flavonoïdes	12
Tableau 04	Classification botanique <i>d'Ammodaucus leucotrichus</i>	17
Tableau 05	Rendement et caractéristiques des extraits de la plante étudiée	33
Tableau 06	Résultat des tests phytochimiques des extraits d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	33
Tableau 07	Diamètres des zones d'inhibition (en mm) lors des tests d'antimicrobienne sur l'extrait <i>d'Ammodaucus leucotrichus</i>	38

Liste des abréviations

AA : Acide Ascorbique

AAO : Activité Anti-Oxydante

AG : Acide Gallique

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium

ATCC : American Type Culture Collection

DchM : Extrait Dichloromethanique

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde

DPPH : 2,2 Diphenyl 1 Picryl Hydrazyl

E. coli: *Escherichia coli*

EtPe : Extrait Etherpétrolique

FeCl₃ : Chlorure de Fer

FRAP : Pouvoir Réducteur de l'ion Féérique (Ferric ion Reducing Antioxidant Power)

GMH : Gélose de Mueller Hinton

Gram - : Gram Negative

Gram + : Gram Positive

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

H₃PM₁₂O₄₀ : Phosphomolybdique

H₃PO₄ : Acide Phosphorique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide Phosphotungstique

HCl : Chlorure d'Hydrogène

I % : Pourcentage d'Inhibition

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50% (Inhibitory Concentration of 50%)

K. pneumoniae: *Klebsiella pneumoniae*

K₃Fe₂(CN)₆ : Ferrocyanure de Potassium

Liste des abréviations

K₃Fe₃(CN)₆ : Ferricyanure de Potassium

MeOh : Extrait Méthanolique

min : Minutes

Mo : Molybdène

nm : Nanomètre

Na₂CO₃ : Carbonate de Sodium

Na₂HPO₄ : Phosphate de Sodium

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PM : Phosphomolybdate

PEB : Poids de l'Extrait Brut

PMV : Poids de Matière Végétale

PPT : Polyphénols Totaux

R : Rendement

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SDS : Dodécylsulfate de Sodium

µg E AG/mg : Microgramme d'Equivalent d'Acide Gallique par Milligramme de l'extrait

µg E Q/mg : Microgramme d'Equivalent de Quercétine par Milligramme de l'extrait

UV : Ultra-Violet.

VS : Vitesse de Sédimentation

Introduction

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 65-80% de la population mondiale dans les pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire (**Muanda, 2010**).

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Ces plantes contiennent un grand nombre de molécules actives d'intérêt multiple mis à profit dans l'industrie, alimentation, cosmétologie et en dermatopharmacie. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Ammodaucus leucotrichus, appartient à la famille des Apiacées, possède un large éventail d'utilisations médicinales traditionnelles, y compris dans la diarrhée, la toux, les maladies pulmonaires, les allergies, helminthiases, gastralgies, otite, indigestion, rhume, fièvre, et troubles cardiaques (**Idm'hand et al., 2020**).

L'objectif de ce travail vise à démontrer la présence dans cette plante quelques métabolites secondaires et à déterminer leurs activités antioxydantes et antibactériennes. Le travail est subdivisé en deux grandes parties: dont une partie théorique qui regroupe deux chapitres dont le premier rassemble des données sur les polyphénols, Par ailleurs, le deuxième chapitre rassemble des données bibliographiques sur la plante étudié *Ammodaucus leucotrichus*.

La partie pratique englobe deux aspects: dont le premier décrire le matériel et les méthodes utilisés lors de ce travail expérimental, qui porte sur une étude phytochimique d'extrait de la plante étudiée basée sur la quantification des composés phénoliques, et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits vis-à-vis du radical libre DPPH, La méthode (FRAP) et le test de phosphomolybdate (PM). Finalement un test antimicrobien est également réalisé afin de déterminer l'efficacité de l'extrait contre *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et *Klebsiella pneumoniae*. Le deuxième aspect, regroupant les résultats obtenus et leur discussion générale. et enfin, une conclusion et des perspectives achèvent ce travail.

Partie 01:

Synthèse bibliographique

Chapitre I:

**Composés phénoliques,
structures et activités**

I.1. Généralités

Les polyphénols sont des composés phytochimiques polyhydroxylés, ils représentent une grande variété de composés qui ont des structures similaires (figure 1) (**Rajbhar et al., 2015**). Ils constituent l'un des groupes des substances les plus nombreux et répandues dans le règne végétal. Les scientifiques en ont identifié plus de 8000, molécules simples et complexes (**Urquiaga et Leighton, 2000**). Ils sont abondants dans la majorité des fruits et légumes (**Brglez Mojzer et al., 2016**) et présentent chez toutes les plantes vasculaires (**Zergui, 2016**). Plusieurs milliers de molécules ayant une structure polyphénolique (c'est-à-dire plusieurs groupes hydroxyles sur les cycles aromatiques) (**Manach et al., 2004**).

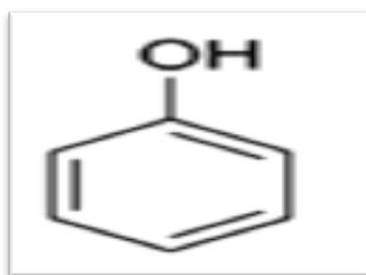


Figure 1: Structure de base des composés phénoliques (**Dacosta, 2003**)


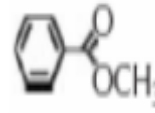
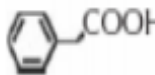
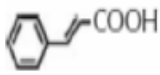

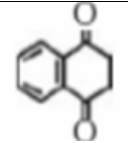

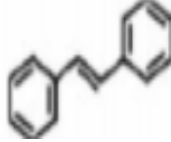
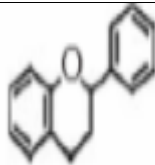
I.2. Sources des polyphénols

On retrouve des polyphénols dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux, sa source nourriture est les fruits, les légumes, et les boissons (**Middleton et al., 2000**). Les fruits tels que les baies, les raisins, les agrumes, les abricots, pommes, prunes, cerises, pêches et fruits tropicaux. D'autres sources importantes sont certaines populaires boissons telles que thé vert et noir, jus de fruits, café, cacao ainsi que diverses graines, céréales et noix. Parmi les légumes, on trouve fréquemment les polyphénols dans les oignons, les épinards, le brocoli, le chou-fleur, l'artichaut, la tomate, les haricots, le soja, les carottes, les câpres et olives. Différentes épices et herbes telles que le clou de girofle, le curcuma, le céleri, le persil, la menthe, le romarin, le thym, la sauge, l'aneth, le curry et le gingembre contiennent également des niveaux élevés de polyphénols (**BrglezMojzer et al., 2016**).

I.3. Classification

Le terme polyphénols se réfère précisément à des composés chimiques, qui ont un cycle aromatique avec substituant(s) hydroxyle, y compris leurs dérivés comme les esters, les éthers méthyliques et les glycosides sur la base de la structure chimique (tableau 01) (**Shankar et al., 2012**).

Tableau 01: Structure des squelettes des polyphénols (Crozier *et al.*, 2006)

Nombre des carbones	Squelette	Composés phénoliques	Exemple	Structure de base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide P-Hydroxycphénylacétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide p- coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine	
10	C6-C4	Naphthoquines	Juglone	
13	C6-C1- C6	Xanthones	Mangiferine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

I.4. Biosynthèse des polyphénols

Comme tous les composés phénoliques, les acides phénoliques tels que l'acide gallique et l'acide cinnamique sont considérés comme des métabolites de la voie du shikimate. La biosynthèse des polyphénols complexes tels que les flavonoïdes est liée au métabolisme

primaire via des intermédiaires des dérivés des plastes et des mitochondries, chacun nécessitant une exportation vers le cytoplasme où ils sont incorporés dans des parties distinctes de la molécule. Le cycle aromatique B et le cycle chromane sont considéré comme provenant de l'acide aminé phénylalanine, lui-même un produit de la voie du shikimate, tandis que le cycle A de trois unités de malonyl-CoA (**Fatland et al., 2004; Tsao et al., 2009**), Ces trois unités malonyl-CoA sont ajoutées par des réactions de condensation de décarboxylation séquentielle, qui initient la biosynthèse des flavonoïdes (**Tsao et al., 2009**).

La phénylalanine ammonia lyase (PAL) est une enzyme clé de la voie des phénylpropanoïdes qui catalyse la conversion de la phénylalanine en cinnamate, qui conduit ensuite aux structures (C6-C3). L'intermédiaire final 4-coumaroyl-CoA et trois molécules de malonyl-CoA sont ensuite condensés pour donner la première structure flavonoïde naringénine chalcone par l'enzyme chalcone synthase (CHS). Chalcone est isomérisée par la chalcone flavanone isomérase (CHI) en une flavanone. Cet intermédiaire flavanone est essentiel car c'est essentiellement à partir de là que toutes les classes de flavonoïdes -y compris leurs sous-groupes-se ramifient. La chalcone est également l'endroit où les isoflavones et les coumestrols se ramifient à travers différentes enzymes, notamment le CHI et l'isoflavone synthase (IFS), par exemple les intermédiaires (2S)-flavanones sont catalysées par la flavanone 3-hydroxylase (F3H) en dihydroflavonols, qui sont ensuite réduits par dihydroflavonol réductase (DFR) en flavan-3,4-diols (leucoanthocyanines), qui sont convertis en anthocyanidines par l'anthocyanidine synthase (ANS). La glucosylation des flavonoïdes est catalysée par glucosyl transférase (**Tsao,2010**). Les étapes de la biosynthèse des polyphénols sont représentées sur (la figure 2) .

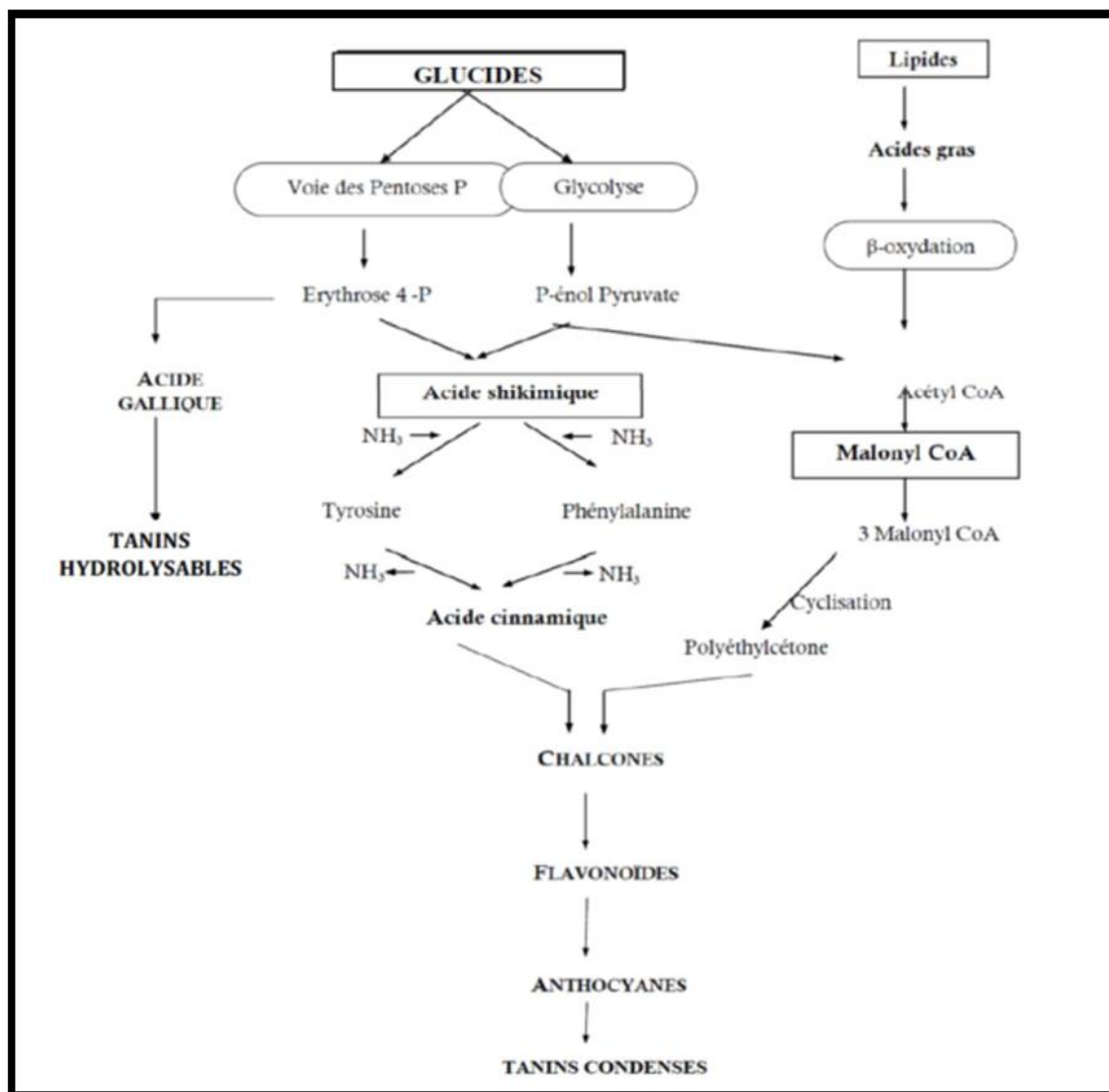


Figure 2: Voies de biosynthèse des polyphénols (Saidi, 2019)

I.5. Rôles et intérêts des composés phénoliques

I.5.1. Chez les plantes

Les polyphénols jouent un rôle important dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes (en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance), et permettent aux plantes de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux représentent le rôle de phyto-alexines telles que les isoflavonols pour lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (Makoi et Ndakidemi., 2007). Ces composés ont un rôle dans l'analyse sensorielle des composés (couleur et caractère organoleptique). Les pigments qui indiquent que les fruits et les légumes sont mûrs font aussi partie de la famille des polyphénols. Ce signal qu'ils envoient incite les animaux à les manger et contribue donc à la dispersion des graines (Rhazi, 2015). Dans les plantes, ces composés

sont couramment synthétisés comme agents de défense contre les stimulateurs physiologiques et environnementaux (**Rasouli et al., 2017**).

I.5.2. Chez l'homme

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales; ils ont la capacité de moduler l'activité d'enzymes et des récepteurs cellulaires. Ces composés sont réputés aussi pour leur caractère antioxydant (neutralisant les radicaux libres) (**Fiuza et al, 2004**), ils renforcent nos défenses naturelles en protégeant nos cellules et nos tissus contre le stress oxydant, ils ont formés en réaction à des agressions de notre environnement (tabac, polluants, infections...) (**Scalbert, 2004**). La consommation régulière d'aliments riches en polyphénols peut aider à diminuer l'incidence des maladies cardiovasculaires, du cancer du côlon, des troubles du foie, de l'obésité, du diabète, etc (**Rasouli et al., 2017**).

I.6. Activités biologiques des composés phénoliques

I.6.1. Activité antioxydante

Un antioxydant est un groupe d'éléments ou une substance qui est ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, il est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**). Ces dernières années, un intérêt croissant a été observé pour les antioxydants naturels. La littérature reconnaît que le remplacement des antioxydants synthétiques par des antioxydants naturels peut avoir plusieurs avantages et une grande partie de la recherche sur les antioxydants naturels a porté sur les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes comme sources potentielles d'antioxydants naturels (**Dontha et al., 2016**).

Leurs propriétés anti-oxydantes sont dues à plusieurs mécanismes différents tels que le piégeage des radicaux libres, chélation des ions métalliques (fer et cuivre) et inhibition des enzymes responsables de la génération de radicaux libres (**Saffidine et al., 2015**).

I.6.2. Activité anti-inflammatoire

Les études biologiques récentes *in vivo*, montrent que les polyphénols des plantes ont une activité anti-inflammatoire (**Yoon et Baek., 2005**). L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal élucidé. Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire, à doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires, mais à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés (**Ghedira, 2005**),

Les flavonoïdes agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (Scalbert *et al.*, 2005).

I.6.3. Activité antimicrobienne

Les polyphénols, tels que les tanins et les flavonoïdes, sont des substances antimicrobiennes importantes. Les activités antimicrobiennes de ces composés peuvent impliquer plusieurs modes d'actions, par exemple, les huiles essentielles dégradent la paroi cellulaire (interagissent avec la composition et perturbent la membrane cytoplasmique (Shan *et al.*, 2007). En plus de, l'inhibition des enzymes microbiennes, l'influence de la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines, des lipides, la fonction mitochondriale et la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation des métaux tels que le fer (Zhang *et al.*, 2009).

I.6.4. Activité anticancéreuse

Il y a beaucoup de preuves épidémiologiques qu'un régime riche en fruits et légumes pourrait réduire le risque de certains cancers. En effet, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*, ont démontré que les polyphénols naturels pouvaient être utilisés pour la prévention et le traitement du cancer (Stagos *et al.*, 2012). Les polyphénols peuvent également déclencher l'apoptose des cellules cancéreuses à travers la modulation d'un certain nombre d'éléments principaux en signal cellulaire. Ils ont la capacité d'interrompre ou d'inverser le processus de cancérogenèse en agissant sur les molécules du réseau de signalisation intracellulaire impliquées dans l'initiation et/ou la promotion d'un cancer pour arrêter ou inverser la phase de progression du cancer (Link *et al.*, 2010).

I.6.5. Activité antidiabétique

Des études épidémiologiques et expérimentales ont montrés que, les polyphénols des plantes ont une activité antidiabétique; ils stimulent les cellules β pour augmenter la sécrétion de l'insuline; et provoquée l'élévation de la tolérance des tissus au glucose. La capacité de fixer le glucose, et intégrer ainsi cet effet parmi les actions possibles des composés phénoliques sur la glycémie des animaux traités. Il faut noter dans ce contexte que les flavonoïdes ont naturellement tendance à lier des oses pour donner les flavonoïdes glycosides, ce qui justifie raisonnablement la possibilité de leur glycation dans les solutions glucosées (Kebièche, 2009).

I.6.6. Activité cardiovasculaire

La consommation de produits végétaux est une composante déterminante dans la prévention de nombreuses maladies chroniques associées au vieillissement, en particulier les maladies cardio-métaboliques, incluant les maladies cardiovasculaires (MCV) et le diabète de type 2 (DT2). Des données épidémiologiques et cliniques de plus en plus convaincantes

suggèrent également que les effets bénéfiques associés à une alimentation riche en produits végétaux pourraient impliquer une catégorie particulière de composés bioactifs, celle des flavonoïdes. Ces composés appartiennent à la grande famille des polyphénols et ils sont présents en abondance, dans nos aliments et boissons d'origine végétale (Morand, 2014). Il est largement admis que le stress oxydatif joue un rôle clé dans leur développement et leur progression (Gormaz *et al.*, 2016). Ces activités sont résumées dans le tableau suivant:

Tableau 02: Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme

Polyphénols	Activités biologiques	Références
Acides phénoliques	Antibactérienne, Anti-ulcéreuses, Antifongique, Antioxydante	(Sannomiya <i>et al.</i> , 2005) (Gurbuz <i>et al.</i> , 2009)
Coumarines	Anti-oxydantes, Anti inflammatoires, Antiparasitaires, Antitumorales, Anticoagulant, Analgésiques	(Ito <i>et al.</i> , 2005) (Iranshahi <i>et al.</i> , 2007)
Flavonoïdes	Antitumorales, Anticancirogènes, Anti-inflammatoires, Hypotenseurs et diurétiques, Anti-oxydantes	(Daas amiour, 2009)
Tannins galliques et catéchiques	Anti-oxydantes	(Okamura <i>et al.</i> , 1993)
Lignanes	Anti-inflammatoires, Analgésiques, Antiparasitaires	(Barata <i>et al.</i> , 2000) (Küpeli <i>et al.</i> , 2003)
Anthocyanes	Protectrices capillaro veineux, Anti oxydant	(Muanda, 2010)

I.7. Flavonoïdes

I.7.1. Définition et classification

Les flavonoïdes sont un groupe de métabolites secondaires polyphénoliques végétaux présentant un triple anneau commun, structure chimique (C₆-C₃-C₆) (figure3). Les principales classes de flavonoïdes sont les anthocyanes, flavonols, flavanols (pigments incolores qui deviennent marron après oxydation) et des proanthocyanidines (PA) ou des tanins condensés (tableau03).

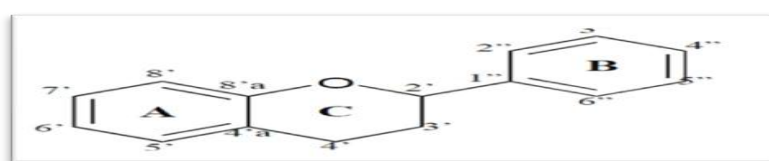
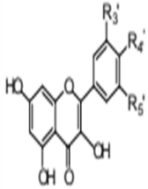
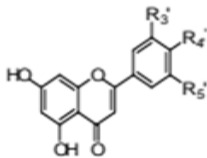
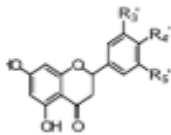
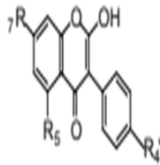
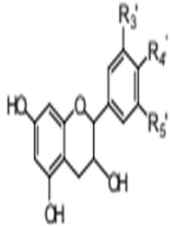
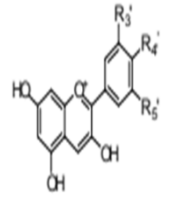


Figure 3 : Squelette général des flavonoïdes (Julien, 2012)

Ces composés sont largement distribués en différentes quantités, selon l'espèce végétale, l'organe, le stade de développement et conditions de croissance (**Petrussa et al., 2013**). Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels (tableau 03), qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Ghedira, 2005**).

Tableau 03 : Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes (**Talbi, 2015**)

Flavonoïdes	Exemples	Aliment	Caractéristiques
Falvonols 	Quercétine Kaempférol	Oignon, poireau, brocolis, pommes, vin rouge, thé choufrisé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques
Flavone 	Lutéoline Apigénine	Persil, céleri.	Le groupe le plus abondant, les flavones se différencient des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV et leur mobilité.
Flavanone 	Naringénine Eriodictyol	Fruits du genre Citrus.	Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3, flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour première fois à partir des écorces de citrus.
Isoflavones 	Genistéine Daidzéine	Graines de soja et produits qui en dérivent.	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans la plante sous forme libre ou glycosylée.

<p>Flavan 3-ols</p> 	<p>Catéchine Epicatéchine Epigallocatec hine</p>	<p>Vin rouge, thénoire , thé vert, cacao, chocolat</p>	<p>Flavan 3-ols ainsi que Flavan 3,4- diols sont impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines par des condensations enzymatiques et chimiques</p>
<p>Anthocyanidins</p> 	<p>Cyanidine Delphénidine</p>	<p>Raisins, certaine variété de céréales</p>	<p>Représentent le groupe le plus important de substance colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiosperms.</p>

I.7.3. Activités biologiques des flavonoïdes

Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, antibactérienne, anti-atherogénique, antimicrobienne, antivirale antitumorale, antiradicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, anti-thrombotique, hépatoprotectrice cardioprotective et vasodilatatoire, estrogénique et/ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protègent nos artères contre l'athérosclérose et réduisent la thrombose (caillots dans les artères) (**Middleton *et al.*, 2000; Muanda, 2010**).

I.8. Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques généralement classés en deux classes : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (ou condensés) (figure 4) (**Fresco *et al.*, 2006**), les tanins hydrolysables sont des esters d'acide gallique (gallotanins) et l'acide ellagique (ellagitanins) avec un noyau de sucre (habituellement glucose). Les tanins condensés sont dépourvus de noyau de sucre et composés de flavonoïdes (flavan 3-ol ou flavan 3, 4-diol). (**Sharma, 2019**). Les tanins trouvés principalement dans l'écorce, tiges, graines, racines, bourgeons et feuilles. Les tanins sont également disponibles dans les denrées alimentaires, c'est-à-dire les raisins, les mûres, les fraises, noix, noix de cajou, noisettes,

mangues et thé. Les tanins agissent comme agents défensifs des plantes, protègent les arbres provenant de champignons, d'agents pathogènes, d'insectes et d'animaux herbivores (**Das et al, 2020**).

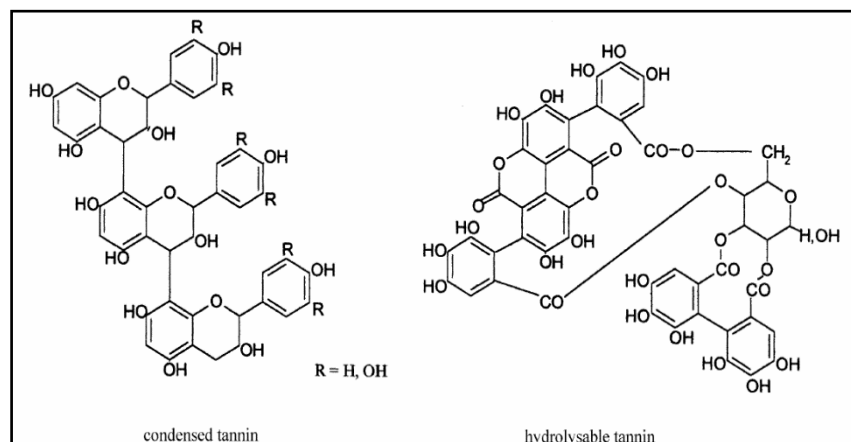


Figure 4 : Structure chimique des tanins (**Hassanpour et al.,2011**)

I.8.1. Activités biologiques des tanins

Les tanins peuvent exercer leurs effets biologiques de deux manières différentes : en tant que structure complexe non résorbable avec des propriétés de liaison qui peuvent produire des effets sur le tractus gastro-intestinal (antioxydant, anti-radicalaire, antimicrobien, antiviral, antimutagène et antinutriments), ou comme tanins résorbables (de bas poids moléculaire) et résorbables métabolites de la fermentation colique des tanins pouvant produire d'effets systémiques dans divers organes (**Sieniawska, 2015**).

Chapitre II:

Ammodaucus leucotrichus

II.1. Description de la famille Apiaceae

L'Apiaceae (Umbelliferae) est l'une des familles les plus importantes des plantes à fleurs et comprend des milliers d'espèces utilisées pour la nourriture, les arômes, les parfums, les fins médicales et industrielles. Les espèces d'Apiaceae sont adaptées à un large éventail de conditions (rocheuses à aquatiques) et d'altitudes (niveau de la mer à haute montagne) mais sont prédominantes dans les régions tempérées et relativement rare dans les tropiques humides (Palumbo *et al.*, 2021). La famille Apiaceae est la plus grande famille des angiospermes (Mohammedi *et al.*, 2018) avec environ 300 genres et plus de 2500 espèces, réparties dans une variété d'habitats, principalement dans les régions tempérées du monde (Idm'hand *et al.*, 2020), dans les sables maritimes à les pays saharien et subsaharien d'Afrique du Nord, au Maroc, en Algérie et en Tunisie, aussi s'étendant à l'Égypte et à l'Afrique tropicale (Manssouri *et al.*, 2020).

II.2. Genre d'*Ammodaucus*

Ammodaucus qui appartient à cette famille se trouve comme genre endémique en Afrique du Nord, les pays sahariens et subsahariens, y compris en Algérie, Maroc, Tunisie et Egypte De ce genre, la seule espèce poussant à l'état sauvage en Algérie est *leucotrichus* Coss & Dur subsp *leucotrichus*, et une autre sous-espèce a été décrite aux Canaries par Bultrán qui était *leucotrichus* Coss & Dur subsp. *Manocarpe* (Benahmed, 2017 ; Mohammedi *et al.*, 2018).

II.3. Espèce d'*Ammodaucus leucotrichus*

II.3.1. Description botanique

Ammodaucus Leucotrichus est la seule espèce du genre *Ammodaucus* dans la famille des Apiaceae (Manssouri *et al.*, 2016). Cette espèce est une petite plante annuelle de 10-12 cm de hauteur, glabre à tiges dressées et finement striées. Les feuilles sont finement disséquées et légèrement charnu. Les fleurs sont petites groupées en ombelles de 2 à 4 branches. Le fruit est un diachaine de 6 à 10 mm de long et est couvert de poils blancs denses (Figure 5) (Louail *et al.*, 2016). La plante a une forte odeur d'anis (Mohammedi *et al.*, 2018).



Figure 5 : *Ammodaucus leucotrichus* (Benahmed, 2017)

II.3.2. Nomenclature et classification d'*Ammodaucus leucotrichus*

II.3.2.1. Nomenclature

- **Nom latin :** *Ammodaucus leucotrichus*
- **Nom arabe :** Kamune es sufi (الكمون الصوفي) ou akâman
- **Nom français :** Cumin Chevelu
- **Nom vernaculaire :** Nessoufa, Moudrayga (Sebaa *et al.*, 2017)

II.3.2.2. Classification

D'après (Belbachir et Mezaouli., 2021) la classification d'*Ammodaucus leucotrichus* est la suivante (tableau 4) :

Tableau 04 : Classification botanique d'*Ammodaucus leucotrichus*

Règne	Planta
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous-classe	Astérides
Ordre	Apiales

Famille	Apiacées
Genre	<i>Ammodaucus</i>
Espèce	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>

II.3.3. Utilisation traditionnelle de la plante

Ammodaucus leucotrichus est utilisé comme remède contre les maladies cardiaques, le rhumatisme, l'asthme (Chebrouk *et al.*, 2019), la diarrhée, les spasmes et la colique, les vers intestinaux, la constipation (Halla *et al.*, 2018), dysenterie, nausée, régurgitation. Elle a également des propriétés toniques pour les bébés et est pris comme une perfusion ou dans le bain (Manssouri *et al.*, 2015).

Les fruits de cette plante sont utilisés pour traiter le cancer des poumons (Kabbaj *et al.*, 2012), sont souvent utilisées comme une épice pendant la préparation culinaire. Les feuilles et les graines sont consommées sous forme de décoction ou d'infusion pour plusieurs étuis thérapeutiques, tels que la pression du sang, la douleur thoracique, les maux de foie et du système digestif, la gastro-entérite, aussi pour le diabète (Idm'hand *et al.*, 2020), et aussi les douleurs d'estomac, les troubles digestifs, la fièvre, les vomissements, les allergies, et les palpitations. Dans le Tassili (Algérie), les feuilles sont utilisées pour aromatiser le thé et la poudre est une épice bien appréciée pour la nourriture (El Haci *et al.*, 2014).

Ammodaucus leucotrichus est la source de diverses classes de produits naturels tels que les flavonoïdes, les coumarines, les tanins et les huiles essentielles avec des activités biologiques notamment antimicrobien, antifongique, antioxydant et antitumoral (Mohammedi *et al.*, 2018).

II.3.4. Etudes phytochimiques antérieures sur *Ammodaucus leucotrichus*

L'étude des deux sous-espèces d'*Ammodaucus leucotrichus* n'a fait l'objet que d'une seule étude chimique, celle-ci a porté sur la séparation et l'identification des substances pouvant être obtenues à partir de la plante (fruits) séchée. On y trouve entre autres, les monoterpènes α -pinène, β -pinène, mycènes, limonène et des sesquiterpènes ainsi que d'autres composants (Libbey et Essent., 1991).

Une étude chimique effectuée sur la plante *Ammodaucus leucotrichus* a permis d'isoler et d'identifier quatre composés. Par des analyses spectroscopiques (RMN, IR, CPG

ET CPG/SM), comme étant l'Ammolactone-A, l'Ammolactone-B, le di hydroxy acide, le 3-Hydroxypérillaldéhyde (**Fischer *et al.*, 1979; Davies, 1990; Libbey et Essent., 1991**).

Nous pouvons signaler quelques études antérieures sur les huiles essentielles de cette espèce végétale algérienne, ayant une très forte activité antimicrobienne sur *Escherichia coli*, une espèce pathogène responsable de plusieurs infections. Ces huiles peuvent être considérées comme des nouvelles sources de médicaments antibactériens (**Gherraf *et al.*, 2013**). En effet, l'étude faite par **Muckenstrum *et al* (1997)** sur la fraction étherée des fruits de cette espèce a révélé la présence de plusieurs composés, à savoir: ammolactone, limonène, perillaldéhyd.

Partie 02:
Partie expérimentale

Chapitre I:

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

I.1.1.1. Choix de l'espèce

L'espèce d'*Ammodaucus leucotrichus* est parmi les espèces peu étudiées. Pour cela, cette étude vise à évaluer le dosage de quelques métabolites secondaires et les activités biologiques des différents extraits de cette espèce.

La plante a été achetée chez un herboriste du marché d'El Meghaier. L'identification et la confirmation de cette espèce a été faite par le Dr. Chouikh Atef (Professeur à l'Université Echahid Hamma Lakhder/ EL Oued). Les parties aériennes ont été nettoyées, séchées à l'ombre et à température ambiante; puis broyées avec un broyeur électrique et la poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre à température ambiante.



Figure 6: *Ammodaucus leucotrichus* avant et après broyage (photo originale)

I.1.2. Produits chimiques utilisés

Ether de pétrole, dichloromethane, méthanol, 2,2'-diphényl-picryl hydrazyl (DPPH), acide ascorbique, acide chlorhydrique (HCl), acide gallique, acide sulfurique, acide tannique, anhydride acétique, Carbonate de sodium (Na_2CO_3), copeaux de magnésium, diméthyle sulfoxyde (DMSO), dodécylsulfate de sodium (SDS), eau distillée, FeCl_3 , ferrocyanide de potassium, Folin ciocolteu, gélatine, l'eau physiologique, liqueur de Fehling, molybdate d'ammonium, phosphate de sodium (Na_2HPO_4), quercitrine, réactif de Dragendorff; Trichlorure d'Aluminium (AlCl_3), vanilline, Milieux Muller-Hinton (MHG).

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction par macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température

ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction etc (Singh, 2008).

I.2.1.1.Extraction avec les solvants organiques

La méthode d'extraction consiste à macérer successivement du matériel végétal dans trois solvants de polarité croissante (Diallo *et al.*, 2004), Il s'agit pour les deux premiers de l'éther de pétrole et le dichlorométhane, pour le solvant le plus polaire nous avons utilisé le méthanol (Bouzid, 2009). Pour cela la poudre sèche de la matière végétale a été macérée dans 200ml d'éther de pétrole, après 24 heures d'agitation mécanique à température ambiante, l'extrait a été filtré et concentré au rotavapeur à la température de (30°C). Le marc a été repris avec 200 ml de dichlorométhane puis avec 200 ml de méthanol (figure7). Les extraits obtenus sont ensuite stockés à température ambiante, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

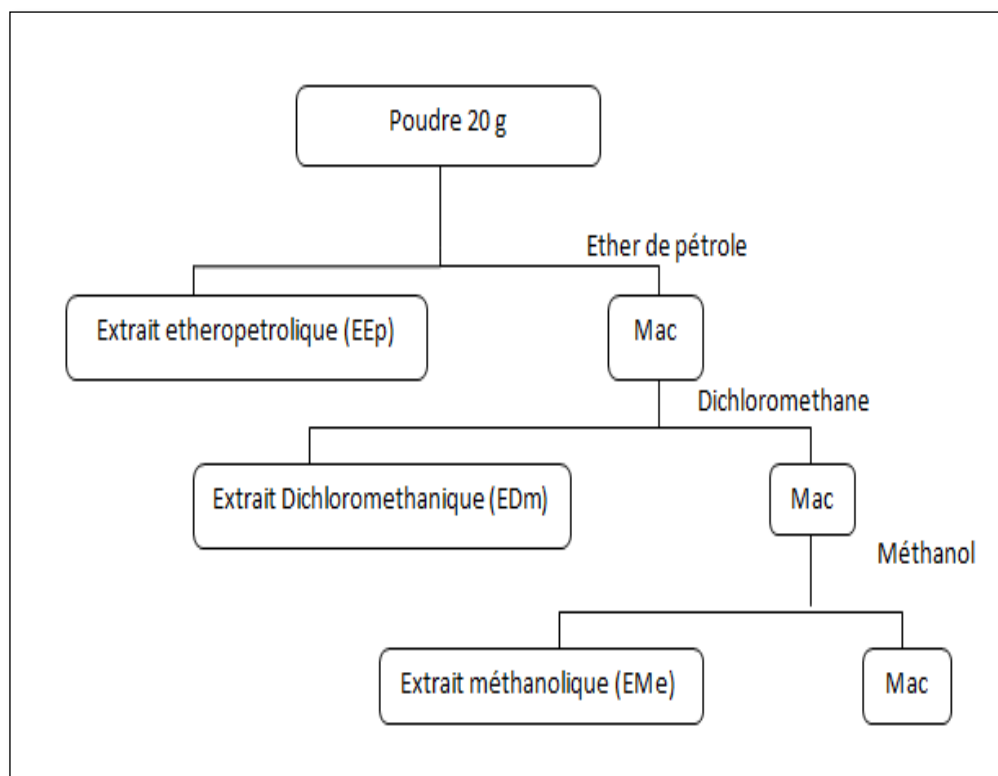


Figure 7: Schéma d'extraction par épuisement successif par les solvants organiques

(Bouzid, 2009)

I.2.2. Détermination du Rendement

Le rendement d'extrait brut a été déterminé par la formule donnée par **Chouikh et al (2015)**.

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

R: Rendement en %

P1: Poids de l'extrait brut (g)

P2: Poids de matière végétale (g)

I.2.3. Tests phytochimiques

I.2.3.1. Recherche des polyphénols

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) a été utilisée. Ainsi à 2 ml de chaque solution, est ajoutée une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée (**Bidie et al., 2011**).

I.2.3.2. Recherche des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Deux (2) ml de chaque extrait a été évaporé et le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée ; cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes (**El-haoud et al., 2018**).

I.2.3.3. Recherche des alcaloïdes

1ml d'extrait végétal a été additionné d'une goutte de HCl concentré, la solution obtenue est ajoutée 2 goutte de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration brun-rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes (**Bagre et al., 2007**).

I.2.3.4. Recherche des saponosides

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 mL de chacun des extraits dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes (s) puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (**N'Guessan et al., 2009**).

I.2.3.5. Recherche des polyterpènes et des stérols

Les polyterpènes et les stérols ont été mis en évidence par la réaction de Liebermann. Un aliquote de chaque extrait est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique dans une capsule, puis reprise dans un tube à essai dans lequel sont coulés 0,5 ml de H_2SO_4 concentré.

L'apparition d'une couleur rouge intense indique la présence des terpènes et verte foncée indique la présence des stérols (**Békro et al., 2007**).

I.2.3.6. Recherche des sucres réducteurs

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**El-haoud et al., 2018**).

I.2.4. Analyses quantitatives des composées phénoliques

I.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

• Principe

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (**Benhammou, 2012**). Le réactif est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phospho-molybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**), la coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm (**Bonnaillie et al., 2012**)

• Mode Opératoire

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (**Singleton et Ross, 1965**). Brièvement, dans des tubes en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm.

La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (20 - 100 µg/ml), dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg d'EAG/mg). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

I.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

• Principe

La quantification du contenu flavonoïdes des différents organes de la plante est estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (**Dif et al., 2015**), cette méthode est basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Lagnika, 2005**)

• Mode Opérateur

0.5ml d'extrait dilué dans le méthanol, avec 0.5ml de $AlCl_3$ (solution méthanolique de (2%). Après une heure de réaction, l'absorbance est lue par spectrophotomètre à 420 nm (**Rebiai et al., 2015**)

La courbe d'étalonnage a été tracée en prenant la quercétine comme un standard à différentes concentrations mg/ml), dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons, le test est répété 3fois.

I.2.4.3. Dosage de tanins totaux**• Principe**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau (**Roux et al., 2007**). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (**Achat, 2013**).

• Mode Opérateur

Le dosage des tannins totaux est fait par l'ajout d'une quantité de 50 mg de gélatine dans un mélange aqueux contient un volume de 0.5 ml d'extrait avec 0.5 ml d'eau distillée, après l'agitation le mélange est laissé 15 min à une température de 4°C; ensuite il est filtré par papier Whatman n°1. le surnageant obtenu est dosé par la même méthode de Folin Ciocalteu (**Adewusi et al., 2011**). La courbe d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions de dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

I.2.5. Activités biologiques**I.2.5.1. Activité antioxydante****I.2.5.1.1. Test de piégeage du radical DPPH****• Principe**

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits est réalisée par le test DPPH qui est considéré comme un radical libre relativement stable. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (1,1-Diphényle-2-picryl-hydrazyl de couleur violette)(figure 8). En présence de molécules dites antioxydants, le DPPH est transformé en sa forme réduite (diphényle picryl-hydrazine: de couleur jaune), ce qui conduit à une diminution de l'absorbance (**Mansouri et al., 2005**). La décoloration du DPPH est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire (**Saffidine, 2015**)

• Mode Opérateur

Environ 100 μl de chaque extrait ou standard de différentes concentrations ont été ajoutés à 2 ml de DPPH dans une solution de méthanol (100 μM) dans un tube après

incubation à 37° C pendant 30 min, l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les lectures à blanc correspondantes ont également été prises et le DPPH restant a été calculé (**Rai *et al.*, 2006**). Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I\% = [(AC-AT)/AC]*100$$

- AC : Absorbance du contrôle;
- AT : Absorbance du test effectué.

IC 50 ou concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les IC 50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (**Scherer et Godoy, 2009**).

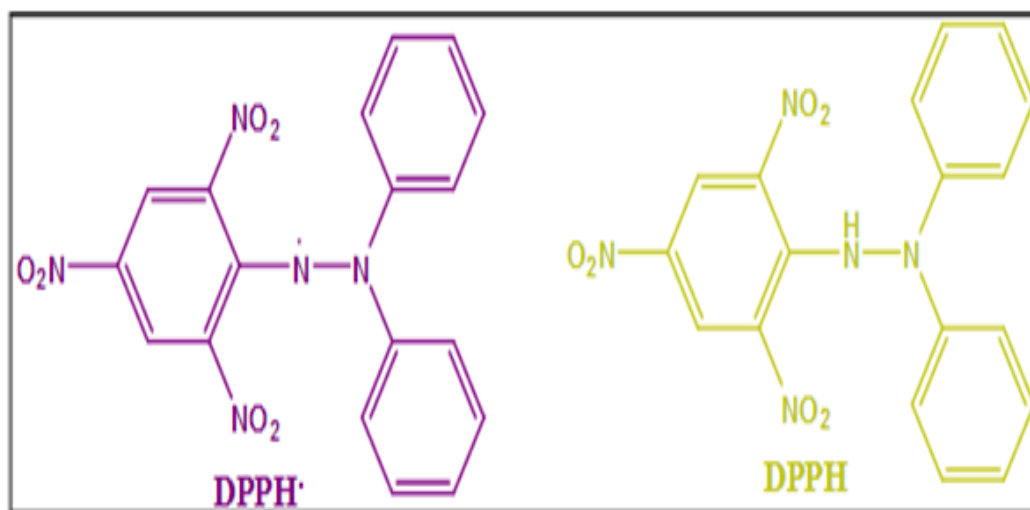


Figure 8: Structure de DPPH et DPPH • (**Labeled, 2016**).

I.2.5.1.2. Test de phosphomolybdate (PM)

● Principe

Le test du PM (phosphomolybdate) est une variante du test au DPPH. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant. Le test est basé sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation (V). Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre phosphate/ Mo (V) à un pH acide. On mesure la diminution de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des

polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...) (Muanda, 2011)

• Mode Opérateur

L'activité antioxydante de phosphomolybdate est déterminée selon le protocole décrit par Prieto *et al.*, (1999) qui consiste à ajouter 0,1 ml de solution d'échantillon contenant un réducteur à 1 ml de solution de réactif de phosphomolybdate(acide sulfurique 0,6 M, 28mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes ont été bouchés et incubés dans le bain-marie à 95°C pendant 90 min. Après que les échantillons aient refroidi à température ambiante, l'absorbance de la solution aqueuse de chacun a été mesurée à 695 nm .

Une gamme d'étalonnage à base d'acide ascorbique (20-100µg/ml) est également réalisée dans les mêmes conditions. Les résultats sont ainsi exprimés en µg d'équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait. Toutes les mesures sont répétées 3 fois

I.2.5.1.3. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

• Principe

Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) des échantillon sa été déterminé par réduction directe du ferricyanure de potassium($K_3Fe_3(CN)_6$) en ferrocyanure de potassium ($K_3Fe_2(CN)_6$) (Ahmed *et al.*, 2012). La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé (Koukhal, 2014).

• Mode Opérateur

Le milieu réactionnel (200 µl) (contenant 40 µl des échantillons à tester ou des contrôles positifs (acide ascorbique), 100 µl d'acide chlorhydrique 1,0 M, 20 µl de 1% (w/v) de dodécylsulfate de sodium (SDS), 30 µl de ferricyanure de potassium à 1 % (w/v) a été incubé pendant 20 min à 50 °C, refroidi à la température ambiante et enfin 20 ml de 0,1% (w/v) de chlorure ferrique a été ajoutée. L'absorbance à 750 nm a été lu contre le blanc contenant le meme réactif sans le chlorure de fer (Ahmed *et al.*, 2012).

La courbe d'étalonnage à base d'acide ascorbique (20-100µg/ml) est également réalisée dans les mêmes conditions. Les résultats sont ainsi exprimés en µg d'équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait. Toutes les mesures sont répétées 2 fois.

I.2.5.2. Activité antimicrobienne

Pour tester l'activité antimicrobienne de l'extrait étudiée, nous avons adopté la technique de diffusion sur milieu solide, à partir des disques imprégnés de l'extrait (Sharififar *et al.*, 2007). Les souches microbiennes que nous avons utilisé pour la recherche de l'activité antimicrobienne sont des souches de référence de l'American Type Culture

Collection (ATCC) disponibles dans le laboratoire d'analyses médicales EL-Medjed/ EL-Oued.

Les souches microbiennes testées dans notre étude sont des bactéries pathogènes responsables de l'apparition de certaines maladies: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* (Velomalala *et al.*, 2013).

■ *Escherichia coli* (ATCC 25922)

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, (Harrar, 2012), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm, *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival, 2004)

■ *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13886)

Est gram-négatif, non mobile, encapsulée. Est une bactérie anaérobies facultatives qui est en forme de bâtonnet, établis dans la bouche, la peau et la flore intestinale et les matières fécales d'environ 5 % des personnes, il déclenche de pneumonie bactérienne. Cela peut causer des consolidations pulmonaires nécrosantes hémorragiques occasionnellement (Brooks *et al.*, 2007). *K. pneumoniae* est souvent lié à une infection hospitalière, et cela implique des maladies telles que la malignité, la cirrhose, maladies urinaires, infections des voies biliaires, diabète, et les ostéomes sucrés. L'alcoolisme peuvent augmenter le risque d'infection due à la bactérie *K. pneumoniae* (Jasim et Farhan, 2020).

■ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Rarement trouvé dans le cadre de la microflore humaine chez les individus sains, est un bâtonnet gram-négatif. *P. aeruginosa* répandu dans les milieux naturels, c'est un pathogène opportuniste pour l'homme conduit à un large spectre des maladies présentes dans les voies urinaires, les brûlures, les voies respiratoires, infections et septicémie (Yang *et al.*, 2011). C'est la première cause de pneumonie. Ces dernières années, les infections nosocomiales causées par *P. aeruginosa* ont été reconnues comme un problème dans les hôpitaux en raison de sa résistance intrinsèque à de nombreuses classes d'antibiotiques (Fazzeli *et al.*, 2012).

■ *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Est une bactérie gram-positif, se trouve fréquemment dans le nez, les voies respiratoires, et sur la peau. Il est souvent positif pour la catalase et la réduction des nitrates et est un aérobie facultatif qui peut se développer sans avoir besoin d'oxygène (Masalha *et al.*, 2001). Bien que il ne soit pas toujours pathogène, c'est une cause fréquente des infections

cutanées telles que les abcès, les infections respiratoires telles que la sinusite, et les intoxications alimentaires (Asadi et Jamali, 2017). Il représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue, (Dworkin et Falkow, 2006).

I.2.5.2.1. Mode opératoire de l'activité antimicrobienne

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité d'extrait d'éther de pétrole, l'extrait de dichloromethane et l'extrait méthanolique, contre les bactéries pathogènes testées. Nous faisons le test en suivant ces étapes (figure 9):

● Réisolement des colonies

Les souches conservées sur la gélose nutritive ont étéensemencées sur milieu de culture Muller Hinton. La méthode par stries a été utilisée pour le repiquage. Les milieux de culture ont été incubés à l'étuve à 37°C pendant 24 h (Eyang-Esseng, 2007).

● Préparation des solutions

Les extraits ont été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à raison de (1mg/ml).

● Imprégnation des disques

Les disques stériles pour antibiogramme (préalablement autoclavés) ont été imprégnés de 20 µl de la solution d'essai préparée. Les disques ont été placés par la suite dans des boîtes de Pétri (Amadou, 2006).

● Préparation de la suspension bactérienne

Les suspensions bactériennes ont été préparées dans des tubes de solution d'eau physiologique stérile à 0.9 % (Eyang- Esseng, 2007).

La suspension bactérienne préparée a étéensemencée uniformément selon la méthode de Kirby-Bauer dans une boîte de pétri contenant le milieu Mueller Hinton (GMH) de 4 mm d'épaisseur. La boîte est laissée à la température ambiante pendant 1 min afin que les germes puissent bien adhérer à la surface de la gélose. L'excès de suspension bactérienne est éliminé par aspiration avec une pipette Pasteur, puis la boîte est séchée à l'étuve à 37°C pendant 15 min. Chacune des boîtes a reçu 4disques déposés à la surface du milieuensemencé, à l'aide d'une pince fine. La préparation est incubée à 37°C pendant 24 h. Chaque test est effectué en 2 exemplaires (Velomalala *et al.*, 2013).

● Lecture des résultats

Après 18 – 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurés en vue d'apprécier l'activité inhibitrice d'extrait et de l'antibiotique testé (Caesar, 2007).

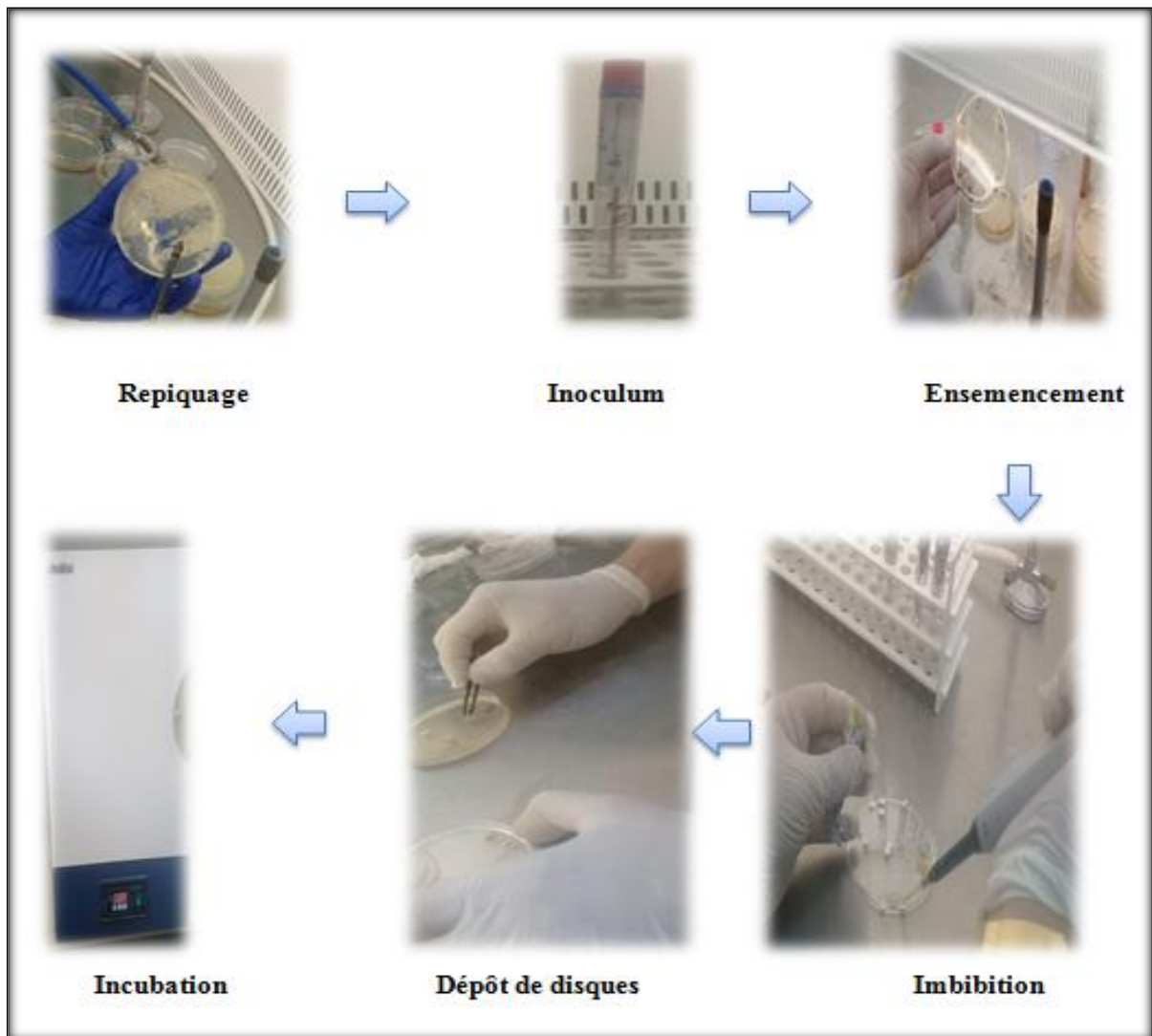


Figure 9: Schéma du protocole d'activité antimicrobienne d'*Ammodaucus leucotrichus*
(photos originales)

I.2.6. Analyse statistique

Les données expérimentales obtenues du dosage et de l'évaluation des activités biologiques ont été exprimées la moyenne de trois lectures en utilisant le logiciel MINITAB 18 et EXCEL (office 2007) qui nous aident pour faire l'analyse.

Chapitre II:

Résultats et discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Calcul du rendement

Les extraits obtenus après macération pendant 24 heures, ont été soumis à une filtration, puis séchés, pesés pour déterminer leurs rendements et leurs caractéristiques (couleur et aspect); qui sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Rendement et caractéristiques des extraits de la plante étudiée

Caractéristiques	EtPe	DchM	MeOh
Rendement	2,41 %	1,50%	11,19 %
Couleur	Marron	brun verdâtre	brun verdâtre
Aspect	pâte huileux	pâte	pâte

Selon les résultats, le rendement le plus important est enregistré pour l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* qui est de l'ordre de 11,186 %, suivi par celui de l'extrait d'éther de pétrole avec un taux de 2,412%, alors que le taux le plus faible est obtenu avec l'extrait dichlorométhanique qui est égal à 1,495% (tableau 5).

II.1.2. Tests phytochimiques

Nous avons effectué des tests de coloration pour identifier la présence ou l'absence de différents types de métabolites secondaires dans la plante d'*Ammodaucus leucotrichus*. Les résultats obtenus sont dans le tableau suivant :

Tableau 06: Résultat des tests phytochimiques des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*

Les tests	EtPe	DchM	MeOh
Polyphénols	+	++	++
Flavonoïde	+	+	++
Alcaloïdes	+++	+++	+++
Saponosides	-	-	-
Terpènes	+++	+++	+++
Stérols	-	-	-
Sucre réducteur	-	-	-

+: traces, ++: abondant, +++: très abondant, - : absent

Ces résultats indiquent que les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpènes sont présent dans tous les extraits de la partie aérienne d'*Ammodaucus leucotrichus*. Par contre les saponosides, les stérols et les sucres réducteurs sont absents.

II.1.3. Résultats de l'étude quantitative

II.1.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux été estimé par la méthode de Folin-Ciocalteu, L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 765 nm.

La teneur de ces composés a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, exprimée en μg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait sec (figure 10).

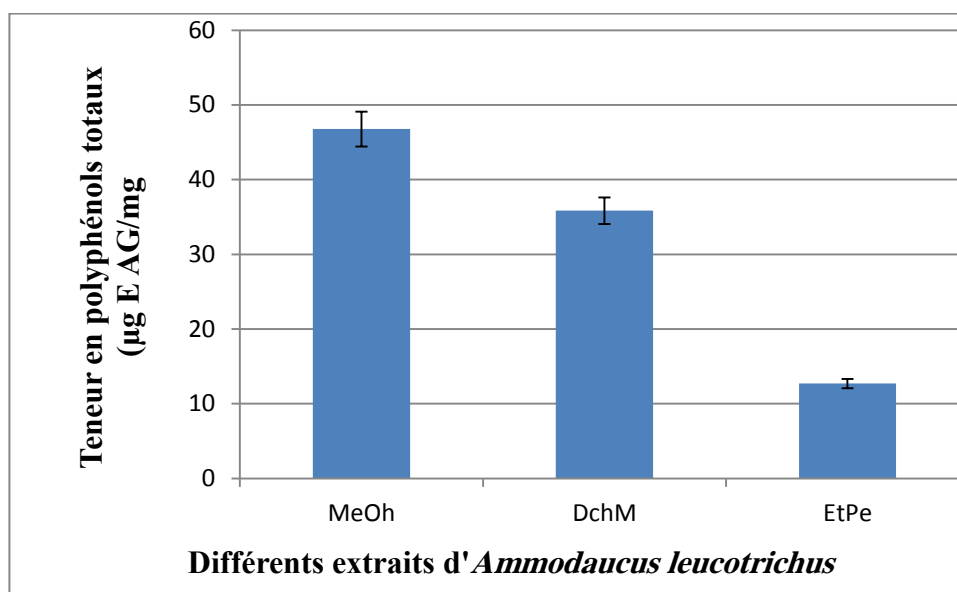


Figure 10 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*

Selon les résultats présentés dans la figure 10, nous constatons que l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* a enregistré la teneur la plus importante en polyphénols totaux avec un taux de $46,78 \pm 1,75 \mu\text{g E AG/mg}$, suivie par celle de l'extrait de DchM qui a une teneur égale à $35,84 \pm 1,39 \mu\text{g E AG/mg}$, alors que l'extrait d'EtPe a la teneur la plus faible qui est de l'ordre de $12,69 \pm 2,65 \mu\text{g E AG/mg}$.

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont significatives ($P < 0.5$).

II.1.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 420 nm.

La teneur de ces composés a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de quercétine, exprimée en μg équivalent de quercétine/mg d'extrait sec (figure 11).

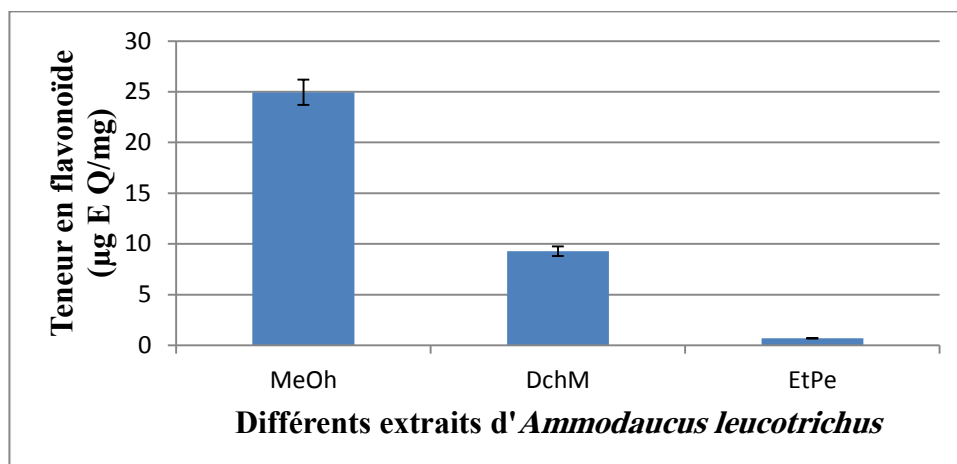


Figure 11 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*

D'après les résultats de la figure 11, il apparaît que l'extrait MeOh est plus riche en flavonoïdes en comparaison avec les extraits de DchM et de EtPe. La teneur en flavonoïdes des extraits sont égale à ($24,95 \pm 2,39 \mu\text{g E Q/mg}$) ; ($9,28 \pm 0,62 \mu\text{g E Q/mg}$) ; et ($0,69 \pm 0,32 \mu\text{g E Q/mg}$) respectivement.

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont significatives ($P < 0,5$).

II.1.3.3. Dosage des Tanins totaux

Le dosage des tanins totaux a été réalisé selon la méthode de Folin-Ciocalteu, La teneur de ces composés a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique, exprimée en μg équivalent d'acide gallique /mg d'extrait sec (figure 12). L'absorbance est lue à une longueur d'onde de 765nm.

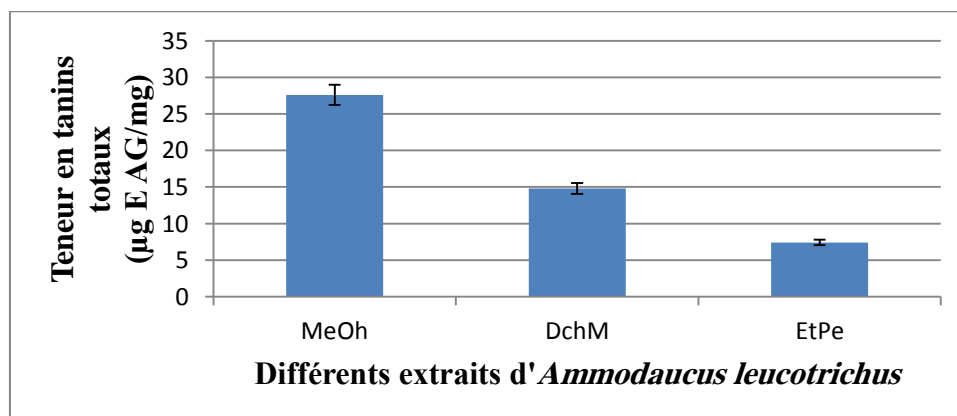


Figure 12 : Teneur en tanins totaux des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*

D'après les résultats expérimentaux obtenus dans la figure 12, la teneur la plus faible en tanins totaux a été enregistrée pour l'extrait EtPe d'*Ammodaucus leucotrichus* de $7,42 \pm 1,58 \mu\text{g E AG/mg}$, en comparaison avec l'extrait de DchM qui a de $14,79 \pm 4,51 \mu\text{g E AG/mg}$. Cependant, la teneur la plus élevée a été obtenue pour l'extrait MeOh de $27,60 \pm 2,73 \mu\text{g E AG/mg}$.

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont significatives ($P < 0,5$).

II.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante d'*Ammodaucus leucotrichus*, nous avons utilisé trois méthodes basées sur trois mécanismes antioxydants différents : l'effet piègeur des radicaux libres évalué par le test de DPPH, la capacité antioxydante totale estimée par le test de phosphomolybdate et le pouvoir réducteur du fer en utilisant le test FRAP.

II.1.4.1. Piégeage du radical libre DPPH

DPPH est un radical libre stable généralement utilisé pour déterminer la capacité des composés à nettoyer les radicaux libres. La méthode est basée sur la réduction de la solution méthanolique de DPPH en présence d'un donneur d'hydrogène molécules. La réduction de la solution DPPH est surveillée par la mesure de l'absorption à 517 nm (**Dahman et al., 2017**).

La capacité antioxydante de la plante étudiée a été déterminée et comparée à l'activité de composé anti-radicalaire l'acide ascorbique comme étalon.

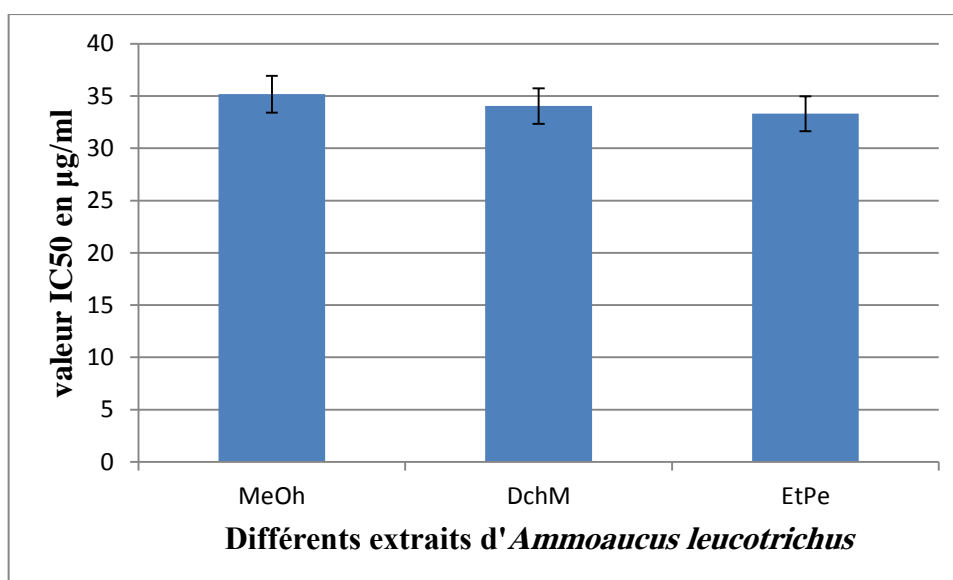


Figure 13 : Activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* par le test DPPH

Il ressort des résultats de (figure 13) que les extraits EtPe, DchM, et MeOh ont enregistré des valeurs de IC_{50} faibles qui sont égales $35,17 \pm 2,01 \mu\text{g/ml}$, $34,04 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$, et $33,39 \pm 1,37 \mu\text{g/ml}$ respectivement, en comparaison avec celle de l'antioxydant standard acide ascorbique $3,06 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$, mais l'extrait d'éther de pétrole était le plus important par rapport aux autres extraits.

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* non significatives ($P > 0,5$).

II.1.4.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Dans ce travail, nous avons testé par la méthode de FRAP, l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée. Les résultats sont exprimés en μg équivalents d'acide ascorbique par mg d'extrait sec ($\mu\text{g EAA/ mg ES}$). Ces résultats sont représentés dans la figure 14:

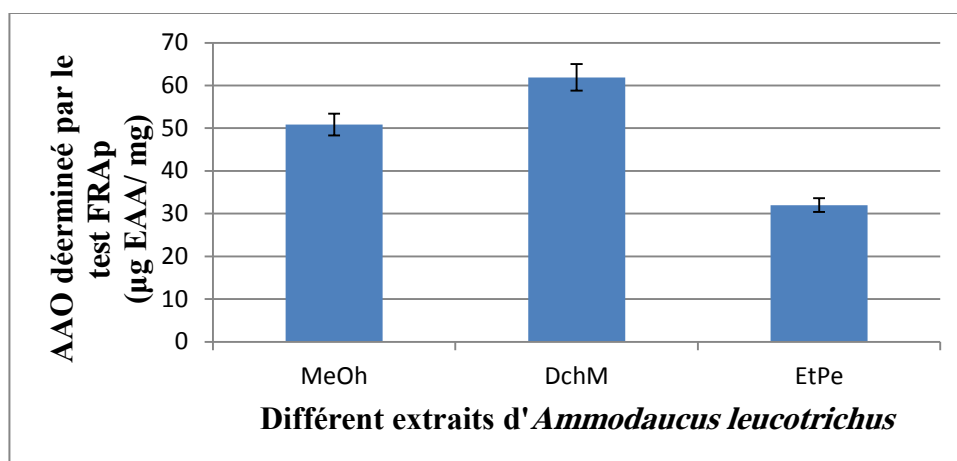


Figure 14 : Activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* par le test FRAP

A partir de la figure ci-dessus, l'activité antioxydante la plus élevée de pouvoir réducteur de l'ion férrique, a été obtenue avec l'extrait DchM $61,9 \pm 0,7 \mu\text{g EAA/ mg}$, suivie par l'extrait MeOh ($50,84 \pm 1,29 \mu\text{g EAA/ mg ES}$). Le EtPe vient en dernière position $31,99 \pm 4,60 \mu\text{g EAA/ mg ES}$.

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont non significatives ($P > 0,5$).

II.1.4.3. Méthode de phosphomolybdate (PM)

Pour la mesure de l'activité antioxydante des extraits, le test de capacité réductrice du phosphomolybdate (PM) a été utilisé. Cette activité a été et comparée à l'activité d'un

antioxydant puissant l'acide ascorbique. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante :

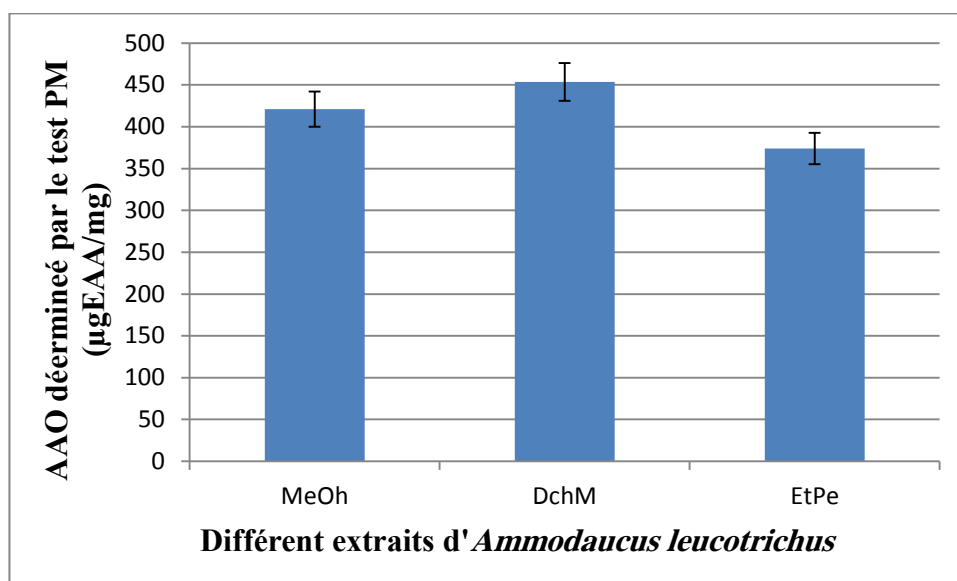


Figure 15 : Activité anti-oxydante des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* par le test de PM

Les analyses statistiques effectuées montrent que les différences enregistrées entre les différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont significatives ($P < 0,5$).

II.1.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de la plante a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu de culture (gélose Mueller-Hinton). L'activité antimicrobienne des extraits a été déterminée en terme de diamètre de zone d'inhibition produite autour des disques contenant l'extrait après 24h d'incubation à la température ambiante pour le développement des bactéries. Les résultats sont enregistrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07: Diamètres des zones d'inhibition (en mm) lors des tests d'antimicrobienne sur l'extrait d'*Ammodaucus leucotrichus*

Extractions	Extrait EtPe (mm)	Extrait DchM (mm)	Extrait MeOh (mm)
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	8,33±0,57	8,66±2,08	7,33±1,15
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13886)	9,33±1,15	9±3,46	6,66±0,57
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	9,33±2,51	8±1,73	7,66±1,15
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	8,66±0,57	8,33±0,57	6,66±0,57

D'après (le tableau 07) nous remarquons que les extraits, EtPe, DchM, et MeOh d'*Ammodaucus leucotrichus* a inhibé modérément la croissance de toutes les souches microbiennes testées celles Gram positif:(*S. aureus* ATCC 25923) et les bactéries Gram négatif (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, et *K. pneumoniae* ATCC 13886).

II.2. Discussion

Les résultats du rendement a montré une différence dans ce rendement des différents extraits; celui d'extrait méthanolique était de 11,19 % qui est en accord avec celui obtenu par **El haci et al. (2018)** avec taux de $10,02 \pm 0,49\%$. Quant à l'extrait d'éther de pétrole, le rendement obtenu est 2,412% ; qui est proche de celui obtenu par **Belhani et Habbaz (2019)** avec taux de 1,78%.

Les différences de rendements peuvent être expliquées par l'état physiologique des plantes, ou par les différences des conditions expérimentales au laboratoire: type d'extraction (décoction, infusion ou par macération,...), (**Ebringerova et al., 2003**), et peut être affecté également par plusieurs facteurs tels que la polarité du solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition d'échantillon (**Doet et al., 2013**). Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Bouزيد. 2009**).

Les tests phytochimiques présentent une idée générale sur la composition chimique trouvée dans la plante étudiée. Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que les extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sont plus ou moins riches en métabolites secondaires.

Cependant, selon **Sabaa et al. (2017)** les tests phytochimique préliminaires effectués sur les fruits d'*Ammodaucus*, ont permis de mettre en évidence les différents groupes phytochimiques présents dans la plante, Tels que des alcaloïdes, des saponines et des composés réducteurs dans les graines d'*Ammodaucus leucotrichus*. Aussi, **Belhani et Habbaz, (2019)** ont mis en évidence la présence des stéroïdes et l'absence des alcaloïdes dans les extraits au méthanol et à l'éther de pétrole des graines d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Après avoir utilisé la méthode de Folin-Ciocalteu pour le dosage des polyphénol, les résultats de la présente étude ne sont pas en accord avec ceux de **Bouchouka (2016)**, et **Kerarsi et Soudani, (2015)**, qui ont trouvé une teneur faible en polyphénols de l'extrait méthanolique d'*Ammodaucus leucotrichus* est égale à (4,16 mg EAG/g) et (1,675 mg EAG/g) respectivement, et encore avec **El haci et al. (2018)** qui ont trouvé un taux plus élevé en polyphénols totaux ($118,69 \pm 8,5$ mg EAG/g) .

La teneur d'extrait EtPe dans notre étude est ($12,69 \pm 2,65$ µg E AG/mg), par contre **Belhani et Habbaz. (2019)** ont trouvé (3,67 mg EAG/g).

Ces variations de la teneur en polyphénols totaux peuvent être expliquées par la plus grande solubilité des polyphénols dans les solvants utilisés lors du processus d'extraction. D'ailleurs, la polarité du solvant est un facteur important dans la solubilité accrue des polyphénols (**Naczka et Shahidi, 2006**). L'augmentation ou la diminution de la température d'extraction pourrait aussi modifier la structure de la matrice végétale, et par conséquent de faciliter le processus d'extraction (**Alessandro, 2013**)

Les résultats obtenus dans nos expérimentations sur les extraits de flavonoïdes des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* sont inférieurs à celui obtenu par (**Louail et al., 2020**) qui ont mentionné une teneur en flavonoïdes estimée à 66.65 mg QE/g dans un extrait méthanolique, alors que **Belbachir et Mezaouli (2021)**, ont montré que l'extrait méthanolique a présenté une teneur de 0.11 mg EC/g MS.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait (**Stanković, 2011**). Le type de standard utilisé (quercétine, rutine) peut aussi changer les résultats (**Djeridane et al., 2010**).

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

Les conditions environnementales peuvent affecter la teneur des tanins, ainsi que dépend de la dérivabilité, est susceptible d'être influencé par le mode de culture, le stade phénologique, la nature du sol (les sols arides sont sablonneux, infertiles et pauvres en éléments nutritifs), le climat au moment du prélèvement (température), de même que par la constitution de l'échantillon (proportion tiges-feuilles-fleurs). Le traitement de ces prélèvements en vue de l'expérimentation (mode de séchage, de broyage et de stockage) est aussi susceptible de faire varier les résultats (**Rira, 2006**).

Un antioxydant est toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde significativement ou prévient l'oxydation de ce substrat (**Timbo, 2003**). Le pouvoir antioxydant de l'extrait d'*Ammodaucus leucotrichus* a été évalué par le dosage du pourcentage d'inhibition de l'oxydation du DPPH, pouvoir réducteur du fer, et la méthode de phosphomolybdate.

Le radical DPPH, est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité sous forme radicalaire et de la simplicité de cette analyse (**Kerarsi et Soudani., 2015**).

L'activité antioxydante la plus élevée de test DPPH était pour EtPe avec une IC 50 égale à $33,39 \pm 1,37 \mu\text{g/ml}$, suivie par DchM avec une IC 50 égale $34,04 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$ et en dernier était l'extrait MeOh $50,84 \pm 1,29 \mu\text{g EAA/ mg ES}$ c'est le plus faible.

Les résultats de **Louail et al., (2020)** montrent que les différences de composition chimique des extraits ont un effet significatif sur la capacité inhibitrice des radicaux libres. Plusieurs études ont indiqué que l'activité antioxydante des plantes aux propriétés médicinales est due à la présence de composés naturels tels que les composés phénoliques (**Manssouri et al., 2016**)

L'ajout de Fe^{3+} aux extraits à pouvoir réducteur conduit à la formation du complexe bleu de Prusse de la perle intense $\text{Fe}^{3+} (\text{Fe}^{2+} (\text{CN}))^{3-}$, qui a un fort maximum d'absorbance à 650 nm. Plus l'intensité du complexe de bleu de Prusse est élevée, plus la capacité réductrice de l'échantillon d'essai est forte (**Ahmed et al., 2012**). Le taux d'inhibition de l'extrait méthanolique est égale à $(61,9 \pm 0,7 \mu\text{g EAA/ mg ES})$, ce résultat est différent que celui trouvé par (**Bouchouka, 2012**), pour la même espèce *d'Ammodaucus leucotrichus* qui est $09,04 \pm 0,09 \text{ mg EAA/g MS}$.

La capacité antioxydante totale par le test de phosphomolybdate est basée sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés antioxydantes et la formation d'un complexe phosphate/Mo (V) d'une couleur verte (**Nithiananthan et al., 2012**). Le résultat montre que la capacité antioxydante par le phosphomolybdate de notre extrait : méthanolique, dichlorométhanique, et étherpétrolique possède une capacité antioxydante importante de l'ordre de $420,83 \pm 34,53 \mu\text{gEAA/mgMS}$; $453,5 \pm 16,09 \mu\text{gEAA/mgMS}$; et $373,83 \pm 62,68 \mu\text{gEAA/mgMS}$ respectivement.

D'après **Bouchouka, (2012)**, le potentiel d'activité antioxydante d'un extrait dépend de sa teneur en composés phénoliques. L'activité antioxydante mesurée par le test est influencée par la nature chimique des composés présents dans les extraits. Cette dernière est en relation étroite avec la polarité des solvants utilisés pour l'extraction des substances bioactives du matériel végétal (**Belhani et Habbaz, 2019**)

Un grand nombre de plantes, aromatiques, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très importantes, qui trouvent des applications dans divers domaines tels que la médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture (**Bahorun, 1998**).

Les diamètres des zones d'inhibition étaient compris entre 7 mm et 9 mm. Ces résultats sont différents à ceux trouvés par **Belhani et Habbaz, (2019)** qui ont étudié l'activité de

l'extrait des parties aériennes d'*Ammodaucus leucotrichus* contre *E. coli*, *S. aureus* et *K. pneumoniae*. Ils ont montré que l'extrait d'éther de pétrole ont un effet antimicrobien sur *E. coli* (8 mm) comparable à celui de ce travail (8,33 mm), par contre l'activité sur les autres souches bactériennes *S. aureus* et *K. pneumoniae*, étaient 16 mm et 12 mm respectivement. Toutefois l'extrait méthanolique a donné une activité plus ou moins importante contre les bactéries testées avec des zones d'inhibition 12 mm pour *E. coli*, 22 mm pour *S. aureus*, et 8 mm pour *K. pneumoniae*.

Plusieurs classes de polyphénols tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins servent de mécanisme de défense des plantes contre les micro-organismes, insectes et herbivores. En fait, le site et le nombre de groupes hydroxyle sur les composants phénoliques augmentaient la toxicité contre les micro-organismes (Falleh *et al.*, 2008).

Conclusion

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en thérapeutique à travers le monde est très ancienne et cela malgré les progrès de la médecine moderne; plus de 80 % de la population mondiale ont recours à la médecine dite traditionnelle pour faire face à ses problèmes de santé, cela s'explique par le fait que de nombreuses maladies sont traitées de manière satisfaisante et à moindre coût par les plantes; Ces dernières doivent leur pouvoir thérapeutique aux substances actives qu'elles renferment.

Ammodaucus leucotrichus est une plante saharienne de la famille des Apiacées, révèle une large utilisation en médecine traditionnelle, et possède plusieurs propriétés biologiques.

Ce travail a été porté sur d'étude quantitatives et semi qualitatives des composées phénoliques et d'évaluer les activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits d'*Ammodaucus l leucotrichus*.

L'extraction par la méthode de macération en utilisant des trois solvants a donné des extrait d'éther de pétrole, dichloromethane et méthanolique avec des rendements 2,412%, 1,495%, 11,186% respectivement. La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode de Folin Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique donne la teneur la plus élevée ($46,78 \pm 1,75 \mu\text{g E AG/mg}$), suivi par l'extrait de dichlorométhane ($35,84 \pm 1,39 \mu\text{g E AG/mg}$) et l'extrait d'éther de pétrole ($12,69 \pm 2,65 \mu\text{g E AG/mg}$). Aussi La teneur en flavonoïdes pour les différents extraits a été estimée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et en tanins totaux, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique d' *Ammodaucus leucotrichus* présente les taux les plus élevés

L'effet des extraits phénoliques sur le pouvoir antioxydant *in vitro* par les trois méthodes utilisées (molybdate, DPPH et FRAP) ont montré que tous les extraits d' *Ammodaucus leucotrichus* possèdent une activité antioxydante très importante.

Cette étude a révélé également que tous les extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* ont une efficacité contre toutes les souches bactériennes testées.

Comme perspectives on propose de :

- Utiliser d'autres méthodes d'extractions des métabolites secondaires et obtenir un extrait très pur de tester ses activités biologiques.
- Cette étude pourrait être approfondie par d'autres études pharmacologiques qui doivent être menées afin de découvrir des médicaments anti-inflammatoires et anti-oxydantes efficaces.
- Il serait important d'approfondir les recherches sur une large gamme de souches microbiennes et d'identifier les constituants actifs responsables de l'activité antibactérienne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Achat, S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Autre. Université d'Avignon; Université Abderrahmane Mira - Bejaïa (Bejaïa, Algérie). 261 p.
2. **Adewusi, E.A., Moodley, N., & Steenkamp, V. (2011).** Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. *South African Journal of Botany* (77), 638-644.
3. **Ahmed, A. S., Elgorashi, E. E., Moodley, N., McGaw, L. J., Naidoo, V., & Eloff, J. N. (2012).** The antimicrobial, antioxidative, anti-inflammatory activity and cytotoxicity of different fractions of four South African Bauhinia species used traditionally to treat diarrhoea. *Journal of ethnopharmacology*, 143(3), 826–839.
4. **Alessandro, L.G, (2013).** Eco-procédés pour la récupérations élective d'antioxydant à partir d'Aroniamelanocarpa et ses co-produits. Thèse de Doctorat .Université Lille 1. P 100.
5. **Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018).**«Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L.», *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 87, articles, 2018, p. 13 -21.
6. **Amadou, M.B.S. (2009).** Etude de la phytochimie et des activité biologiques de *Combretum glutinosum* Perr. ex dc (combretaceae). Thèse de doctorat en Pharmacie , Université de Bamako, Bamako- Mali.
7. **Amroune, S.E. (2018).** Phytothérapie Et Plantes Medicinales. Mmoire en Protection des Ecosystèmes. Université des Frères Mentouri Constantine. 66 p.
8. **Asadi S, & Jamali M. (2017).** Assessment the Frequency of *Staphylococcus aureus* Golden Methicillin-Resistant (MRSA) and Vancomycin-Resistant VRSA in Determining the MIC Using E-Test. *Immunol Disord Immunother* 2: 104.
9. **Bagre, I., Bahi, C., Gnahoue, G., Djaman, A.J & Guede, G.F. (2007).** Composition phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antifongique des extraits des feuilles de *Morinda Morindoides* (Baker) Milne-Redhead (Rubiaceae) sur *Aspergillus Fumigatus* et *Candida Albicans*. *Journal of Pharmaceutical, Biological Sciences*, 8(1), 15-23.
10. **Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council*, Réduit, Mauritius. 83-94.
11. **Barata, L. E., Santos, L. S., Ferri, P. H., Phillipson, J. D., Paine, A., & Croft, S. L. (2000).** Anti-leishmanial activity of neolignans from *Virola* species and synthetic analogues. *Phytochemistry*, 55(6), 589-595.

Références bibliographiques

12. **Bekro, Y.A., Bekro, J. A., Boua, B., Tra, Bi., F. H & Ehile, E. (2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpiniaceae). p 217 – 225.
13. **Belbachir, M & Mezaouli, O.E. (2021).** Evaluations phytochimiques et antimicrobiennes de deux plantes médicinales, *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Durieu et *Carthamus tinctorius* L, Cultivées dans la wilaya d'Adrar. Mémoire en Sciences Agronomiques, Université Ahmed Draïa Adrar.
14. **Belhani & Habbaz. (2019).** Activité anti-oxydante, antibactérienne et antidiabétique des différents extraits d'*Ammodaucus leucotrichus*. Mmoire en qualité des produits et sécurité alimentaire. université d'Ouargla. 70 p.
15. **Benahmed, N.E.H. (2017).** Contribution à la recherche de l'effet des extraits d'*Ammodaucus leucotrichus* sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats « Wistar ».Mémoire En Biochimie appliquée. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. 74 p.
16. **Benhammou, N. (2012).** -activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du sud-ouest algérien. Thèse doctorat. université Aboubakr Belkaid. Tlemcen. 174 p.
17. **Bidie, A. P., N'Guessan, B., Yapo, A., N'Guessan, J. D & Djaman, A. J. (2011).** Article original Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée. pp 1-11.
18. **Boizot, N., & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'INRA, INRA, pp.79-82.
19. **Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassilova, E & Saykova, I. (2012).** Etude de l'extraction des composés phénoliques à partir de pellicules d'arachides (*Arachis hypogaea* L). Revue des génie industriel .(7), 35-45.
20. **Bouchouka, E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de Doctorat en science. Université Badji Mokhtar –Annaba. 176 p.
21. **Boudjouef, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia compestris* L. Mémoire de magister en biochimie non publié, université Ferhat Abbas, Sétif.
22. **Bouzid,W. (2009).** Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Mémoire Magister en biologie Université -El Hadj Lakhder-Batna. 88 P.
23. **Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž. & Bren, U. (2016).** Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 21(7), p.901.

Références bibliographiques

24. Brooks, G.F., Butel, J.S., Carroll, K.C. & Morse, S.A. (2007). Jawetz, Melnick, and Medical microbiology. 24th ed. McGraw-Hill. p:254-255. New York.
25. Caesar, M.L.N. (2007). étude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : terminalia catappa l. (combretaceae) et kalanchoe crenata (andr.) haw. (crassulaceae). Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Bamako, Bamako -Mali.
26. Chebrouk, F., Madani, K., Cherfaoui, B., Boukenna, L., Válega, M., & Mendes, R. et al. (2019). Hemi-Synthesis of Chiral Imine, Benzimidazole and Benzodiazepines from Essential Oil of Ammodaucus leucotrichus subsp. leucotrichus. *Molecules*, 24(5), 975. doi: 10.3390/molecules24050975
27. Chouikh, A., Feriani, A., Adjal, E.H. & Cherfrour, A. (2015). Phytochemicals study, antioxidant and antimicrobial activities of *Helianthemum lippii* (L.) Pers. In different stages of growth (somatic, flowering and fruiting). *World J Pharm Pharm Sci*, 4(11): 338-349.
28. Crozier, A., Clifford, M.N., & Ashihara, H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. 1ère Edition, Blackwell Publishing Ltd, Royaume-Uni, 384p
29. Daas amiour, S. (2009). Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) et évaluation in vitro de leur activités biologiques. Mémoire de Magister en biologie Université El-Hadj Lakhdar – Batna. p 160.
30. Dacosta, Y. (2003). les phytonutriments bioactifs. édition Yves dacosta. paris. p 3, 7, 26, 31, 34.
31. Dahmane, D., Dob, T., Krimat, S., Nouasri, A., Metidji, H., & Ksouri, A. (2017). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of medicinal plant *Ammodaucus leucotrichus* from Algeria, *Journal of Essential Oil Research*, 29:1, 48-55.
32. Das, A., Islam, M., Faruk, M., Ashaduzzaman, M., & Dungani, R. (2020). Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal Of Botany*, 135, 58-70. doi: 10.1016/j.sajb.2020.08.008
33. Davies, N. W., J. « *Chromatogr* ». A, 503, (1990), 1.
34. Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traoré, A., Coulibaly, K., & Maiza, A., (2004). Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R.Chimie*, 7:1073-1080.
35. Dif, M.M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L.. *Phytothérapie*. 13. 10.1007/s10298-015-0976-5.

Références bibliographiques

36. **Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, JM., & al. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidants from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol* 48: 2599–2606.
37. **Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetar, Edjo F.E., Ismadji, S., & JU Y.H., (2013).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Linnophila aromatic*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3) : 296-302p.
38. **Dontha, S. (2016).** A review on antioxidant methods. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 14-32.
39. **Dworkin, M.M., & Falkow S. (2006).** Proteobacteria : Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY, p.1248.
40. **Ebringerova, A., Kardosova, A., Hromadkova, Z. & Hribalova, V., (2003).** Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. *Fitoterapia*, vol. 74: 52–61.
41. **El Haci, I., Bekhechi, C., Bekkara, F., Mazari, W., Gherib, M., Bighelli, A., Casanova, J., & Tomi, F. (2014).** Antimicrobial Activity of *Ammodaucus leucotrichus* Fruit Oil from Algerian Sahara. *Natural product communications*. 9. 711-2.
42. **El Haci, I., Mazari, W., Gherib, M., & Bekkara, F.A. (2018).** Evaluation of the Antioxidant Activities of Organic Extracts from *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur Fruit Part Harvested from the Algerian Sahara.
43. **El Haoud, H., Boufellos, M., Berran, A., Tazougart, H & Bengueddour, R (2018).**Phytochemical screening of a medicinal plant: *Mentha Spicata* L. article Kénitra Maroc.7(4): 226-233.
44. **Eyang Esseng, M.M. (2007).** Etude de la phytochimie et des activités antibactériennes et antifongiques de cinq plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des dermatoses au Mali. Thèse de doctorat en Pharmacie , Université de Bamako, Bamako-Mali.
45. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies* 331 372–379.
46. **Fatland, B.L., Ke, J., Anderson, M.D., Mentzen, W.I., Cui, L.W., Allred, C.C.; Johnston, J.L., Nikolau, B.J., & Wurtele, E.S. (2004).**Molecular characterization of a heteromeric ATP-citrate lyase that generates cytosolic acetyl-Coenzyme A in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 130, 740-756.
47. **Fazzeli, H., Akbari, R., Moghim, Sh., Narimani, T., Arabestani, M.R., & Ghoddousi A.R. (2012).** *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients, hospital means, and personnel's specimens. *J Res Med Sci* ; 17(4): 332-7.

Références bibliographiques

48. Fischer, N. H., Oliver, E. J. & Fischer, H. D., (1979). « Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe », 38, 47.
49. Fiuza, S., Gomes, C., Teixeira, L., Da Cruz, M. G., Cordeiro, M., Milhazes, N., & Marques, M. (2004). Phenolic acid derivatives with potential anticancer properties—a structure–activity relationship study. Part 1: Methyl, propyl and octyl esters of caffeic and gallic acids. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12(13), 3581-3589.
50. Fresco, P., Borges, F., Diniz, C., & Marques, M. (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews*, 26(6), 747-766.
51. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselsela, H & Oueld-Mokhtar, S.M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie* (13), 118-129.
52. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
53. Gherraf, N., Zellagui, A., Kabouche, A., Lahouel, M., Salhi, R., & Rhouati, S. (2013).- Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oils of *Ammodaucus leucotrichus*. *Arabian Journal of Chemistry*. Pp. 1-3.
54. Gormaz, J.G., Valls, N., Sotomayor, C., Turner, T & Rodrigo, R.I. (2016). Potential Role of Polyphenols in the Prevention of Cardiovascular Diseases: Molecular Bases. *Current Medicinal Chemistry*, 23(2), 115-128.
55. Gurbuz I., Yesilada E., & Ito S., (2009). An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 360 -365.
56. Halla, N., Heleno, S., Costa, P., Fernandes, I., Calhella, R., & Boucherit, K. et al. (2018). Chemical profile and bioactive properties of the essential oil isolated from *Ammodaucus leucotrichus* fruits growing in Sahara and its evaluation as a cosmeceutical ingredient. *Industrial Crops And Products*, 119, 249-254. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.04.043
57. Harrar, A.E.N. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 73 p
58. Hassanpour, S., Maherisis, N., Eshratkhah, B., & Mehmandar, F.B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins): A review. *Int. J. Forest, Soil Erosion*, 1(1), 47-53
59. Idm'hand, E., Msanda, F., & Cherifi, K. (2020). Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Ammodaucus leucotrichus*. *Clinical Phytoscience*, 6(1). doi: 10.1186/s40816-020-0154-7

Références bibliographiques

60. **Iranshahi, M., Arfa, P., Ramezani, M., Jaafari, M. R., Sadeghian, H., Bassarello, C., Pizza, C.(2007).** Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. *Phytochemistry*, 68(4), 554-561.
61. **Ito, C., Itoigawa, M., Onoda, S., Hosokawa, A., Ruangrunsi, N., Okuda, T., Furukawa, H.(2005).** Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti-tumor promoting effect. *Phytochemistry*, 66(5), 567-572.
62. **Jasim, S.T. & Farhan, A.S. (2020).** Klebsiella Pneumonia: Epidemiology, Virulence Factors and Treatment. P- ISSN 1991-8941 E-ISSN 2706-6703. *Journal of University of Anbar for Pure Science (JUAPS)*. 14 (2) :5 – 10.
63. **Julien, M. (2012).** Classification et influences des polyphénols du bois de chêne sur la qualité sensorielle des vins (Application du procédé Oakscan®). Thèse Doctorat Université de Bordeaux 2, Bordeaux.
64. **Julkunen-Titto R (1985).** Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J Agricult Food Chem* 33: 213–7.
65. **Kabbaj, F., Meddah, B., Cherrah, Y., & Faouzi, E.(2012).** Ethnopharmacological profile of traditional plants used in Morocco by cancer patients as herbal therapeutics. *Phytopharmacology ; 2 (2): 243-256.*
66. **Kebièche, M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de Doctorat. Université Mentouri Constantine.
67. **Kerarsi, H., et Soudani, S. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et cytotoxicité des extraits du cumin velu (*Ammodaucus leucotrichus*). Mmoire en biologie. Université Blida 1. 67 p.
68. **Khoulkhal, F., (2014).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. P 87.
69. **Kouamé, T., Siaka, S., Kassi, A., & Soro, Y. (2021).** Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal Of Biological And Chemical Sciences*, 15(1), 97-105.
70. **Küpeli, E., Erdemoğlu, N., Yeşilada, E., & Şener, B. (2003).** Anti-inflammatory and antinociceptive activity of taxoids and lignans from the heartwood of *Taxus baccata* L. *Journal of ethnopharmacology*, 89(2), 265-270.
71. **Labed, A. (2016).** Investigation phytochimique et biologique de l'espèce *Astragalus armatus*ssp. *Numidicus* (Coss. Et Dur.) Maire. Et Synthèse catalytique de nouveaux dérivés

Références bibliographiques

- julolidines. Thèse de Doctorat en Chimie Pharmaceutique, Université Freres Mentouri, Freres Mentouri-Constantine.
- 72. Lagnika, L. (2005).** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, page : 249.
- 73. Libbey, L. M., Essent, J., (1991).** *Oil Res.* **3**, 192.
- 74. Link, A., Balaguer, F., & Goe, A. (2010).** Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology*, 80(12), 1771-1792.
- 75. Louail, Z. & Kameli, A. & Benabdelkader, T. & Bouti, Karima & Hamza, K. & Krinat, Soumia. (2016).** Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. seeds. *J. Pharm. Sci.* **7**, 2328-2334.
- 76. Louail, Z., Djemouai, N., Krimate, S., Bouti, K., Bouti, S., Tounsi, H., & Kameli, A. (2020).** biological activities of different extracts of *ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus* cosson & durieu from algerian sahara.
- 77. Louail, Z., Kameli, A., Chaouch, F., Bouras, N., Djemouai, N., Bouti, K., Mahdid, M., Tigrine, C., lakache, Z., & Tounsi, H. (2017).** Antimicrobial And Antioxidant Activities Of Acetone Extract Of *Ammodaucus Leucotrichus* Coss. & Dur. Seeds. *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes* ISSN : 1112 -7163.
- 78. Makoi, J.H.R. & Ndakidemi, P.A. (2007).** Biological, Ecological and Agronomic Significance of Plant Phenolic Compounds in Rhizosphere of the Symbiotic Legumes. *African Journal of Biotechnology*, 6, 1358-1368
- 79. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability *The American Journal of Clinical Nutrition* **79**, 727-747.
- 80. Mansouri, A., Embarek G., Kokkalou E. & Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89: 411–420.
- 81. Manssouri, M., El Ouadi, Y., Znini M., Costa, J., Bouyanzer, A., Desjobert, J.M., & Majidi, L.(2015).** Adsorption proprieties and inhibition of mild steel corrosion in HCl solution by the essential oil from fruit of Moroccan *Ammodaucus leucotrichus*. *J. Mater. Environ. Sci*; 6(3): 631-646.
- 82. Manssouri, M., Znini M., El-Harrak A., & Majidi L.(2016).** Antifungal activity of essential oil from the fruits of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., in liquid and vapour phase against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *J App Pharm Sci*; 6 (05): 131-136

Références bibliographiques

83. **Manssouri, M., Znini, M., & Majidi, L. (2020).** Studies on the antioxidant activity of essential oil and various extracts of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. Fruits from Morocco. *Journal Of Taibah University For Science*, 14(1), 124-130. doi: 10.1080/-16583655.2019.1710394
84. **Marfak, A.(2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges
85. **Masalha, M., Borovok, I., Schreiber, R., Aharonowitz, Y., & Cohen, G. (2001).** Analysis of transcription of the *Staphylococcus aureus* aerobic class Ib and anaerobic class III ribonucleotide reductase genes in response to oxygen. *J Bacteriol* 183:7260-7272.
86. **Maurice, N.(1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du le siècle. Ed. Lavoisier, Paris, p. 12-14.
87. **Middleton, E., Kandaswami, C.,& Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839
88. **Mohammedi, H., Idjeri-Mecherara, S., Menaceur, F., Azine, K., & Hassani, A. (2018).** Chemical Compositions of Extracted Volatile Oils of *Ammodaucus leucotrichus* L. Fruit from Different Geographical Regions of Algeria With Evaluation of its Toxicity, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activities. *Journal Of Essential Oil Bearing Plants*, 21(6), 1568-1584. doi: 10.1080/-0972060x.2018.1559102
89. **Morand, C. (2014).** Intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le Maintien de la santé cardio-métabolique. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 8(5), 477–482.
90. **Muanda, F.N. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. PhD thesis, Université Paul Verlaine-Metz, Metz. P 269.
91. **Muckenstrum, B., Diyani, F., Le Nouen, D., Fkih-Tetouani, S., & Reduron, J. P. (1997).** Ammolactone, a guaianolide from a medicinal plant, *Ammodaucus leucotrichus*. *Phytochemistry*, vol. 44: 907–910.
92. **N'Guessan, K., Adja, B. K., Zirihi, G. N., Dossahoua Traoré, D., & Kéassi, L. K.(2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci. Nat. Vol. 6 N°1: 1 – 15.*
93. **NACZK, M., SHAHIDI, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and Vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm Biomed Anal*, 41: 1523-1542 (1527).
94. **Nithiyantham, S., Selvakumar, S & Siddhuraju, P. (2012).** Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L And *Pisum sativum* L. *Journal of Food composition and analysis* (27), 52-60.

Références bibliographiques

95. Okamura, H., Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M., & Takahara, Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry* 33: 557-561.
96. Palumbo, F., Vannozzi, A., & Barcaccia, G. (2021). Impact of Genomic and Transcriptomic Resources on Apiaceae Crop Breeding Strategies. *Int. J. Mol. Sci*, 22, 9713. <https://doi.org/10.3390/ijms2218971>.
97. Percival, S.L. (2004). *Microbiology of waterborne diseases*. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, p. 480.
98. Petrusa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A. (2013). Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. *International Journal Of Molecular Sciences*, 14(7), 14950-14973. doi: 10.3390/ijms140714950.
99. Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269(2): 337-341.
100. Rai, S., Wahile, A., Mukherjee, K., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2006). Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *Journal of ethnopharmacology*, 104(3), 322–327.
101. Rajbhar, K., Dawda, H., & Mukundan, U. (2015). Polyphenols : methods of extraction .*Sci. Revs. Chem. Commun.* 5(1).2
102. Rasouli, H., Farzaei, M., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal Of Food Properties*, 1-42. doi: 10.1080/10942912.2017.1354017.
103. Rebiai, A., Lanez, T., & Chouikh, A. (2015). Physicochemical and biochemical properties of honey bee products in South Algeria. *Scientific Study & Research Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry* 16(2): 133-142.
104. Rhazi, N. (2015). *Mise au point de mélanges collants écologiques d'Acacia mollissima du Maroc*. Thèse de doctorat L'Université Hassan II de Casablanca-Maroc & L'Université de Pau et des Pays d'Adour-Franc.
105. Rira, M. (2006). *Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins*. Mémoire de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées. Université Mentouri, Constantine. 87p.
106. Roux, D & Catier, O. (2007). *Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie*. Wolters Kluwer France Edition. P 74.
107. Saffidine, K. (2015) .*Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L.* Thèse Doctorat en Sciences Université Ferhat Abbas –Sétif. P 132.

Références bibliographiques

- 108.Saffidine, K., Sahli, F.,& Zerroug, M. M. (2015).** Antioxidant and antimicrobial activities of *Plantago major*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 7, no. 5, p. 58-64.
- 109.Saidi, I. (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des Fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat : Université El Djillali Sidi Abbès (Algérie). 179p.
- 110.Sannomiya, M., Fonseca, V.B., Dasilva, M.A., Rocha, L.R.M., DosSantos, L.C., HirumaLima, C A., Britoc, A.R.M.S., & Vilegas, W. (2005).** Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 1- 6
- 111.Scalbert A. (2004).** Fruits et légumes, polyphénols et santé, Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand. <http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/fruits-et-legumes-polyphenols-et-sante-1026>.
- 112.Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., & Rémésy, C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:287–306 .
- 113.Scherer, R., & Godoy, H.T. (2009).** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, vol. 112, no. 3, pp. 654-658.
- 114.Sebaa, A., Marouf, A., Kambouche, N., & Derdour, A. (2017).** Phytochemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Ammodaucus Leucotrichus* Fruit from Algerian Sahara. *Oriental Journal Of Chemistry*, 34(1), 519-525. doi: 10.13005/ojc/340158
- 115.Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, G.D. & Cokk H. (2007).** The in vitro antibacterial activity of dietary spiece and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Chemistry*, 117:112-119
- 116.Shankar, S., singh, B.N.,& Srivastava, R.K. (2012).** plant polyphenols and their role in cancer prevention and chemotherapy. in: shankar s., srivastava r. (eds) nutrition, diet and cancer. springer, dordrecht. doi: 10.1007/978-94-007-2923.
- 117.Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. & Khoshnoodi, M. (2007).** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18, 800–805.
- 118.Sharma, K. (2019).** Tannin degradation by phytopathogen's tannase: A Plant's defense perspective. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 21, 101342. doi: 10.1016/j.bcab.2019.101342
- 119.Sieniawska, E. (2015).** Activities of Tannins – from in Vitro Studies to Clinical Trials. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001.

Références bibliographiques

- 120.Singh, J.(2008).** Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants, in Extraction technologies for medicinal and aromatic plants, Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakesh, D.D, International centre for science and high technology, Trieste, Italie
- 121.Singleton, V.L., Rossi J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture. 16(3), 144-158.
- 122.Stagos, D., Amoutzias, G.D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A.M., & Kouretas, D. (2012).** Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. Food and Chemical Toxicology, 50(6), 2155– 2170.
- 123.Stanković, MS (2011).** Total phenolic content, flavonoid Concentra- tion and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L extracts. Kragujevac J Sci 33: 63–72
- 124.Talbi, M.(2015).** Dosage des polyphénols de la plante d'Artémisia campestris. L Par chromatographie HPLC, mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de Magister. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella
- 125.Timbo, B .(2003).** Etude photochimique et des activités biologiques de Trichiliaemetica VAHL. Thèse de doctorat .Faculté de Médecine, de Pharmacie.15p.
- 126.Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2(12), 1231-1246.
- 127.Tsao, R., M.C. Callum, J. (2009).** Chemistry of Flavonoids. In Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value and Stability; de la Rosa, L.A., Alvarez-Parrilla, E., Gonzalez-Aguilar, G., Eds.; Blackwell Publishing: Ames, IA, USA, Chapter 5, pp.131-153.
- 128.Urquiaga, I., & Leighton, F. (2000).** Plant polyphenol antioxidant and oxidative stress.Biological Research, 33(2): 55–64.
- 129.Velomalala, N.M., Raherimandimby, M.,& Ramamonjisoa, D.(2013).**Extraction des molécules actives contenues dans les feuilles de Senecio faujasioïdes (Asteraceae). Journal International de Santé au Travail, 1, 41-50.
- 130.Yang, L., Jelsbak, L., Marvig, R. L., Damkiær, S., Workman, C.T.R., & al. (2011) .** Evolutionary dynamics of bacteria in a human host environment. Proc Natl Acad Sci U S A ;108:7481-6.
- 131.Yoon, J.H & Baek, S.J. (2005).** Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. Yonsei Med J. 31. Vol 46(5): 585-596.

Références bibliographiques

- 132.Zergui, F. Z. (2016).** Contribution à l'étude phytochimique et possibilités de valorisation d'une espèce dunaise du littoral oranais *Matthiola sinuata* (L).RBr.1812. Mémoire Magister en biologie Université Djillali Liabes - Sidi Bel Abbes. p 17.
- 133.Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y .L., & Sun X. (2009).** Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Science*. 81: 686-692.

Annexes

ANNEXE I : Dosage des composées phénoliques et flavonoïdes

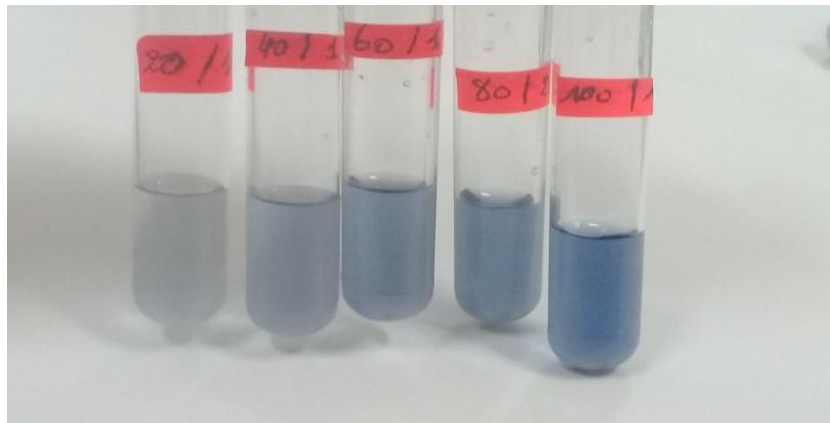


Figure 1: Dosage de polyphénol totaux (acide gallique)

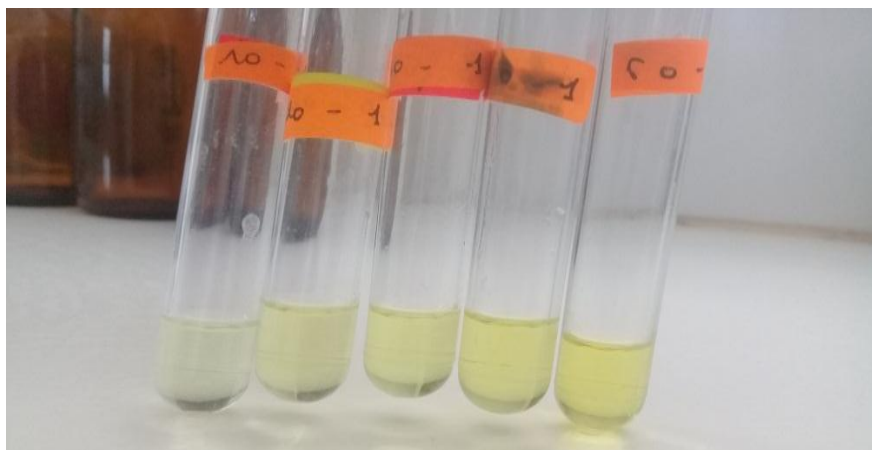


Figure 2: Dosage de flavonoïde (quercetine)

ANNEXE II : Tests antioxydants

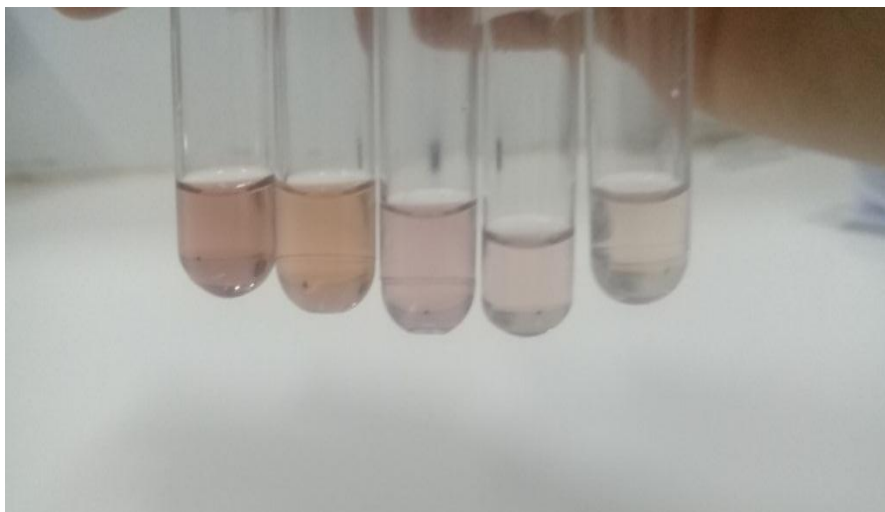


Figure 1: Réduction de radical libre (DPPH)

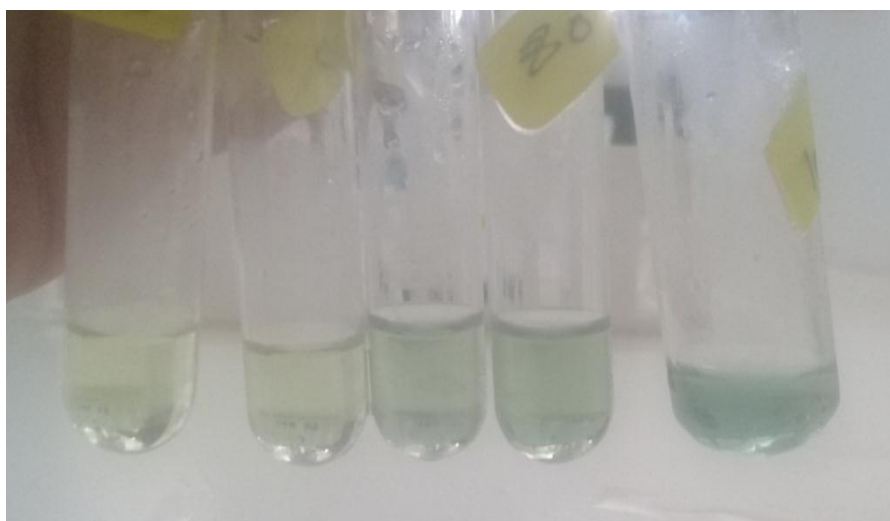


Figure 2: Test de phosphomolybdate (PPM)

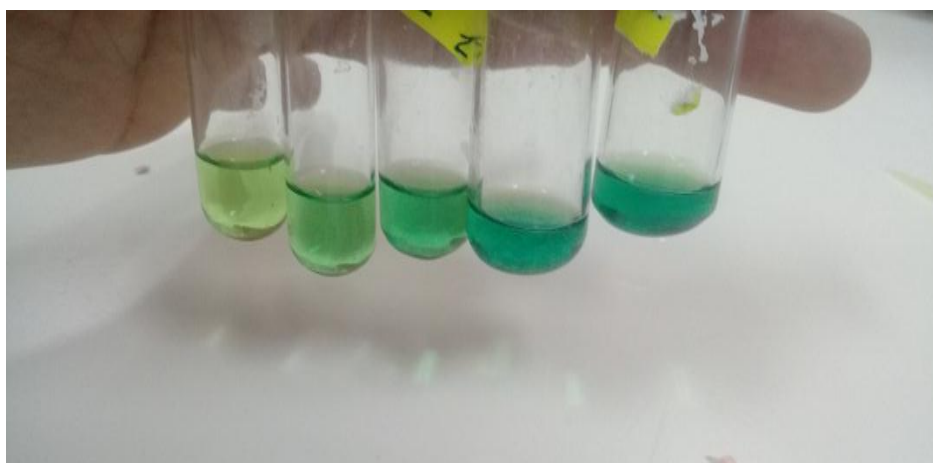


Figure 3: Pouvoir réducteur de l'ion féérique (FRAP)

ANNEXE III : Les types des appareils utilisés au cours de l'expérimentation

		
<p>Agitateur magnétique</p>	<p>Balance de précision</p>	<p>Balance électrique</p>
		
<p>Evaporateur rotatif (Büchi Rotavapeur R- 200)</p>	<p>Bain marie</p>	<p>Étuve</p>
		
<p>Spectrophotomètre</p>	<p>Autoclave</p>	<p>Étuve de 37 pour les bactérie</p>