



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire N série:.....  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الشهيد حمّة 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

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques  
Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

Contribution à l'étude de la phytochimique et biochimique  
La Plante (Larta) *Calligonumn comosum* l'her  
dans la région d'El-Oued

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> BEKAKRA Mouna

M<sup>elle</sup> MERZOUG Fatima

Devant le jury composé de :

|                |                              |                              |
|----------------|------------------------------|------------------------------|
| Président :    | Mr. Boutlilice J.A.          | M.A.B, Université d'El Oued. |
| Examinatrice : | M <sup>elle</sup> . NADJI N. | M.A.A, Université d'El Oued. |
| Promoteur :    | Mr. KHALEF Y.                | M.A.B, Université d'El Oued. |

- Année universitaire 2016/2017-

## Dédicaces

À l'aide de dieu "Allah" tout puissant  
Qui m'a tracé le chemin de ma vie. J'ai pu réaliser ce travail.  
Je dédie ce travail à ma famille spécialement aux personnes  
les plus chères au monde.

Mes Chers parents **MERZOUG Messaoud** et **BANI Aïcha** qui  
sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le  
bonheur de ma vie. Qui m'ont apportés son appui durant  
toutes mes années d'études, pour ses sacrifices et soutien  
et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage  
et la sécurité.

À ma très belle hère sœur unique : **Meriem.**

À mes très chers frères : **Ahmed, Salim,**  
**Merzoug, Boubaker, Abdelkader.**

À mes chères amies: **María, Mouna, Salima**  
**,Aouatef, Laïla ,**

Je remercie toute les personnes que je n'ai pas pu citer leurs  
noms ici, et qui ont participé de près ou de  
loin, directement ou indirectement à la  
Réalisation de ce travail.

À tous ceux qui aiment la science.

*Lynda*

# *Dédicace*

*M'*aide de **ALLAH** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de  
ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le  
Bonheur de*

*Ma* vie ma **mère** qui m'a apporté son appui durant toutes mes  
Années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné  
Confiance, courage et sécurité.

*A* mon cher **père** qui m'a appris le sens de la persévérance tout  
au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses  
Encouragements.

*A* mes **sœurs et frères**

*A* toute ma **famille**, proche ou éloignée

*A* mes **amis**.

*Mouna*

# Remerciements

Avant tout nous remercions *ALLAH* tout puissant de nous avoir

Donné la Patience, la force et le courage pour réaliser cette étude.

L'achèvement de ce travail laborieux n'aurait pu se faire

Sans la présence et la collaboration de plusieurs personnes. Chacune d'elles ayant été pour nous d'une grande importance tout le long de ce périple.

Un grand merci à *Mlle NADJI Nassima* qui nous avons honoré en acceptant la présidence du jury de notre présente mémoire

Aussi, nous tenons à exprimer également notre profonde reconnaissance à *Mlle Alouche Djanet* d'avoir accepté d'examiner notre travail. Nous tenons à lui exprimer notre grand respect.

Les plus sincères remerciements s'adressent à notre encadreur monsieur *KHELEF Yahia* pour ses orientations, sa rigueur scientifique pour la confiance qu'elle nous a accordé durant cette étude à suivre nos travaux avec intérêt tout en nous prodiguant des conseils toujours justes et il a su nous redonner le Courage et nous aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute.

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire de valorisation et technologie des ressources sahariennes (VTRS) à l'Université ECHAHID HAMMA LAKHDAR d'El – Oued sous la direction de Monsieur *Pr. LANEZ* qui a mis à notre disposition tout le matériel nécessaire et disponible pour bien mener ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à *Mr TLIBA Mohammed Ali, CHOUIKH Atef* pour avoir participé par leurs conseils respectifs de cette recherche, Nous tenons à remercier beaucoup *M<sup>elle</sup> ZEGHIB Khaoula* et

*M<sup>elle</sup> ADJAL Elhadida* pour leurs aides.

Nous remercions également tous les amis et les collègues de la promotion de biologie 2016/2017.

Enfin, nous tenons à remercier toute personne nous a aidé de près ou de loin à réaliser cette étude.

## RESUME

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de la variation d'environnement de la région (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim et El-Oued) sur les principes actifs et leur activité biologique de plante *Calligonum comosum* L'her (Larta) qui pousse dans la région d'El-oued (Est Sud d'Alger). On a fait l'étude phytochimique et biochimique d'extrait de plante. On a pris en compte les mesures de différents paramètres tels que le pH, les composés phénoliques et les protéines, de même, on a testé l'activité des antioxydants et l'activité enzymatique de partie aérienne (feuilles) de la plante aux différents régions (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim et El-Oued). D'après cette étude, on a enregistré un pH de plante varie entre (4.2 à 4.7), aussi un pourcentage de rendement plus élevé pour plante de Taghzout (9.16%) et la plante de Hassani Abdelkrim (8.98%), et la plante de Guemar (7.76%) El-Oued (7.48%). En ce qui concerne le dosage quantitatif des polyphénols, on remarque la quantité la plus élevée chez plante de Taghzout ( $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS), suivi par échantillon de Guemar ( $3.25 \pm 0.11$  mg EAG/g EXS) et Hassani Abdelkrim ( $3.04 \pm 0.03$  mg EAG/g EXS). Enfin l'extrait de région El-Oued ( $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS). Les tests utilisés pour l'estimation de l'activité antioxydant sont: capacité antioxydante total (CAT), piégeage de radical libre DPPH et pourcentage d'inhibition la lyse de globule rouge. Le test des bonnes valeurs notamment chez plante de (Guemar:  $2.574 \pm 0.074$  mg EAG/g EXS) et (Taghzout:  $2.539 \pm 0.039$  mg EAG/g EXS), aussi les extraits (Hassani Abdelkrim) donnent des valeurs importantes ( $2.391 \pm 0.091$  mg EAG/g EXS) et (El-Oued:  $2.023 \pm 0.023$  mg EAG/g EXS). Les valeurs (pourcentage d'inhibition) IC50 montrent des valeurs importantes chez plante de Hassani Abdelkrim qui sont ( $0.050 \pm 0.006$  mg/ml) chez plante de Guemar est  $0.052 \pm 0.00$  mg/ml), mais les valeurs d'IC50 faibles chez des extraits (Taghzout:  $0.063 \pm 0.0005$  mg/ml et ( $0.071 \pm 0.002$  mg/ml chez El-Oued). Taghzout en remarque un Pourcentage d'inhibition de la lyse des globules rouge très élevée par rapport acide ascorbique ( $26.163\% \pm 0.949$ ). Concernent les paramètres biochimiques et enzymatiques, on a montré que la bonne quantités de protéine et GSH enregistre chez plante de (Hassani Abdelkrim et El-Oued) respectivement, plante de Taghzout est caractérisée par une bonne activité de CAT tandis que on remarque la bonne activité de GST enregistre chez plant de El-Oued. Nos résultats ont montré qu'il y a des différences très hautement significative entre les quatre régions d'*Calligonum comosum* L'her vis-à-vis la plupart des paramètres dosés.

**Mots clé :** *Calligonum comosum* L'her, phytochimique, régions, l'activité anti oxydantes, l'activité enzymatique, zone saharienne

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير التباين البيئي في المناطق على المادة الفعالة ونشاطها البيولوجي لنبات (الأرطى) . *Calligonum comosum* L. النامي في منطقة الوادي (جنوب شرق الجزائر) اجريت الدراسة الفيتو كيميائية والبيوكيميائية للمستخلصات النباتية. مثل درجة الحموضة ، والمركبات الفينولية والبروتينات ، وأيضا تم اختبار النشاطية المضادة للأكسدة و النشاطية الإنزيمية في الجزء الهوائي ( أوراق) للنبات من مختلف المناطق (تغزوت ، قمار ، حساني عبد الكريم و الوادي). سجلت درجة حموضة النبات تتراوح بين(4.2-4.8) ، و نسبة المرودية الأعلى سجلت لدى نبات تغزوت ( 9.16% ) يليها نبات حساني عبد الكريم(8.98%) ، قمار ( 7.46% ) و الوادي ( 7.48%). اما فيما يخص تحديد كمية عديد الفينول ، فسجلت أعلى كمية لدى نبات تغزوت (  $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS ) تليها عينة قمار (  $3.25 \pm 0.11$  mg EAG/g EXS ) وحساني عبد الكريم (  $3.04 \pm 0.03$  mg EAG/g EXS). أخيرا نبات الوادي (  $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS). الاختبارات المستخدمة لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة هي: القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، اقتناص الجذر الحر DPPH و قدرة المستخلص على حماية كريات الدم من الانحلال. اختبار CAT اعطى قيم جيدة خصوصا في (نبات قمار:  $2.574 \pm 0.074$  mg EAG/g EXS ) ونبات (تغزوت :  $2.539 \pm 0.039$  mg EAG/g EXS) ، و أيضا مستخلص (حساني عبد الكريم) اعطى قيمة معتبرة (  $2.391 \pm 0.091$  mg EAG/g EXS) و نبات الوادي : (  $2.023 \pm 0.023$  mg EAG/g EXS) . قيم القدرة التثبيطية IC 50 تظهر عالية في نبات (حساني عبد الكريم) هي  $0.050 \pm 0.006$  mg/ml و قمار  $0.052 \pm 0.00$  mg/ml ، على عكس منطقة ( تغزوت :  $0.063 \pm 0.0005$  mg/ml) و(الوادي:  $0.071 \pm 0.002$  mg/ml ) كانت قيمة IC50منخفضة. نبات تغزوت سجل نسبة تثبيط تحلل خلايا الدم الحمراء عالية جدا مقارنة بالشاهد حمض الاسكوربيك ( $26.163\% \pm 0.949$  mg/ml). فيما يخص المعايير البيوكيميائية والأنزيمية، أظهرت النتائج أن الكمية المعتبرة من البروتين و GSH سجلت لدى نبات (حساني عبد الكريم و الوادي ) على التوالي، يتميز نبات تغزوت بنشاطية انزيمية جيدة ل Catalase في حين يلاحظ النشاطية الجيدة ل GST سجلت لنبته الوادي. وأظهرت نتائجنا أن هناك اختلافات م جد عالية المعنوية بين الأربع مناطق ل *Calligonum comosum* L'her في معظم المعايير المدروسة.

**الكلمات المفتاحية:** *Calligonum comosum* L. , مناطق ، فيتوكيميائية ، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية الانزيمية ، نبات صحراوي .

## LISTE DES FIGURES

| Numéro           | Titre  | Page |
|------------------|--|------|
| <b>Figure 1</b>  | Origine de la biosynthétique des métabolites secondaires   | 04   |
| <b>Figure 2</b>  | Structure d'unité de base des polyphénols  | 05   |
| <b>Figure 3</b>  | Exemples d'acide phénoliques   | 06   |
| <b>Figure 4</b>  | Structure de base des flavonoïdes  | 06   |
| <b>Figure 5</b>  | Structure de base tanins hydrolysables   | 08   |
| <b>Figure 6</b>  | Structure de quelques tanins hydrolysables   | 08   |
| <b>Figure 7</b>  | Structure de base des tanins condensés   | 09   |
| <b>Figure 8</b>  | Structure d'un stilbène  | 09   |
| <b>Figure 9</b>  | Structure des lignanes   | 10   |
| <b>Figure 10</b> | Structure de base de coumarine   | 10   |
| <b>Figure 11</b> | structure de base de la molécule isoprène  | 11   |
| <b>Figure 12</b> | Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie       | 19   |
| <b>Figure 13</b> | Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés | 22   |
| <b>Figure 14</b> | Rôle central des enzymes antioxydants dans la cascade oxydante   | 24   |
| <b>Figure 15</b> | Cycle oxydo-réducteur du glutathion  | 26   |
| <b>Figure 16</b> | structure de thiol   | 27   |
| <b>Figure 17</b> | structure de l'acide ascorbique  | 27   |
| <b>Figure 18</b> | structure de vitamine E  | 28   |
| <b>Figure 19</b> | structure de $\beta$ -Carotène   | 28   |
| <b>Figure 20</b> | géolocalisation de la région d'EL Oued Souf  | 31   |
| <b>Figure 21</b> | Photographie de l'espèce de ( <i>Calligonum comosum</i> L'her)   | 33   |
| <b>Figure 22</b> | Structure de DPPH et DPPH <sup>•</sup>   | 37   |
| <b>Figure 23</b> | Variation de valeur pH de plante étudiée   | 44   |
| <b>Figure 24</b> | variation de rendement des extraits obtenus à partir la plante étudiée                                       | 45   |
| <b>Figure 25</b> | Variation de teneurs en phénols totaux des quatre extraits.  | 46   |
| <b>Figure 26</b> | variation de capacité antioxydant total de différent extrait   | 47   |

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Figure 27</b> | variation de valeur IC50 des différents extraits.                    | 48 |
| <b>Figure 28</b> | variation de pourcentage d'inhibition du test hémolyse               | 49 |
| <b>Figure 29</b> | variation de quantité de protéines dans les matières fraîches        | 50 |
| <b>Figure 30</b> | variation de la quantité du GSH en fonction des différentes régions. | 51 |
| <b>Figure 31</b> | variation de l'activité de catalase                                  | 52 |
| <b>Figure 32</b> | variation de l'activité de glutathion S-transférase (GST)            | 53 |

## LISTE DES TABLEAUX

| <b>Numéro</b>    | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|------------------|---|-------------|
| <b>Tableau 1</b> | Structures chimiques de quelques flavonoïdes                              | 07          |
| <b>Tableau 2</b> | principaux types de coumarines  | 11          |
| <b>Tableau 3</b> | Quelques exemples des différents types de terpenoïdes                     | 12          |
| <b>Tableau 4</b> | quelques exemples des alcaloïdes  | 13          |
| <b>Tableau 5</b> | Les principales espèces oxygénées réactives                               | 15          |
| <b>Tableau 6</b> | Classification scientifique de <i>Calligonum comosum</i> L'her            | 33          |
| <b>Tableau 7</b> | Rendements des extraits obtenus à partir plantes récolte à quatre régions | 44          |

## SOMMAIRE

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| <b>Dédicaces</b>          |           |
| <b>Remerciements</b>      |           |
| <b>Résumés</b>            |           |
| <b>Liste des figures</b>  |           |
| <b>Liste des tableaux</b> |           |
| <b>Introduction</b> ..... | <b>02</b> |

### PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 1 : Les metabolites secondaires

|                              |    |
|------------------------------|----|
| I.1.1 Définition.....        | 3  |
| I.1.2. Biosynthèse.....      | 3  |
| I.1.3. Classification .....  | 4  |
| I.1.3.1. Polyphénols .....   | 4  |
| I.1.3.2. les terpènes .....  | 11 |
| I.1.3.3. les alcaloïdes..... | 12 |

#### Chapitre 2 : système oxydant et antioxydant

|  |    |
|--|----|
| I 2.1. Systemes oxydant .....  | 14 |
| I.2.1.1. Stress oxydatif .....   | 14 |
| I.2.1. 2. Les espèces réactives de l'oxygène .....                                     | 14 |
| I.2.1. 3. Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène .....       | 15 |
| I.2.1. 4. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire..... | 19 |
| I.2 2. Conséquences biochimiques du stress oxydant.....                                | 20 |
| I.2 2. Systèmes antioxydants.....  | 23 |
| I 2.2.1. Système antioxydant enzymatique .....   | 24 |
| I 2.2.2. système antioxydant endogène non enzymatique.....                             | 26 |
| I 2.2.3. Antioxydants d'origine végétale .....   | 29 |

### DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

|  |    |
|--|----|
| II.1. presentation de site d' etude .....            | 31 |
| II.2. Matériels végétaux .....                       | 32 |
| II.2.1. Récolte de la plante .....                   | 34 |
| II.2.2. Préparation de échantillon.....              | 34 |
| II.3. Matériel technique d'étude au laboratoire..... | 34 |
| II.4. Méthode d'analyse .....                        | 34 |

|   |    |
|---|----|
| II.4.1. Mesure de pH .....  | 34 |
| II.4.2. Extraction des composés phénoliques .....                                     | 34 |
| II.4.3. dosage des polyphénols totaux .....   | 35 |
| II.4.4. Evaluation de pouvoir antioxydant .....                                       | 35 |
| II.4.4.1. Activité antioxydante totale (TAC).....                                     | 36 |
| II.4.4.2. Piègeage du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH <sup>•</sup> ) ..... | 36 |
| II.4.4.3. Application du test biologique ( test hémolyse ).....                       | 38 |
| II.4.5. Analyses biochimiques .....   | 39 |
| II.4.5.1. Dosage des Protéines totales .....  | 39 |
| II.4.5.2. Dosage d'activité Le Glutathion (GSH) .....                                 | 39 |
| II.4.6. Evaluation l'activité enzymatiques .....                                      | 41 |
| II.4.6.1. Dosage de l'activité Catalase (CAT).....                                    | 41 |
| II.4.6.2. Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST) .....                   | 42 |
| II.4.7. Etude statistique .....   | 43 |

### PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

|   |    |
|---|----|
| III.1. Résultats .....  | 44 |
| III.1.1. Potentiel d'hydrogène (pH) .....                     | 44 |
| III.1.2. Rendement d'extraction des composés phénoliques..... | 44 |
| III.1.3. Quantification des polyphénols totaux (PPT) .....    | 45 |
| III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante .....          | 46 |
| III.1.5. Evaluation l'activité non enzymatiques.....          | 49 |
| III.1.6. Evaluation l'activité enzymatiques.....              | 51 |
| III.2. Discussion générale .....                              | 54 |
| Conclusion générale.....                                      | 62 |
| Références bibliographiques .....                             | 65 |
| Annexes.....  | 83 |

résumé et mots-clés

# *LISTE DES ABREVIATIONS*

---

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

|                         |   |
|-------------------------|---|
| <b>AGPI</b>             | Acides gras polyinsaturés.                                |
| <b>ANOVA</b>            | Analysis of variance.                                     |
| <b>ASS</b>              | Acide sulfosalysilique.                                   |
| <b>CAT</b>              | Capacité antioxydant totale (Total antioxidant capacity). |
| <b>IC50</b>             | Concentration inhibitrice à 50%.                          |
| <b>Cu-Zn</b>            | Cuivre et le Zinc.  |
| <b>DO</b>               | Densité optique   |
| <b>DPPH</b>             | 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl                            |
| <b>EDTA</b>             | Acide éthylènediaminetetraacétique                        |
| <b>ERO</b>              | Espèces Réactives Oxygénées.                              |
| <b>ERN</b>              | Espèces Réactives Azotées.                                |
| <b>EXS</b>              | Extrait sec   |
| <b>FAD</b>              | Flavine adénine dinucléotide .                            |
| <b>Fe<sup>+3</sup></b>  | Ions ferriques.   |
| <b>FeCl<sub>3</sub></b> | Chlorure de fer.  |
| <b>GPx</b>              | Glutathion – Peroxydases.                                 |
| <b>GR</b>               | Glutathion Réductase.                                     |
| <b>GSH</b>              | Glutathion.   |
| <b>GSSG</b>             | Glutathion Disulfide.                                     |
| <b>GST</b>              | Glutathion S-Transférase.                                 |

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

|   |  |
|---|--|
| <b>HCl</b>  | Acide Chlorhydrique.   |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>                 | Peroxyde d'hydrogène.  |
| <b>HOCl</b>                                       | Acide Hypochlorique.   |
| <b>H<sub>3</sub>PM<sub>12</sub>O<sub>40</sub></b> | Phosphomolybdique  |
| <b>IPP</b>  | Isopentenylpyrophosphate   |
| <b>LPO</b>  | Peroxydation lipidique.  |
| <b>Min</b>  | Minute.  |
| <b>NAD<sup>+</sup></b>                            | Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide (forme oxydée).                      |
| <b>NADPH</b>                                      | Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide-Phosphate.                           |
| <b>No<sup>-</sup></b>                             | Anion Nitroxyl.  |
| <b>8-OHDG</b>                                     | <b>8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine.</b>                                     |
| <b>ROS</b>  | Reactive Oxygen Species.   |
| <b>µg EAG/g MS</b>                                | Microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche. |

# *Introduction*

## INTRODUCTION

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. (**Lhuillier , 2007**). Les végétaux constituent depuis toujours une importante ressource naturelle pour les sociétés humaines (**Sato et al.,2001**). Ils servent à la fois pour l'alimentation et la confection d'autres biens de consommations nécessaires aux sociétés. Les plantes fournissent également de nombreux composés, tels que les arômes, les antioxydants, les huiles, les parfums, les cosmétiques et les molécules actives (médicaments). (**Vu, 2008**).

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en développement, sur 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. Et malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (**Larabaet al ., 2016**). Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi, 2008**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculo-protecteurs, ant-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (**Bahorun , 1997**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (**Hechifa et Merad ,2015**).

L'étude de la phytochimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière

# INTRODUCTION

---

végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

L'Algérie, pays connu pour sa biodiversité, dispose d'une flore particulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques (**Quezel et Santa, 1963**). Ce potentiel floristique est constitué de plantes médicinales, toxiques et condimentaires, est peu exploré du point de vue chimique et pharmacologique. En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de milliers d'années et surtout au Sahara (**Gori et Tebbale, 2014**).

C'est pourquoi, nous sommes intéressés à étudier une des plantes sahariennes reconnues médicinales traditionnelle, poussant dans la zone Oued Souf. Ce travail a pour objet d'évaluer l'influence de la variation d'environnement des quatre régions (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim, El-Oued) sur les principes actifs de la plante *Calligonum comosum* L'her par des analyses qualitatives et quantitatives de phytochimie et sur l'activité antioxydante.

Notre problématique est - de savoir si cette plante contient les polyphénols, les protéines en outre si elle possède d'une activité antioxydante ? On prend en considération la variation d'environnement de la région ?

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des métabolites secondaires. Le second chapitre est consacré à un rappel sur le stress oxydant et différents antioxydants enzymatique et non enzymatiques. Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit l'étude phytochimique et biochimique d'extrait. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale, les annexes et la liste des références bibliographiques.

*Première partie :*  
synthèse bibliographique

*Chapitre I*: métabolites  
secondaires

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

---

## I.1. Métabolites secondaire

### I.1.1. Définition

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires. **(Mohammedi, 2013)**. Sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. **(Bouchama et Yezza, 2014)**.

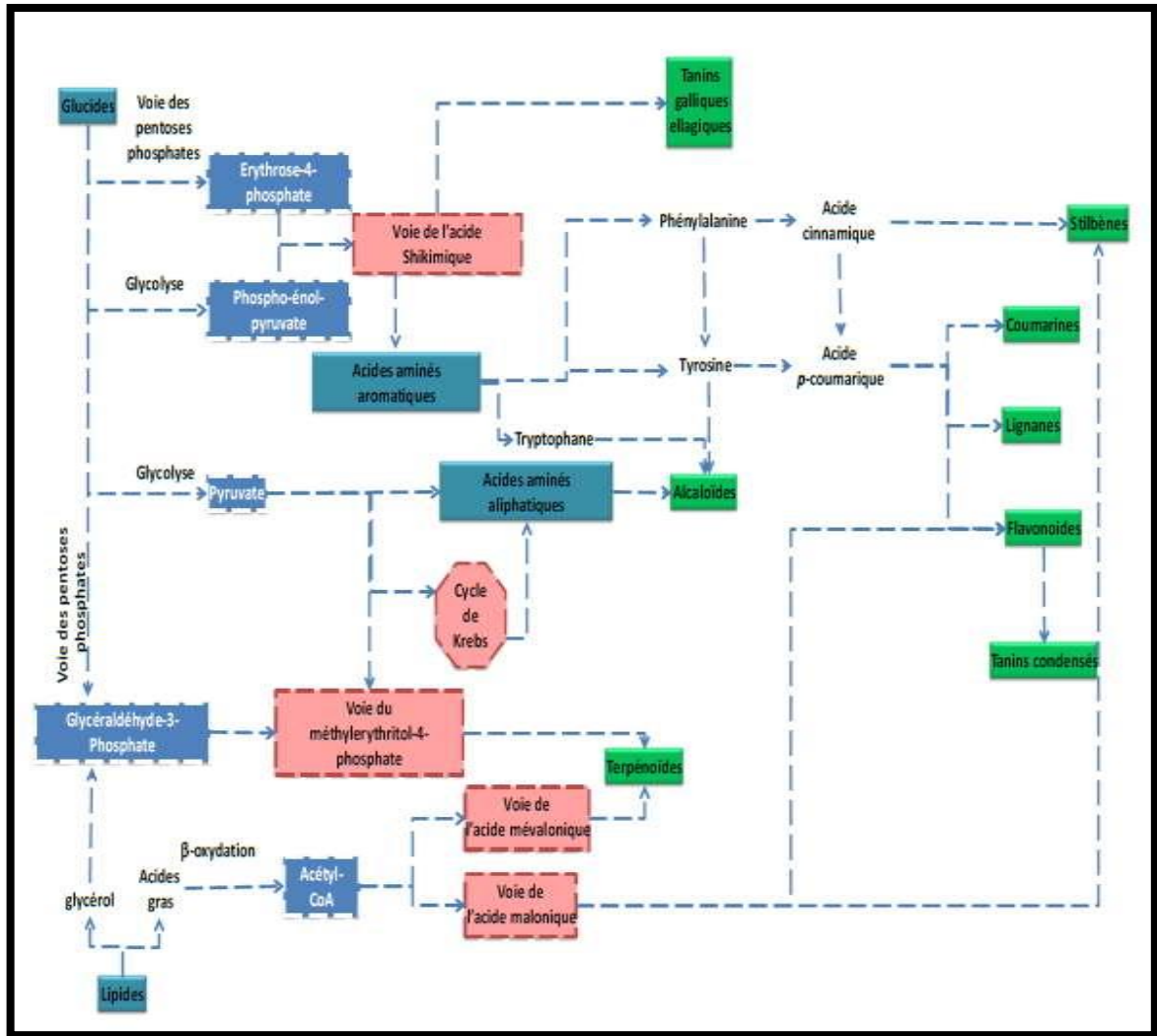
Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, la concurrence entre les plantes et le stress abiotique comme dessiccation et radiation UV. Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées **(Hartmann, 2007)**. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes. **(Boudjouref, 2011)**.

### I.1.2. Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse (Fig.1) la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate **(Aref et Heded, 2015)**.

La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoénolpyruvate, acétylCoA), de la voie des pentoses phosphate (glycéraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glycéraldéhyde-3-P et acétyl-CoA). Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires **(Mayer, 2004)**.

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories : ils peuvent être de type phyto anticipines ou de constitution, C'est-à-dire synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo **(Litvak et Monson, 1998)**.



**Figure 1:** La biosynthétique des métabolites secondaires (Arefet et Heded, 2015).

### I.1.3. Classification

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, Ils appartiennent à trois grandes familles: Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins) et les quinones. Les terpénoïdes et leurs dérivés. Les alcaloïdes (Merghem, 2009). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Bruneton, 1993).

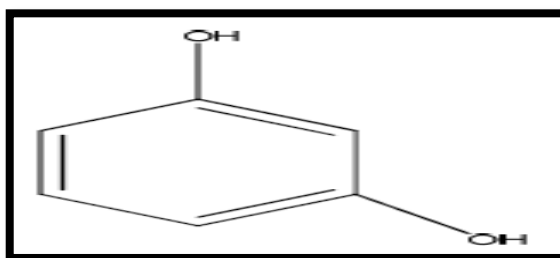
#### I.1.3.1. Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules largement présente dans le règne végétal (Hugues *et al.*, 2011), où ils existent sous forme libre ou glycosylée. Leur caractère ubiquiste fait qu'on les retrouve déjà chez les végétaux inférieurs (Bryophytes). (Zga, 2010). Dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006). Contribuent à la qualité organoleptique des aliments

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement. (Loïc ,2011).

Ils ont élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Fig.2).(Gobbi et Khebbaz , 2014 ).Ces composés varie, des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules hautement polymérisées (tanins condensés).Les polyphénols sont réparti en plusieurs classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, Les tanins, Les stilbènes, Les lignanes et les coumarines (Hopkins, 2003).



**Figure 2:** Structure d'unité de base des polyphénols. (Ghnimi ,2015).

## I.1.3.a. Les acides phénoliques

Ces composés sont dérivés de deux sous groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique (fig.3). Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Et présents chez toutes les céréales. (Bouchama et Yezza,2014).

Les acides phénoliques pourraient par conséquent jouer Un rôle important parois Végétales. (Jehl *et al.*, 1995).

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

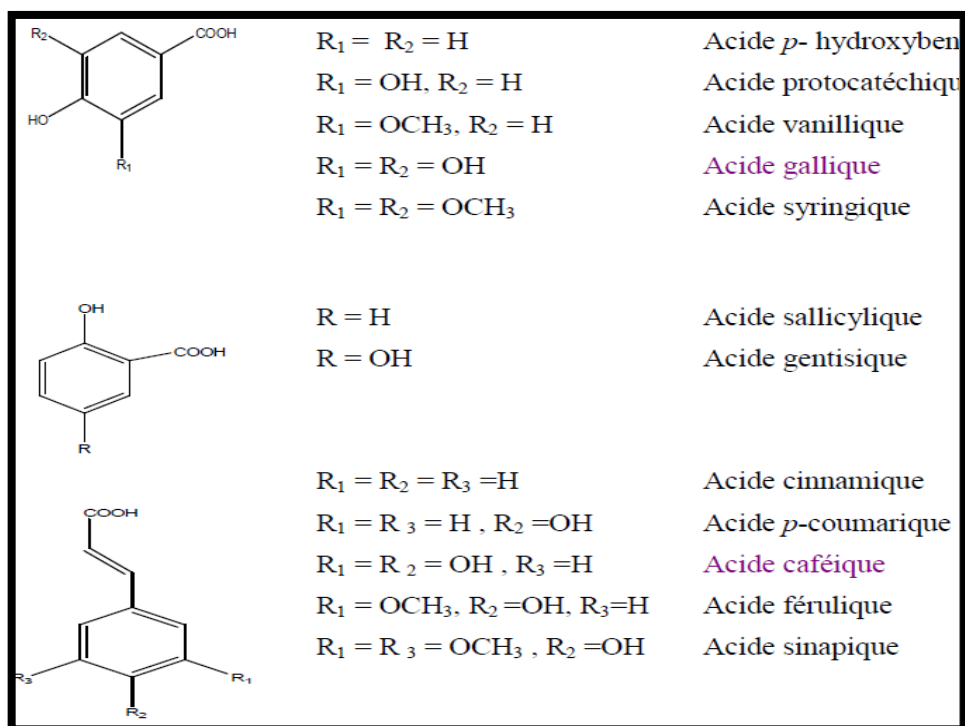


Figure 3: Exemples d'acide phénoliques (Nkhili ,2009).

## I.1.3.b. les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (Yezza et Bouchama ,2014).

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone (fig:4), fait de deux cycles benzéniques C6 reliés par une chaîne en C3 (Milane, 2004). Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone. La distinction des sous-classes se fait sur la conformation de cette structure centrale (Manallah , 2012) .

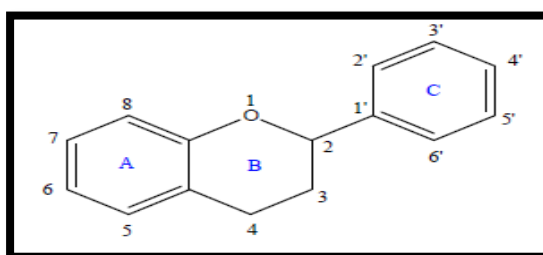


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes (Aissaoui, 2010).

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3. Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane. Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle la flavane est appelé Flavanone. Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone. Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol. Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (tableau 1). (Bouakaz, 2006).

**Tableau 1** : Structures chimiques de quelques flavonoïdes (Scalbert et Williamson, 2000).

| Structure | Nom  | Structure | Nom                                     |
|-----------|--|-----------|---|
|           | Flavone<br>2-Phénylchromen-4-one               |           | Flavonol 3-Hydroxy-2-Phénylchromen-4-on |
|           | Flavan-3,4-Diol                                |           | Lavan-3-Ol                              |
|           | Flavanone<br>2,3-Dihydro-2-Phénylchromen-4-one |           | Anthocyanidol Ou Anthocyanidine         |
|           | Dihydrochalcone                                |           | Aurone                                  |
|           | Flavonol<br>3-Hydroxy-2-Phénylchromen-4-on     |           | Chalcone                                |

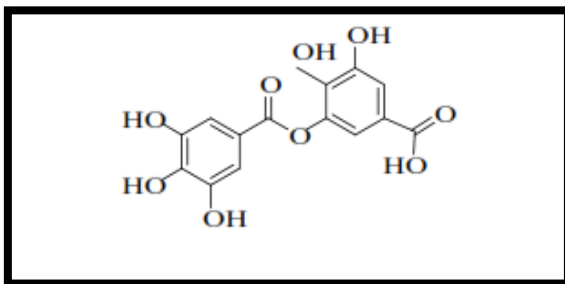
# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

## I.1.3.c. Les tanins

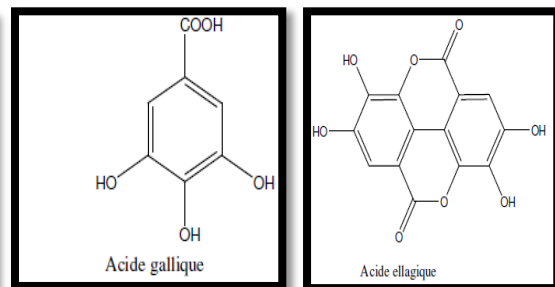
Le mot tanin fait référence à un large groupe de composés (poly) phénoliques naturellement produits par les plantes. Sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3000. (Rira, 2006). Se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables. (Sereme *et al.*, 2010). Leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en 2 groupes :

### ✓ les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables, constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide éllagique, acide m-digallique) d'où le nom de pyrogalliques et d'éllagitanins qu'on leur donne quelque fois. Ils sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique (Fig.5-6). (Bruneton, 1997).



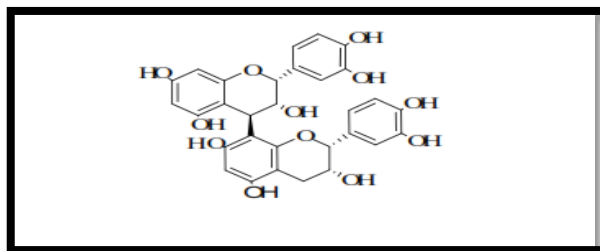
**Figure 5:** Structure de base  
Tanins hydrolysables (Cowan, 1999).



**Figure 6:** Structure de quelques  
Tanins hydrolysables (Cowan, 1999).

### ✓ les tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidols résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol -3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins« catéchiques ». Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, gymnospermes et fougères compris (Fig.7) (Sereme *et al.*, 2010 ; Bruneton, 1997).

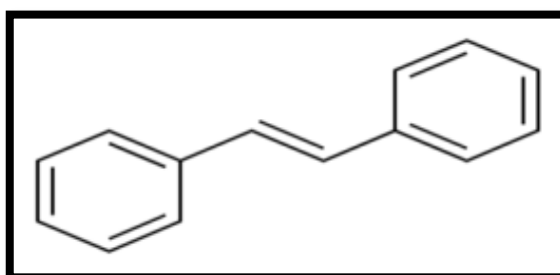


**Figure 7:** Structure de base des tanins condensés. (Cowan, 1999).

### I.1.3.d. Les stilbènes

Les stilbènes sont un groupe de polyphénols non flavonoïdiques issus du métabolisme secondaire végétal (Huguene, 2013). Et dérivés de la voie du phénylpropanoïde. Toutes les plantes supérieures semblent pouvoir synthétiser Malonyl-CoA et CoA-esters de dérivés d'acide cinnamique, (phénylpropanoïdes). Mais Seulement quelques espèces végétales sont capables de produire des stilbènes. Un grand nombre de preuves indiquent que les stilbènes participent à la fois aux mécanismes de défense constitutifs et inducibles chez les plantes, mais les fonctions détaillées de ces composés n'ont pas été entièrement élucidées. (Chong *et al.*, 2009).

Les stilbènes ont une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> : deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène. Il existe deux formes isomériques : (*E*)-1,2-diphényléthylène ((*E*)-stilbène) et (*Z*)-1,2-diphényléthylène ((*Z*)-stilbène) (Fig.8). La forme *cis* (*Z*) est obtenue par photo-isomérisation ou par l'action de la chaleur. La forme *trans* (*E*) étant la forme la plus stable et bioactive (Mérillon *et al.*, 1997), elle est en général plus abondante dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes.(Arraki,2014 ).



**Figure 8:** Structure d'un stilbène (Midoun, 2011).

### I.1.3.e. Les lignanes

Lignanes sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phényl propaniques (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

composés ont été isolés dans environ soixante dix familles (Belyagoubi et Benhammou, 2012)

Ces mêmes unités de base servent aussi aux végétaux pour synthétiser un long polymère, au nom proche mais mieux connu, la lignine, présente dans les parois cellulaires des vaisseaux conducteurs. Malgré leur structure simple, il existe une grande variété de lignanes qui se distinguent par le type de liaison entre les deux unités et les modifications intervenant après la dimérisation (Fig.9) (Laine *et al.*, 2007) .

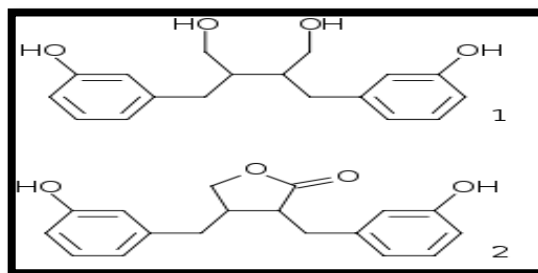


Figure 9 : Structure des lignanes (Midoun, 2011).

## I.1.3.f. Les coumarines

Les coumarines sont des composés aromatiques phénoliques naturels, largement distribués dans le règne végétal, portant un noyau benzo-pyrone dans leur structure (fig.10). Ils sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z cinnamiques. (Dridi ,2015; Hamimed, 2009). Elles représentent avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste groupe de composés. Les coumarines simples dégagent une agréable odeur, rappelant la vanilline et ont été utilisées pour la conception des parfums et arômes de synthèse. (Mpondo *et al.*, 2014). (Tableau .2) suivant rassemble les principaux coumarines et leur distribution dans le règne végétal.

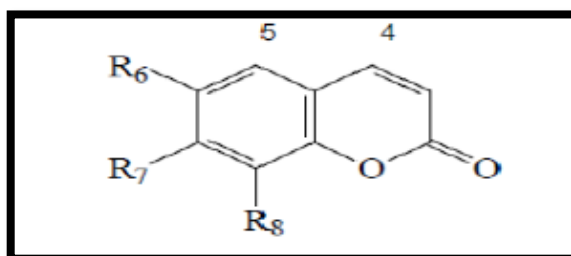
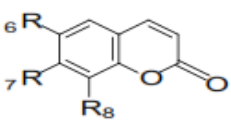


Figure10: Structure de base de coumarine (Kanoun, 2011)

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

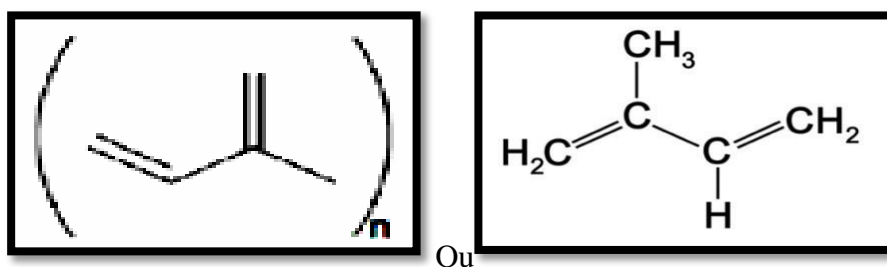
**Tableau 2:** Principaux types de coumarine (Talbi, 2015).

| Structure   | R6   | R7 | R8 | Acide Phénolique |
|---|------|----|----|------------------|
|  | H    | OH | H  | Umbelliférol     |
|   | OH   | OH | H  | Aescultol        |
|   | OCH3 | OH | H  | Scopolétole      |
|   | OCH3 | OH | OH | Fraxétole        |
|   | H    | OH | OH | Daphnétole       |

## I.1.3.2. Les terpènes

Le terme de terpénoïdes est attribué à tous les composés largement répandus dans le règne végétal, constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux (Kabouche, 2005). Les plantes synthétisent plus de 22 000 dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et des activités biologiques très diverses (Vandermoten, 2009).

Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) (fig.11). Cet isoprène est à la base du concept de la "règle isoprénique". Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (PPI), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également. (Larbi et Rabah, 2014; Lamarti *et al.*, 1994).



**Figure 11:** Structure de base la molécule isoprène (Tahraoui, 2014; Bouchama et Yezza., 2014).

Ainsi, les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles. (Lamarti *et al.*, 1994).

Les fonctions et types des isoprénoïdes sont très variées (tableau.3). ont un rôle dans les chaînes de transport des électrons (quinones : ubiquinone, plastoquinone), sont des pigments photosynthétiques (caroténoïdes, chaîne latérale de la chlorophylle) ou des transporteurs de sucres (polyprénols), impliqués dans la synthèse des N-glycoprotéines;

# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

qui interviennent dans les interactions écologiques entre les plantes et leur environnement. (Esther, 2005).

**Tableau 3 :** Quelques exemples des différents types de terpenoïdes (Belbache, 2003).

| N   | Squelette carboné | Type de terpenoïdes | Exemple de molécule                     |
|-----|-------------------|---------------------|---|
| 1   | C5                | Hemiterpène         | Isoprène                                |
| 2   | C10               | Monoterpène         | Nérol, citronnelle, huiles essentielles |
| 3   | C15               | Sesquiterpène       | $\beta$ -Cadinène                       |
| 4   | C20               | Diterpène           | Sclaréol, phytol                        |
| 6   | C30               | Triterpène          | Lanostérol                              |
| 8   | C40               | Tetraterpène        | Caroténoïdes                            |
| > 8 | >40               | Polyterpène         | Caoutchouc                              |

### I.1.3.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotée très diversifiées (Attou, 2011). A caractère alcalin et douées des propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Zenk et Jueng, 2007).

Les alcaloïdes sont une très grande famille qui compte plusieurs types de molécules ayant des structures très diversifiées (tableau.4). On dénombre un peu plus de 10000 alcaloïdes provenant de plantes et, beaucoup plus rarement, d'organisme animaux. Leurs structures sont très variées, de très simple (ex. : nicotine) à plutôt complexes (ex. : réserpine, strychnine). La plupart sont cycliques (mono-, bi-, tri-, tétracyclique, etc.) et peuvent compléter, en plus de la fonction amine commune, une panoplie d'autres groupements fonctionnels. (Zaghdane, 2008). On les classe sous trois groupes:

- ☒ **Alcaloïdes vrais:** ils se caractérisent par une importante cytotoxicité, expose une vaste activité physiologique, la plupart sont des bases stables, elle comporte un ou plusieurs atomes d'azotes dans le cycle.
- ☒ **Protoalcaloïdes:** ce sont des amines simples comme les acides aminés et d'autre alcaloïdes comme Mescaline, Ephédrine.
- ☒ **Pseudoalcaloïdes:** regroupe les composés azotés, non dérivés des acides aminés; l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale; comme la Caféine (Boutaoui, 2012).

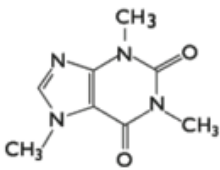
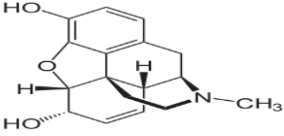
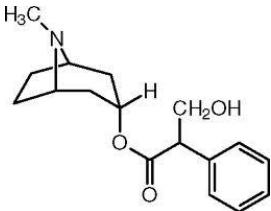
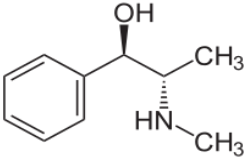
# CHAPITRE I: METABOLITES SECONDAIRES

La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces, par exemple: racine (Ipéca), feuille (Coca), fruit (Pavot), écorce (Quinquinas), graine(Colchique) ...etc. Les alcaloïdes se rencontrent surtout au niveau des épidermes, des laticifères et de façon générale dans tous les tissus en voie de croissance et ils s'accumulent surtout dans les vacuoles. (Ghedjati, 2014).

Leur concentration ne représente pas plus de 10% du poids sec. L'existence de plantes ne contenant pas d'alcaloïdes démontre que ces composés ne sont apparemment pas essentiels à leur reproduction. Les alcaloïdes tout d'abord, ont des effets bénéfiques sur la plante.

Ils Régulent la croissance et le métabolisme interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, mais plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent, par conséquent, un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des micro-organismes (Mauro, 2006). Ils sont considérés comme une réserve d'azote en cas de son manque dans le sol (Nedjmi et Soussou, 2014).

**Tableau4:** Quelques exemples des alcaloïdes (Badiaga, 2011).

| Nom      | Structure   | Nom       | Structure   |
|----------|---|-----------|---|
| Caffeine |  | Morphine  |  |
| Cocaine  |  | Ephedrine |  |

*Chapitre II* : Système  
oxydant ,Système antioxydant

## **CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT**

---

### **I.2. Système oxydant, Système antioxydant**

#### **I.2.1. Système oxydant**

##### **I.2.1.1. Stress oxydatif**

La stress oxydatif est l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), soit à une diminution de la capacité de défense antioxydant (**Defraigne et Pincemail, 2008**). Cette définition ne rend pas justice à la notion de stress qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelles de vie cellulaire. Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule (**Barouki, 2006**).

##### **I.2.1.2. Les espèces réactives de l'oxygène**

L'oxygène est nécessaire à tous les êtres vivants pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes. (**Gardès-Albertet al., 2003**).

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. (**Afonso et al., 2007**). Il peut se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules très instables, il réagit rapidement avec les autres composants, essayé de capturer l'électron qui leur est nécessaire pour acquérir de la stabilité (**Tanguyet al., 2009**).

La présence d'un électron non apparié donne lieu à certaines propriétés communes qui sont partagées par la plupart des radicaux. Il peut soit donner un électron ou accepter un électron d'autres molécules, donc se comporter comme des oxydants ou des réducteurs (**Loboet al., 2010**).

Les radicaux les plus importants à considérer en biologie sont dérivés de l'oxygène et formés lors de la séquence de réduction cet élément (**Christelle, 2006**). Tels l'anion super oxyde  $O_2^{\cdot -}$  et le radical hydroxyle  $OH^{\cdot}$ , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO. D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux (tableau.5). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Kambaleet al., 2013**).

## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

**Tableau 5:** Les principales espèces oxygénées réactives. (Metizi, 2008).

| Nom                      | Symbole         |
|--------------------------|-----------------|
| Espèces radicalaire      |                 |
| Anion superoxide         | $O_2^{\cdot -}$ |
| Radical hydroxyl         | $OH^{\cdot}$    |
| Monoxyde d'azote         | $NO^{\cdot}$    |
| Espèces non radicalaires |                 |
| Peroxyde d'hydrogène     | $H_2O_2$        |
| Acide hypochlorique      | $HOCl$          |
| Oxygène singulet         | $^1O_2$         |
| Péroxydinitrite          | $ONOO^-$        |

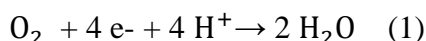
### I.2.1.3. Nature et sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène se forment dans toutes les réactions biochimiques comportant le transfert d'électrons ou la participation de l'oxygène. Divers types cellulaires et tissus donnent naissance aux EOR par des réactions enzymatiques ou par auto-oxydation au cours de leur métabolisme normale et parfois en réponse à un stimulus spécifique. (Meziti, 2009).

#### I.2.1.3.a. Source endogène

L'oxygène (ou dioxygène,  $O_2$ ) est indispensable à la production d'énergie sous forme d'ATP appelée phosphorylation oxydative se fait notamment par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons présentes dans la membrane interne des mitochondries. (Migdal et Serres, 2011).

La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons, réaction 1) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase, dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale. (Gardès-Albertet *al.*, 2003).

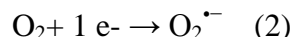


#### ✓ Anion super oxyde.

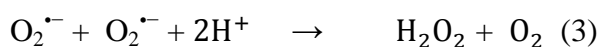
Environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont transformés en radicaux superoxydes  $O_2^{\cdot -}$  lors de la première réduction électronique de l'oxygène (réaction 2). (Migdal et Serres, 2011). Production d' $O_2^{\cdot -}$  effectuée au cours du transfert des électrons du complexe I au cycle des quinones. Au niveau du complexe III, c'est le coenzyme Q, sous sa forme ubisemiquinone  $QH^{\cdot}$ , qui est responsable de la production d' $O_2^{\cdot -}$ . Lorsque le potentiel

## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

de membrane est élevé (en l'absence d'ADP) et lorsque du FADH<sub>2</sub> est utilisé par le complexe II, il y a production d'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> au sein du complexe I via le flux inverse (**Carrière et al., 2006**).



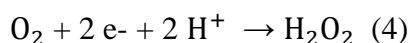
La NADPH -déshydrogénase située dans la membrane mitochondriale interne, conduit à la formation de radicaux O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Par ailleurs, l'apparition de radicaux superoxydes peut résulter de l'auto-oxydation (oxydation par l'oxygène) de composés tels que des neuromédiateurs (adrénaline, noradrénaline, dopamine...), des thiols (cystéine), des coenzymes réduits (FMNH<sub>2</sub>, FADH<sub>2</sub>) (réaction 3) mais aussi de la détoxification de huéxénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système des cytochromes P450 présents au niveau du réticulum endoplasmique (**Gardès-Albert et al., 2003**).



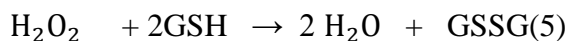
(O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), peu réactif par lui-même, mais représentant un précurseur d'espèces plus agressives (**Halliwell et Gutteridge, 1986**).

### ✓ Le peroxyde d'hydrogène

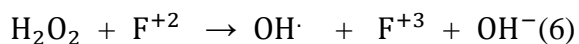
Le peroxyde d'hydrogène peut néanmoins être considéré comme un dérivé réactif de l'oxygène potentiellement toxique car sa faible réactivité associée à sa capacité de traverser les membranes biologiques (**Pal Yu, 1994 ; Cash et al., 2007**). Sa production peut également résulter de la réduction bioélectronique de l'oxygène en présence d'oxydases (aminoacides oxydases, glycolase oxydase, urate oxydase...) (réaction 4) qui se trouvent principalement dans des organites cellulaires tels que les peroxysomes. Par ailleurs, la membrane mitochondriale externe renferme une monoamine oxydase capable de catalyser la désamination oxydative (**Gardès-Albert et al., 2003**).



La quantité de peroxyde d'hydrogène est régulée par l'enzyme héminique catalase (CAT) qui accélère sa dismutation, et par la glutathion peroxydase (GPx) qui catalyse sa réduction par le glutathion (réaction 5). (**Nauseef, 2008**).



L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinées. En présence de métaux, en particulier de Fe<sup>2+</sup>, elle est transformée en radical hydroxyle OH<sup>•</sup> par la réaction de Fenton (réaction 6). Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines, formant parfois d'autres radicaux libres (**Barouki, 2006**).

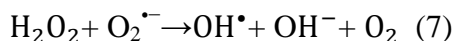


## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

### ✓ Le radical hydroxyle OH•

Ce radical OH• peut être formé à partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par la réaction de Fenton à laquelle participe un métal de transition tel que le fer. (Nordmann et coll, 1992) OH• est un agent d'oxydation (hydroxylation des cycles aromatiques notamment), mais son action est limitée par sa très courte durée de vie. De plus, sa production in vivo par la réaction de Fenton reste discutée. L'O<sub>2</sub> réagit aussi avec le fer complexé pour former des espèces radicalaires ferryles et oxoferryles. (Deby-Dupont et al., 2002). Le radical OH• apparaît ainsi comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres. (Halliwell et Gutteridge, 1986).

L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut aussi réagir avec le radical superoxyde, aboutissant à la production du OH•; (réaction 7) ce mécanisme réactionnel est appelé réaction d'Haber et Weiss (Sorge, 2004).

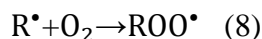


Le radical hydroxyle a une durée de vie extrêmement faible (inférieure à la microseconde) et les distances qu'ils peuvent parcourir sont également très faibles. Ce sont donc des radicaux qui diffusent peu et qui réagissent quasiment sur le lieu de leur production. Le OH• est capable de réagir avec la plupart des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires. Parmi les ERO le radical hydroxyle est de loin le plus réactif.

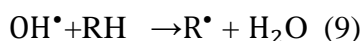
Le radical O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> a une demi-vie plus longue et bien qu'il soit moins réactif il est aussi délétère que le radical HO• (Delattre et al., 2005).

### ✓ Radicaux alkyles R• et peroxy ROO•

Les radicaux peroxy sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone R• (réaction 8).



Les radicaux R sont généralement issus de l'action des radicaux hydroxyles sur les substrats biologiques par arrachement d'atome d'hydrogène ou addition sur les doubles liaisons (réaction 9) (Delattre et al., 2005).



Les radicaux peroxy (ROO•) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants. Ces radicaux libres de l'oxygène ou de l'azote, même réactifs, ne sont pas uniquement toxiques; au contraire, ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages,

## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (Favier, 2003).

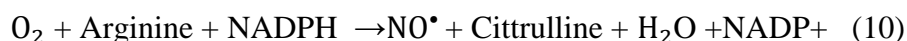
### ✓ L'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ )

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène  $\text{O}_2$ , il possède la même structure électronique que l'oxygène, mais « agencée » différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état « excité » lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

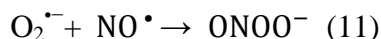
### ✓ Le monoxyde d'azote NO

Le monoxyde d'azote radicalaire ou  $\text{NO}^\bullet$  est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine (réaction 10). C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...) (Haleng, 2007).

Nitrique oxyde synthèse



Le NO interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxyde nitrite, composé extrêmement réactif et toxique (réaction 11). NO et peroxyde nitrite interagissent avec des protéines et peuvent altérer leurs propriétés. (Barouki, 2006).



Le peroxyde nitrite, instable, est très oxydant et forme de nouvelles espèces actives, dont certaines sont radicalaires ( $\text{OH}^\bullet$  et  $\text{N}^\bullet\text{O}_2$ ), à la base de nitrations et d'hydroxylations (Deby-Dupont *et al.*, 2002).

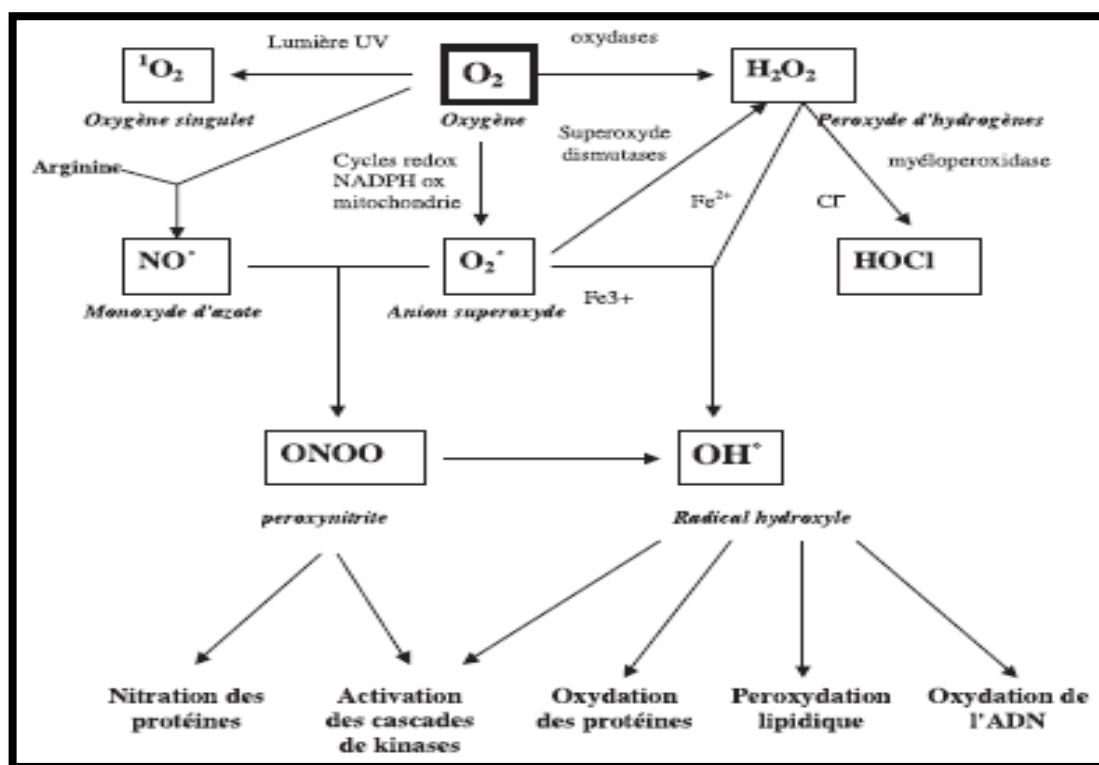
#### I.2.1.3.b. Source exogène

D'autres sources ou modes de génération exogène des espèces réactives de l'oxygène existent par les interactions avec leur milieu environnant (l'exposition à l'ozone, les rayonnements ionisants, les métaux lourds) (Birbenet *et al.*, 2012). et aussi de notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense).

Les métaux toxiques (chrome, cuivre, vanadium), mais aussi le cuivre et le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive  $\text{H}_2\text{O}_2$ , par une réaction appelée réaction de Fenton (Favier, 2003). Le plomb augmente la peroxydation lipidique. Une diminution significative de l'activité de super oxyde dismutase SOD et GPx de tissu cérébral ont été rapportés après l'exposition au plomb. Le zinc, joue le rôle de cofacteur de nombreuses

## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

enzymes, l'exposition au plomb peut remplacer le zinc dans le site actif ce qui conduit à l'inactivation de ces enzymes (fig.12). L'exposition au plomb peut provoquer une inhibition de la GST en affectant thiols de tissus (Birbenet *al.*, 2012).



**Figure 12** : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Ghalem, 2014).

### I.2.1.4. Intérêts biologiques des radicaux libres dans la physiologie cellulaire

#### I.2.1.4.a. La phagocytose

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire. La phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène si brutale et intense qu'elle est connue sous le nom « Bouffée respiratoire » puis qu'elle s'accompagne d'une augmentation transitoire de la consommation d'oxygène. Au sein de phagosome, l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydes dismutases (SOD) et la NO synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^{\bullet}$ ,  $ONOOH$ . L'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) en présence de chlore et sous l'effet de la myéloperoxydase donnera naissance à l'acide hypochlorique  $HOCl$ , c'est l'oxydant microbicide le plus puissant (réaction 12) (Favier, 2003).



### **I.2.1.4.b. La signalisation cellulaire**

En dehors de leurs actions délétères, les espèces réactives de l'oxygène peuvent agir en tant que molécule de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire.

Les mécanismes de communication cellulaire faisant intervenir les radicaux libres ne sont pas encore élucidés:

- les radicaux libres joueraient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes. La présence de radicaux libres dans le milieu extracellulaire est à l'origine de l'activation de certains facteurs de transcription par des mécanismes encore mal compris. Il en résulte ensuite l'expression des gènes correspondants (**Delattre *et al.*, 2005**).

- Les radicaux libres peuvent intervenir dans la prolifération, la différenciation, l'adhésion et la migration cellulaire (**Jacques, 2010**).

- Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires.

- Les radicaux libres jouent un rôle dans la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire (**Favier, 2003**).

### **I.2.1.5. Conséquences biochimiques du stress oxydant**

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (**Favier, 2003**). Les dommages oxydatifs sont un terme fréquemment utilisé pour impliquer des dommages aléatoires et indiscriminés à une large gamme de biomolécules. (**Halliwell, 2007**) contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN (**Koehler-Ramonatxo, 2006**).

#### **I.2.1.5.a. Peroxydes lipidiques**

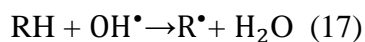
La peroxydation lipidique est un processus de radicaux libres impliquant une source de radicaux libres secondaires, qui peut en outre agir comme second messager ou peut réagir directement avec d'autres biomolécules. Se produit sur l'acide gras polysaturé situé sur les

## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

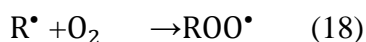
---

membranes cellulaires et elle poursuit en outre avec la réaction en chaîne radicale (fig. 4). (Lobo *et al.*, 2010).

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI) (réaction 17).



Le radical lipidique ( $R^{\bullet}$ ) réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) (réaction 18).

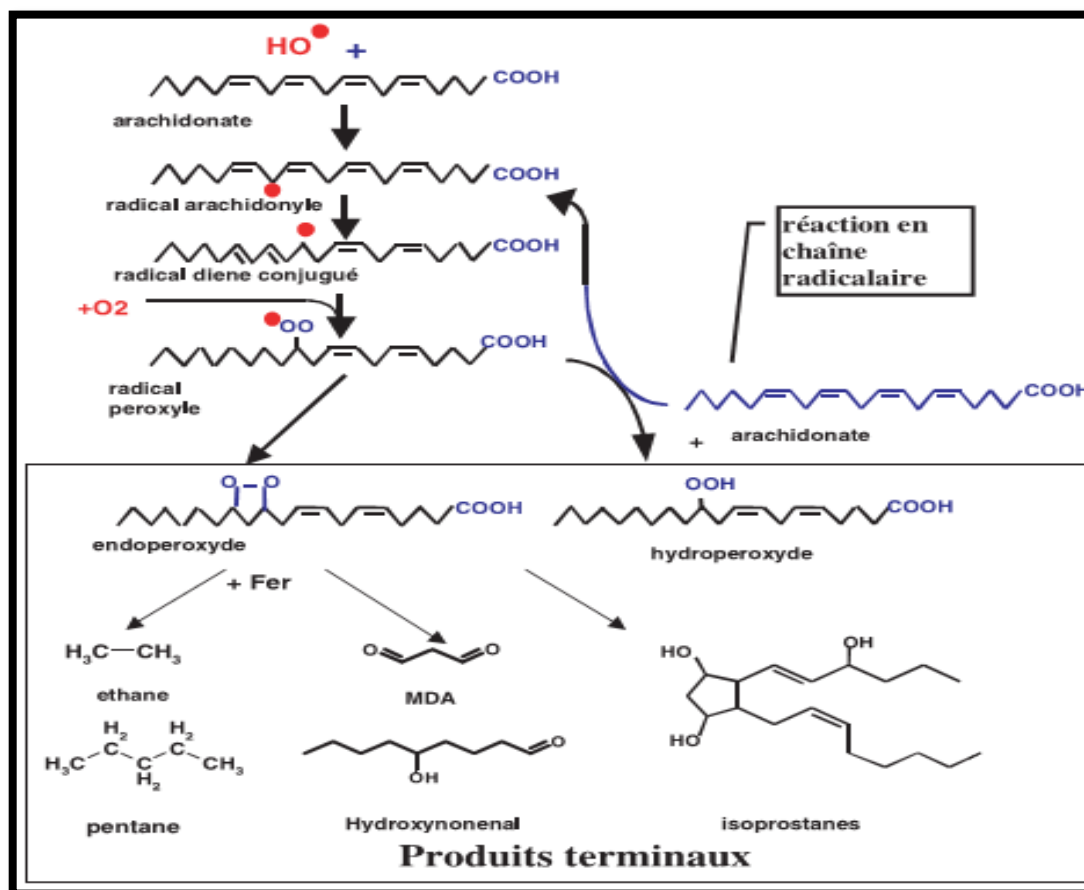


Le radical peroxyde est suffisamment réactif pour arracher un  $H^+$  à un AGPI voisin et former un hydroperoxyde lipidique ( $ROOH$ ). Dans ces conditions, une réaction en chaîne s'installe, propagée par les radicaux  $R^{\bullet}$  et  $ROO^{\bullet}$  (réaction 19). (Halenget *al.*, 2007).



Les peroxydes lipidiques se décomposent ensuite en toute une série de sous-produits dont font partie les aldéhydes. La malonediaaldéhyde. Toutefois, son estimation reste un indice peu représentatif de la présence d'une peroxydation lipidique puisqu'elle ne représente qu'un pourcent des produits de décomposition des peroxydes lipidiques. (Pincemilet *al.*, 1999).

Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes: l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, (Halenget *al.*, 2007). L'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux. (fig.13) montre la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique avec la formation de produits terminaux.



**Figure 13 :** Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

### I.2.1.5.b. Protéines oxydées

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis d'espèces réactives de l'oxygène. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, l'histidine. Toute Attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. (Haleng *et al.*, 2007; Koechlin-Ramonatxo, 2006). Peuvent provoquer la fragmentation de la chaîne peptidique, l'altération de la charge électrique des protéines, la réticulation des protéines et l'oxydation des acides aminés spécifiques et donc conduire à une susceptibilité accrue à la protéolyse par dégradation par des protéases spécifiques.

Les résidus cystéine et méthionine dans les protéines sont particulièrement plus sensibles à l'oxydation. L'oxydation des groupes sulfhydryle ou des résidus méthionine des protéines provoque des changements conformationnels, le déploiement des protéines et la dégradation. (Birben *et al.*, 2012).

### **I.2.1.5.c. Oxydation de l'ADN**

L'acide désoxyribonucléique (ADN), qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Les radicaux  $O_2^{\cdot-}$  et  $OH^{\cdot}$  provoquent des lésions de l'ADN (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Le espèce réactive de l'oxygène peut conduire à des modifications de l'ADN de plusieurs façons, qui implique la dégradation des bases, des ruptures d'ADN simple ou double brin, des modifications, des mutations, des délétions ou des translocations liées à la purine, à la pyrimidine ou au sucre, et la réticulation avec des protéines (Birbenet *al.*, 2012). La guanine est ainsi facilement transformée en 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN. Si ces systèmes sont défaillants, la 8-OH-dG s'accumulera au sein de l'ADN causant ainsi des mutations impliquées dans le développement du cancer (Mezzetti, 1998).

### **I.2.1.5.d. Des polysaccharides**

Si la chimie de l'attaque radicalaire des polysaccharides les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes,  $H_2O_2$  et  $OH^{\cdot}$ , qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation. (Favier, 2003).

### **I.2.2. Systèmes antioxydants**

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. (Tanguy *al.*, 2009).

Ce système antioxydant inclut des enzymes (catalase, glutathion peroxydase, glutathion transférase, superoxydedismutase) et les systèmes de séquestration des métaux pro oxydants (fer, cuivre). Par ailleurs, des composés hydrophiles et lipophiles (vitamine C et E, GSH). Des éléments traces tels que le zinc et le sélénium participent également à la défense antioxydante (fig.14) (Bakpinar et Tugrul, 1995).

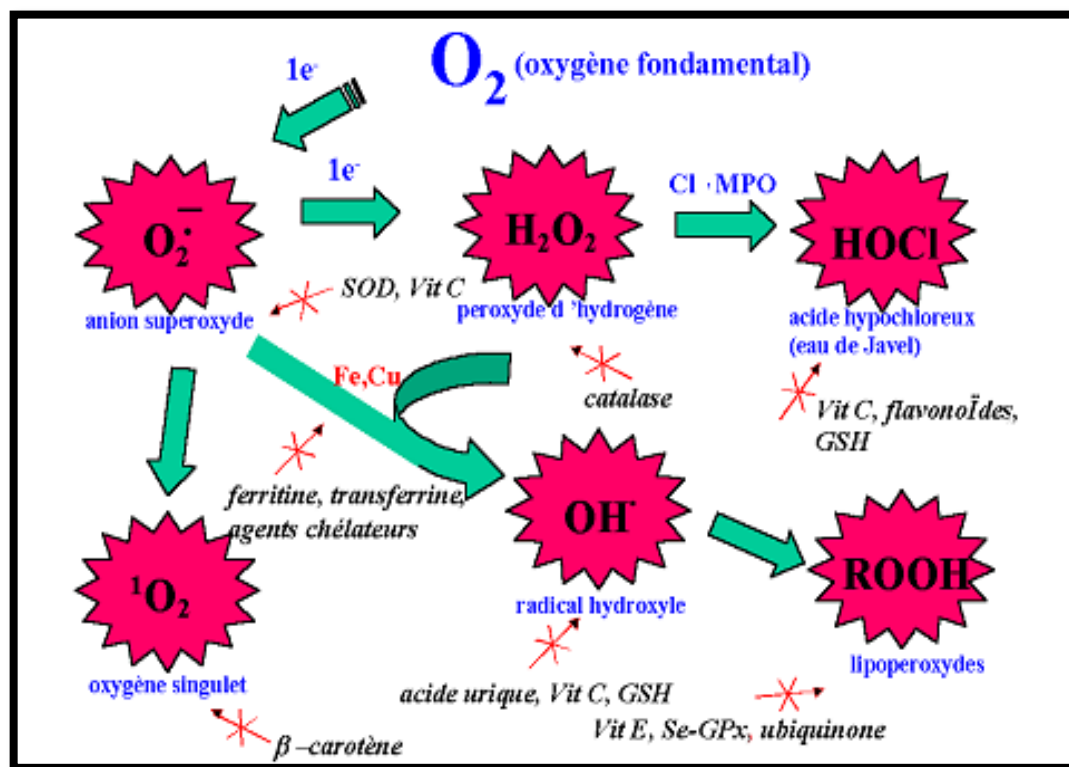
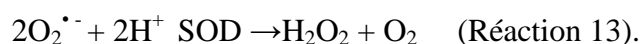


Figure 14: Rôle central des enzymes antioxydants dans la cascade oxydante (Pincemail *et al.*, 1999).

### I.2.2.1. Système antioxydant enzymatique

#### I.2.2.1.a. Superoxydes dismutase

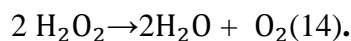
Le superoxyde dismutase (SOD) ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, (Halenlg *et al.*, 2007). Chez l'homme, il existe trois formes de SOD: le Cu / Zn-SOD cytosolique, le Mn-SOD mitochondrial et la SOD extracellulaire (EC-SOD). (Matéset *al.*, 1999). Qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. Le rôle déterminant du superoxyde dismutases (SOD) dans les systèmes de défense antioxydant de l'organisme est connu depuis 1968. On sait que l'ion superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ) est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres. Or, dès ce stade précoce, le superoxyde dismutases inactive l'ion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (Réaction 13). Celui-ci est ensuite rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène ( $O_2$ ) et en molécules d'eau ( $H_2O$ ) (Moran *et al.*, 2003).



### I.2.2.1.b. Catalase

La catalase est une enzyme tétramère consistant en quatre sous-unités identiques contiennent un seul groupe ferriprotoporphyrine par sous-unité catalase(CAT) réagit très efficacement avec  $H_2O_2$  pour former l'eau et l'oxygène moléculaire(réaction 14),et avec des donneurs H (méthanol, éthanol, acide formique ou phénols) à activité peroxydase (**Matéset al., 1999**).

La catalase est une enzyme antioxydant intracellulaire qui se trouve principalement dans les peroxysomes cellulaires et dans une certaine mesure dans le cytosol qui catalyse la réaction du peroxyde d'hydrogène à l'eau et à l'oxygène. Il est particulièrement importante dans le cas d'une teneur limitée en glutathion ou d'une activité réduite de GPX et joue un rôle important dans le développement de la tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules. (**Wassmann et al.,2004**).



### I.2.2.1.c. Glutathion peroxydase

Est une métalloenzyme à sélénium Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés.(**Haleng et al., 2007**).

Le Glutathion(GSH) intracellulaire est converti en Glutathion Disulfide(GSSG) par la peroxydaseglutathion contenant du sélénium, ce qui catalyse la réduction du  $H_2O_2$  en présence de Glutathion(GSH) et la peroxydase GSH est couplée à l'oxydation du glucose-6-phosphate et du 6-phosphogluconate, ce qui donne Nicotinamide-Adénine-Dinucleotide-Phosphate(NADPH) pour la réduction du GSSG Par la Glutathion Disulfide(GSSG) réductase. Il s'agit d'une voie importante du métabolisme  $H_2O$  dans de nombreuses cellules(fig. 15)(**Rahman et al.,2012**)

Chez les Eucaryotes, on distingue cinq iso enzymes de laGlutathion – Peroxydases(GPx) qui sont présentes danses liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries: La GPx 1 cytoplasmique et mitodriale, la GPx2 gastro-intestinale, la GPx3 plasmique, la GPx 4 ou PHGPx localisée à l'interface de la membrane interne du cytoplasme et la GPx5épididymaire. la plus abondant est la GPx 1 et elle est exprimée dans la plupart des cellules (**Delattre et al.,2005**).

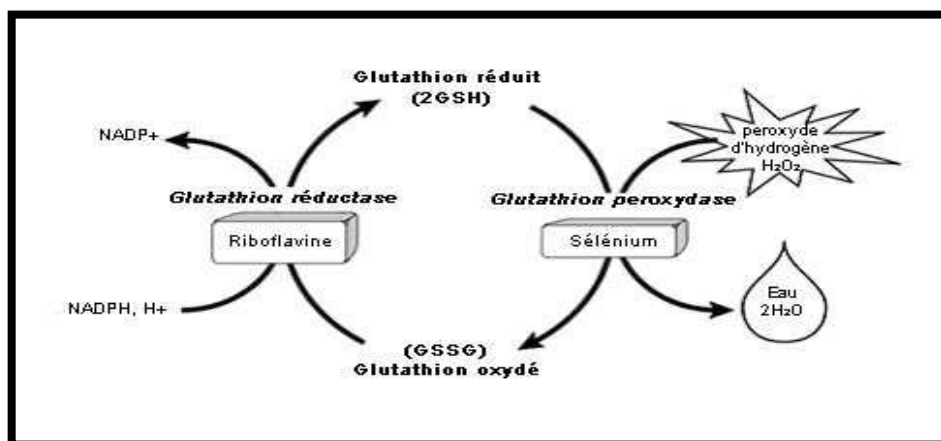
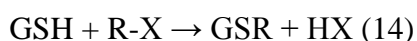


Figure 15 : Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen *et al.*, 1990).

### I.2.2.1.d. Glutathion-S-transférases

Glutathion S-transférase est une famille de enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes catalysent la conjugaison du glutathion à des substrats électrophiles (Pemble *et al.*, 1994). Ces enzymes sont impliquées dans la détoxification des d'une grande variété de composés xénobiotiques (par exemple des agents cancérigènes, des médicaments anti-tumoraux, les polluants environnementaux) et de composés endogène (par exemple, des peroxydes, des sous-produits de l'activité des espèces d'oxygène réactif). (Sherratt, 2001).

L'activité de conjugaison du GSH avec les composés électrophiles est présentée comme suit (Waxman, 1990)(réaction 14):

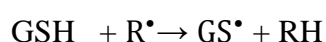
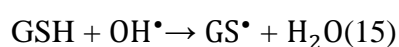


### I.2.2.2. Système antioxydant endogène non enzymatique

#### I.2.2.2.a. Glutathion

Le glutathion est un tri peptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH)majoritaire au niveau intracellulaire. (fig.16) Le glutathion (GSH) joue un rôle essentiel dans la préservation des formes actives de divers antioxydants de faible taille (vitamines C, E, ubiquinone, polyphénols). Il est aussi le cofacteur de toute une série d'enzymes antioxydants (Defraigne et Pincemail, 2008).

La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H), qu'il exerce vis-à-vis denombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicauxhydroxyles (réaction 15) .



## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

Toutefois, le rôle protecteur de GSH semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone R·.

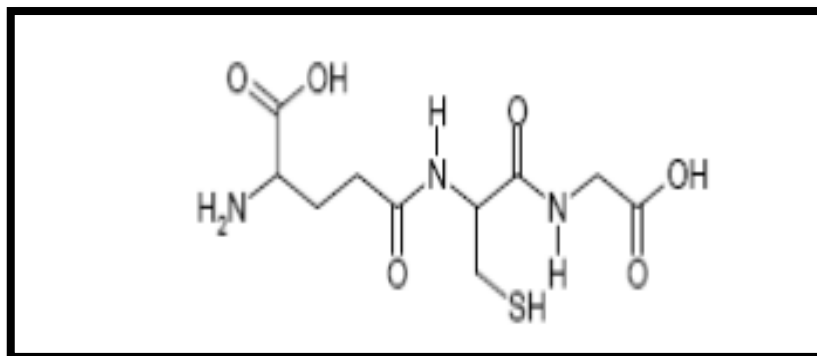


Figure 16: Structure de thiol. (Sekli-Belaidi, 2011) .

Le rapport glutathion réduit (GSH)/glutathion oxydé (GSSG) est un excellent marqueur du stress oxydant et de son importance; plus la valeur de ce rapport est basse, plus le stress oxydant est élevé (Haleng *et al.*, 2007).

### I.2.2.2.b. Vitamine C (Acide Ascorbique)

La vitamine C soluble dans l'eau (acide ascorbique) procure une capacité antioxydante intracellulaire et extracellulaire en phase aqueuse principalement par balayage des radicaux libres d'oxygène (fig.17). Il convertit les radicaux libres en vitamine E (Birbenet *et al.*, 2012). Est un piègeur de ROS à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxyle et super oxyde ainsi que contre le peroxynitrite.

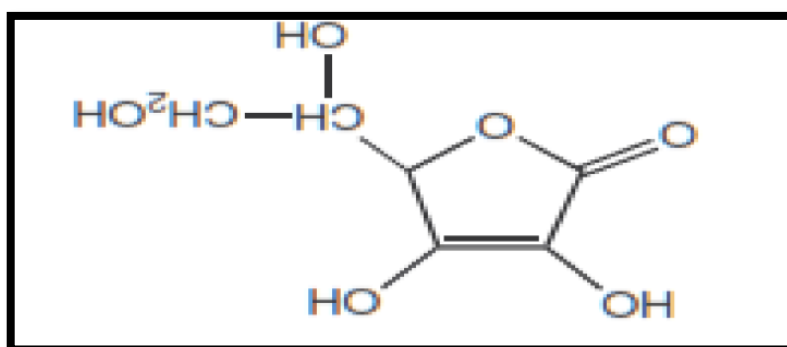


Figure 17: Structure de l'acide ascorbique (Amadou, 2005).

Bien que l'acrobate soit hydrosoluble, ce qui permet de déplacer les espèces réactives de l'oxygène de la membrane vers le cytosol et de prévenir la peroxydation lipidique. L'acrobate est également capable de réduire les métaux de transition et donc d'avoir des effets prooxydants. (Ré *et al.*, 2005).

## CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT

### I.2.2.2.c. Vitamine E ( $\alpha$ -Tocophérol)

La vitamine E liposoluble est concentrée dans le site intérieur hydrophobe de la membrane cellulaire et constitue la principale défense contre les lésions de la membrane induite par les oxydants. (Cowan, 1999) (fig. 18). La vitamine E donne de l'électron au radical peroxy, qui est produit pendant la peroxydation lipidique. L' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E et le principal antioxydant lié à la membrane dans la cellule. La vitamine E déclenche l'apoptose des cellules cancéreuses et inhibe les formations de radicaux libres. (Tanguy et al., 2009).

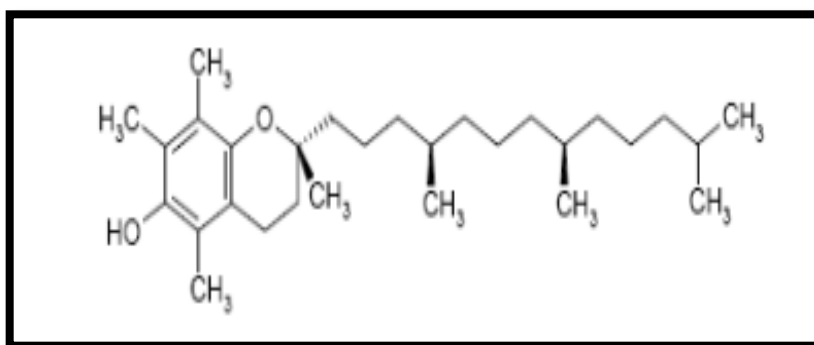


Figure 18: Structure de vitamine E (Sekli-Belaidi, 2011).

### I.2.2.2.c. Caroténoïdes ( $\beta$ -Carotène)

Les caroténoïdes sont des pigments trouvés dans les plantes (fig. 19). On a trouvé que le  $\beta$ -carotène réagissait avec les radicaux peroxy ( $\text{ROO}^\bullet$ ), hydroxyle (OH) et superoxyde ( $\text{O}_2^\bullet$ ). Les caroténoïdes montrent leurs effets antioxydants en faible pression partielle d'oxygène mais peuvent avoir des effets pro-oxydants à des concentrations d'oxygène plus élevées. Les caroténoïdes et les acides rétinoïques (AR) sont capables de réguler les facteurs de transcription. Le  $\beta$ -carotène inhibe l'activation NF- $\kappa$ B induite par les oxydants et l'interleukine (IL) -6 et la production de facteur de nécrose tumorale  $\alpha$ . (Birben et al., 2012).

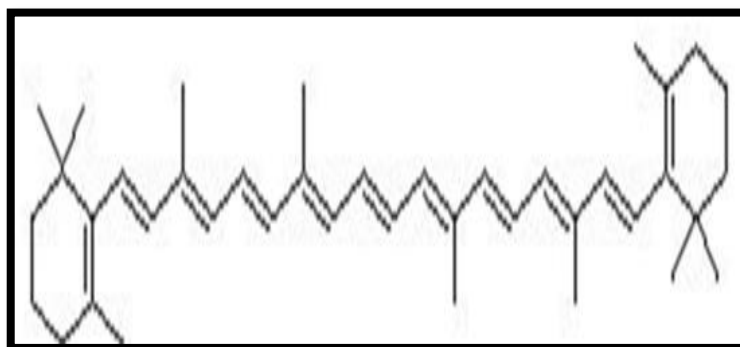


Figure 19: Structure de  $\beta$ -Carotène. (Omayma et Abdel Nasser, 2013).

### I.2.2.2.d.Oligo-éléments

De molécules antioxydants de petite taille (cuivre, zinc, sélénium). (**Pincemil et al.,2001**).

#### ✓ Le sélénium

Cet oligo-élément n'est pas en tant que tel un antioxydant mais il participe au processus de défense contre les espèces oxygénées activées(EOA) comme cofacteur de la glutathion peroxydase.

#### ✓ Le cuivre

Cet oligo-élément est un des cofacteurs essentiels du superoxyde dismutase. Toutefois, au même titre que le fer, il joue, en tant que métal dit de transition, un rôle important dans le déclenchement des réactions conduisant à la formation d'espèces oxygénées activées.

#### ✓ Le zinc

Cet oligo-élément est un des cofacteurs essentiels du superoxyde dismutase. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydants comme les métallothioneines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer.(**Mezzetti et al., 1998**).

### I.2.2.3.Antioxydants d'origine végétale

#### I.2.2.3.a.Polyphénols

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Ils regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (**Delattre et al., 2005**). L'activité antioxydant des composés phénoliques est principalement attribuable à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et extincteurs (qu'en chère) de l'oxygène singulet.(**Gulcinet al., 2010**). Globalement, ce sont d'excellents piègeurs des espèces oxygénées activées(EOA) et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Haleng et al., 2007**).

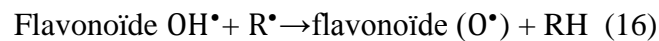
#### I.2.2.3.b.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques formés dans les plantes des acides aminés phénylalanine, tyrosine et malonate . La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydant et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles

## ***CHAPITRE II: SYSTEME OXYDANT, SYSTEME ANTIOXYDANT***

---

(OH•), anions superoxydes (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et radicaux peroxy lipidiques, par la donation directe d'atome d'hydrogène selon la réaction (16). **(Pasquier, 1995).**



Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C<sub>3</sub>-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles (OH•). En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Ils inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales **(Ghedira, 2005)**. En outre, les flavonoïdes sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et d'autres ROS, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclo oxygénase, lipooxygénase, mono oxygénase microsomal **(Densiov et Afanas'ev, 2005)**.

*Deuxième partie:*

**Matériels et méthode**

# DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

## II.1. Présentation de site expérimental

La Wilaya d'El-Oued est située au Sud-Est de l'Algérie, elle a une superficie de 586.80 44Km<sup>2</sup> (Neguia, 2014). Elle demeure une des collectivités administratives les plus étendues du pays. Elle est limitée:

- Au Nord est par la wilaya de Tebessa.
- Au Nord par la wilaya de Khenchela.
- Au Nord-Ouest par la wilaya de Biskra.
- l'Ouest par la wilaya de Djelfa.
- Au Sud et ouest par la wilaya de 'Ouargla.
- à L'est par la Tunisie (Neguia, 2014) (fig :20).

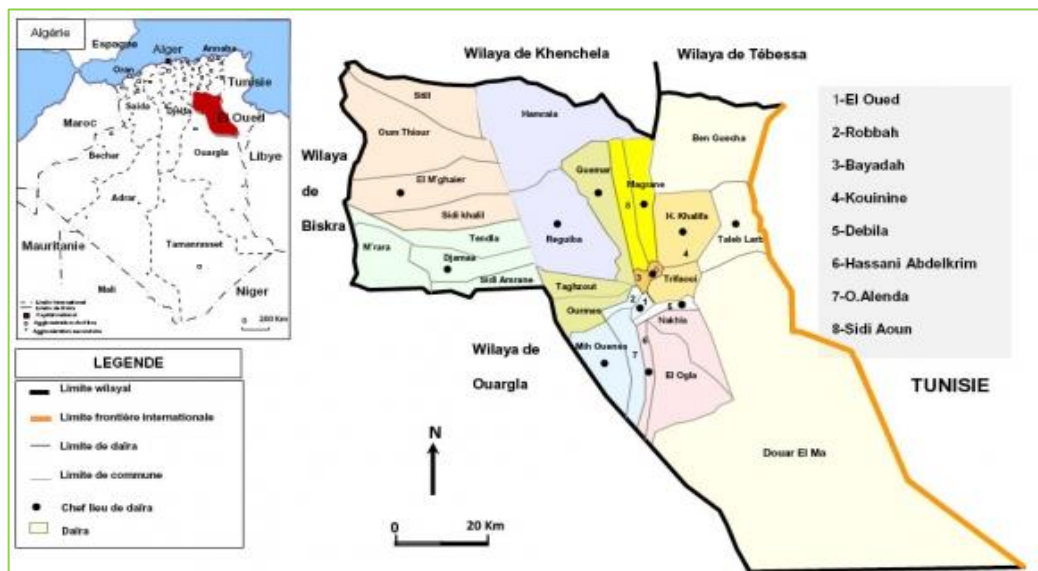


Figure20: Géolocalisation de la région d'El-Oued Souf ( Medarag et al.,2006).

### II.1.1. Caractéristiques climatiques de la région :

Le climat de région d' El-oued de type sec avec des étés chauds et des hivers doux , caractérisé par un faible taux des précipitations et des températures élevées, d'une évaporation importante et d'un rayonnement solaire excessif. Les vents sont fréquents et les plus violents se manifeste au mois du printemps ( Litiem et Zelaci , 2016 ) pour déterminer les caractéristiques climatiques de la région, Mettre en évidence les facteurs clés suivants :température, précipitation, éclairage, et l'humidité .

La région est caractérisée par une température accrue, en particulier en été, lorsque la température moyenne entre 2004-2013 a été estimée à 22,43 °C varier la température maximale en fonction des saisons, où la température élevée régnant à l'été à partir d' avril

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

(21,685 ° C) et dure jusqu'à la fin de septembre (28,92 ° C), où le taux de la chaleur au cours de ce mois à 34,64 °C au mois de juillet et au contraire, réduire la température en hiver, où la température moyenne dans le refroidisseur mois atteint 11,05 °C.

La proportion de précipitations dans la région est faible, la pluviométrie moyenne entre 2004-2013 estimée à 69.85 mm Parmi les caractéristiques les plus importantes de précipitations dans la région est l'irrégularité au cours de l'année .souvent, le pourcentage le plus élevé est en fin d'automne et le début de l'hiver mm7.96 mm 20,57 le reste des saisons sont sèches, à l'exception de quelques pluies occasionnelles gouttes sans valeur pour la végétation cela montre que la période de tarissement domine toute l'année.

La région reçoit une grande quantité de soleil , où un moyen en soleillement entre 2004 et 2013 est estimée par 279.91 h/mois .

La région est caractérisée par l'air sec, et l'humidité de l'air est souvent faible, en raison de l'absence de vapeur d'eau. L'humidité moyenne entre 2004 et 2013 est estimée à % 46.06, et le taux d'humidité maximum à 64,1 % en décembre, est le plus faible taux d'humidité en juillet 28.7% (**Bachouch et Mili , 2016**).

Le tapis végétal est discontinu et très irrégulier, les plantes utilisent surtout les emplacements où le ravitaillement en eau se trouve un peu moins défavorable qu'ailleurs. (**Chehma et Djebbar, 2008**).

Les travail de recherche a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique qui fait partie de faculté des sciences de la nature et de la vie sans oublier le laboratoire de valorisation et technologie des ressources sahariennes ( laboratoire de recherche appartient au faculté de technologie). De l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued.

### II.2. Matériels végétal

Les plante étudiée dans notre travail est : L'Arta (*Calligonum comosum* L'her).Un grand arbuste boisé, atteignant 2-3m dans la hauteur, s'est beaucoup embranché de la base (**Quezel et Santa, 1963**). Les branches sont vert foncé, articulées (claires) et très perdent rapidement leurs petites feuilles (congés) linéaires. Les fleurs sont trouvées à la base des nœuds et aux fins des branches. Six petits tepals forment le périanthe avec des anthères rouges remarquables. Le fruit est une circulaire seule (simple) carpel , n'excédant pas 1cm de diamètre et couvert de poils (cheveux) bruns-jaunes quand mûr. *Calligonum comosum*

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

*L'her*, produit de nombreuses fleurs dans le début du printemps (mars, avril) (fig : 21) (Hechifa et Merad, 2016).



**Figure 21:** Photographie de l'espèce de (*Calligonum comosum* L'her).

La classification des plantes de la famille des Polygonacées est la suivante (Tab:6).

**Tableau6:** Classification scientifique de *Calligonum comosum* L'her (Quezel et Santa, 1963).

| Règne              | Végétal                                 |
|--------------------|---|
| Sous embranchement | Phanérogames ou Spermaphytes.           |
| Classe             | Dicotylédons ou Eudicots                |
| Ordre              | Polygonales                             |
| Famille            | Polygonaceae                            |
| Genre              | Calligonum                              |
| Espèce             | <i>Calligonum comosum</i> L'her (1963). |
| Noms vernaculaires | Larta, Lartaya                          |

*Calligonum comosum* L'her (Larta) est largement distribué dans le Nord d'Afrique, Europe du Sud et de l'Ouest et en Asie centrale (Ahmed *et al.*, 2015).

Selon Chouikh *et al.* (2015), en Algérie la plante se trouve notamment dans les zones désertiques du le Sud-Est Algérien (Oued Souf).

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

### II.2.1. Récolte de la plante

La plante a phase végétative est récoltée à la fin du mois de octobre 2016 de quatre régions : Taghzout, Guemar , Hassani Abdelkrim , Echât (El-Oued).

### II.2.2. Préparation d'échantillon

L'échantillon est ensuite lavé puis séché à l'air libre et à l'ombre .Apré séchagela partie aérienne (feuille) de la plante est récupérée, on broie par mouleuse électrique pour obtenir la poudre de plante , stockée dans des bocaux fermés hermétiquement et placée dans un endroit à l'abri de la lumière et de la chaleur avant utilisation.

### II.3. Matériel d'étude au laboratoire

Les matériels utilise dans les différente teste et dosage regroupés dans le tableau (annexe 1).

### II.4. Méthode d'analyse

#### II.4.1. Mesure de pH

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre( Meter Lab M210) par méthode de **Mohammed *et al.* (2009)**. En met 5g de poudre dans 50 ml eau distille, et agité pendant 10 minutes, puis filtre la mélange est mesure le pH.

#### II.4.2.Extraction des composés phénoliques

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules poly phénoliques contenues dans les parties aériennes de la plante par macération en utilisant le méthanol ( $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{-OH}$ ) Pour extraire les polyphénoles de parties aériennes (feuille ) des plantes de la diférent région étudiées par macération, nous avons opté le protocole décrit par **Benbrinis (2012)**. Une quantité de la partie aérienne (feuille ) *Calligonumn comosum L'her* est mis à macérer dans méthanol sous agitation pendant 24 heures, à l'ombre et à température ambiante. L'extrait récupéré par filtration est soumis à une évaporation du méthanol sous pression réduite à 45°C dans un rota vapeur. La solution obtenue est séchée pour obtenir une poudre et conservé jusqu'à l'utilisation (annexe 1) (**Talbi *et al.*, 2015**)

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par **Falleh *et al.*(2008)**.

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}$$

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

**R:** est le rendement en. %

**M<sub>ext</sub>** :est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

**M<sub>éch</sub>**: est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

### II.4.3. dosage des polyphénols totaux

#### ➔ Principe

L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par le méthode de **Li et al.(2007)**. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Ribéreau , 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à environ 760nm (UV- VIS -1240)est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux(**Boizot et Charpentier, 2006**).

#### ➔ Mode opératoire

200  $\mu$ L d'extrait végétal dilué en méthanol est mélangé, la solution a été introduite à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans l'eau distillée. Après 4 minutes, 800  $\mu$ l de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à concentration de 7.5g/l ont été ajoutées, les solutions ainsi obtenues ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 2h à température ambiante.

#### ➔ Le calcul

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (60 - 120  $\mu$ g/ml), réalisée par la même procédure du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g EXS).

### II.4.4. Evaluation de pouvoir antioxydant

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de notre extrait phénolique, a été réalisée par deux tests in vitro , deux tests chimiques et l'autre biologique. Dans les tests chimique, on s'intéresse à mesure la capacité antioxydant total et mesuré l'activité de balayage d'un radical libre par les fractions antioxydant en employant le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl DPPH, et nous avons adopte une technique d'évaluation de l'état de défense des substances phénolique vis-à-vis de l'intégrité des cellules sanguine induit par un générateur des radicaux libre.

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

### II.4.4.1. Activité antioxydant totale

#### ➔ Principe

La capacité antioxydant totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phospho-molybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (V)  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo (V) à pH acide (Prieto *et al.*, 1999).

#### ➔ Mode opératoire

Un volume de 200  $\mu\text{l}$  de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 2 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 60 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 2ml de la solution du réactif et 200  $\mu\text{l}$  du solvant utilise et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. (Prieto *et al.*, 1999).

#### ➔ Courbe d'étalonnage

La courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g EXS)

### II.4.4.2. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH•)

#### ➔ Principe

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ou le  $\alpha$ - diphényl - $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote de couleur violet foncé. Lorsqu'il est en présence d'une substance pourvoyeuse d'atome d'hydrogène, il se réduit et devient jaune. La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. (Molyneux, 2004). (Fig:22).

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

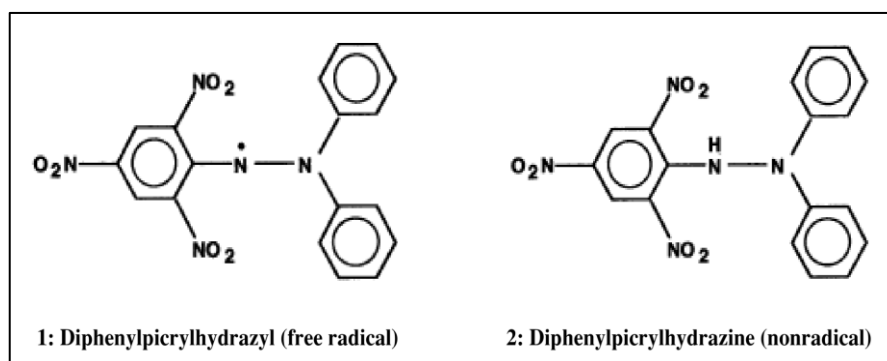


Figure 22 : Structure de DPPH et DPPH<sup>•</sup>(Molyneux, 2004).

### ➔ Mode opératoire

A 50 $\mu$ l de chaque solution d'extrait méthanolique à différentes concentrations est ajouté 1ml de la solution méthanolique du DPPH à 0.01M. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 $\mu$ l de méthanol avec 1ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard.

### ➔ Courbe d'étalonnage

Pour tracer la courbe d'étalonnage on utilise l'acide ascorbique comme un standard à différentes concentrations (20- 80  $\mu$ g/ml), dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

$$I \% \text{DPPH} = [(A_0 - A_s) / A_0] * 100$$

I %: Pourcentage d'inhibition.

A<sub>0</sub>: L'absorbance du contrôle.

A<sub>s</sub>: L'absorbance de l'échantillon (Dziri *et al.*, 2012).

### ➔ Détermination de la concentration inhibitrice IC 50%

Le paramètre IC<sub>50</sub> qui indique le pouvoir antioxydant d'un composé ou d'un extrait et qui est défini comme étant la concentration de l'extrait exprimée en mg/ml nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH. La valeur d'IC<sub>50</sub> de chaque extrait est déduite à partir des équations des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. (Bokhari *et al.*, 2013).

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

### II.4.4.3. Application du test biologique (test hémolyse)

#### ➔ Principe

Le test hémolyse a été réalisé par méthode d'**Abirami et al. (2014)** Ce test permet de suivre l'évolution positive ou négative d'une prescription, sur l'état de défense de l'individu vis-à-vis des radicaux libres) un globule rouge pour résister à cette agression jusqu'à ce que la membrane soit modifiée et que la cellule laisse échapper son contenu (**Maamri, 2008**). La lyse de cellule sanguine est induite par des générateurs de radicaux libres qui perturbent la membrane plasmique (peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , trichlorure de Fer  $FeCl_3$ , acide ascorbique (**Chouikh, 2015**)).

#### ➔ Mode opératoire

Le sang est récupéré sur anticoagulant EDTA. Le sang est dilué 2 fois dans l'eau physiologique. 20  $\mu$ l de globule rouge ajoutés à 1 ml d'extrait de *Calligonum comosum L'her*, et laisse bandent 05 min en 37° C après ajouter 20  $\mu$ l de solution peroxyde  $H_2O_2$  (30 mmol), 20  $\mu$ l de solution trichlorure de Fer  $FeCl_3$  (1%), 20  $\mu$ l solution acide ascorbique (50 mmol), le mélange placé dans un bain marie à température 37°C, après incubation 60 mn le mélange est centrifugé à 700 tr/mn pendant 10 min. la longueur d'onde du spectrophotomètre est fixée à 540 nm cette opération est répétée avec différentes concentrations de extrait.

#### ➔ Courbe d'étalonnage

Pour tracer la courbe d'étalonnage en prenant l'acide ascorbique comme un standard à différentes concentrations (40- 120  $\mu$ g/ml), dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions des échantillons.

Les résultats du test d'hémolyse sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la lyse des globules rouges. Le pouvoir d'inhibition a été calculé à partir de la relation suivante :

$$\% \text{ hémolyse} = [ \text{Abs}_{\text{contrôle}} / \text{Abs}_{\text{échantillon}} ] * 100$$

**Abs<sub>échantillon</sub>** : Absorbance de milieu réactionnelle en présence de l'extrait.

**Abs<sub>contrôle</sub>** : Absorbance de milieu réactionnelle en absence de l'extrait (**chouikh, 2015**).

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

### II.4.5. Analyses biochimiques

#### II.4.5.1. Dosage des Protéines totales

##### ➔ Principe

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu brillant de Coomassie G250. Le principe de la méthode est basé sur la fixation d'un colorant acide bleu de coomassie) sur les protéines au niveau de groupement amine (-NH<sub>2</sub>) des résidus protéiques pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). Ce changement de coloration est mesuré à une longueur d'onde de 595nm par spectrophotomètre(UV- VIS -1240)(**Sbartai, 2008**).

##### ➔ Mode opératoire

100 mg d'échantillon est broyé dans un mortier avec 5ml d'eau distillé, puis filtre et versé dans de tube avec 5ml autres contenant de l'eau distillé .Dans des tubes à essai propre, on prélevé 0.2ml de l'échantillons végétal et 1.6ml eau distillé, 0.2ml du réactif de (BBC) sont ajoutés au vortex. Après 5min à 1h la lecture se faite au spectrophotomètre à la longueur d'onde 595nm. Après l'étalonnage de l'appareil par la solution témoin (1.6ml eau distillé +0.2ml du réactif de BBC).

##### ➔ Courbe d'étalonnage

La quantité de protéines est exprimée en µg/g de MF par rapport à une courbe d'étalonnage faite avec des concentrations connues. Et le de sérum albumine bovine (BSA) comme standard.

#### II.4.5.2. Dosage d'activité Le Glutathion (GSH)

##### ➔ Principe

Le taux du glutathion est quantifie selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**. Dont le principe repose sur la mesure chlorométrique de Le complexe résultant de la réduction de l'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le groupement thiol (-SH) du glutathion mesure a une longueur d'onde de 412nm.

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

### ➔ Mode opératoire

500mg de feuilles fraîches est broyé à froid avec 4ml tampon phosphate (0,1 M pH=6,5) le broyat filtré et centrifugé à 5000tr/mn pendant 15mn. L'homogénat doit d'abord subir un déprotéinisation par l'acide sulfosalysilique ASS (0,25%). Pour cela, au 0,8ml de l'homogénat sont additionnés 0,2ml d'ASS, le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace puis centrifugé à 1000 tr/min pendant 5min. Le surnageant est utilisé comme source d'enzymes et il doit être conservé au congélateur à -80°C jusqu'au moment du dosage.

Le volume réactionnel contient : 0,5ml d'extrait enzymatique, 1ml tampon tris-EDTA, 0,025ml DTNB. L'étalonnage de l'appareil se fait par 0,5ml eau distillé, 1ml tampon Tris-EDTA, 0,025ml DTNB.

### ➔ Le calcul

La concentration du GSH est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH} = \left( \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5} \right) \times \frac{1}{\text{mg de protéines}}$$

La concentration du GSH est exprimée en  $\mu\text{mole/mg}$  de protéines .

**DO**=Densité optique.

**1**:Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation=0,8ml d'homogénat+0,2ml d'ASS.

**1,525**: Volume total des solutions utilisées dans le dosage de la GSH au niveau du surnagent = 0,5 ml surnagent+1ml Tris-EDTA+0,025ml DTNB.

**13,1**:Coefficient d'absorbance (concernant le groupement (-SH) à 412nm).

**0,8**: Volume de l'homogénat trouvé dans 1 (ml).

**0,5** : Volume du surnagent trouvé dans 1,525.

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

### II.4.6. Evaluationl'activité enzymatiques

#### ➔ Préparation de l'extrait enzymatique

Pour obtenir l'extrait enzymatique de la plante est réalisé la méthode de «**Loggini et al.(1999)** cité par (**Sbartai, 2008**)» L'extrait sera utilisé pour la mesure de l'activité catalase. 0,5g de feuilles sont broyées avec 25ml de solution tampon phosphate pH=7 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Le broyat récupéré est centrifugé à 5000tr/mn pendant 5min. Le surnageant est filtré pour l'obtention de l'extrait enzymatique qui sera conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

#### II.4.6.1. Dosage de l'activité Catalase (CAT)

##### ➔ Principe

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de **Cakmak et Horst (1991)**. La catalase est un enzyme permettant la transformation de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau H<sub>2</sub>O) et dioxygène (O<sub>2</sub>). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes (UV- VIS -1240) pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire  $\epsilon = 39400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$ .

##### ➔ Mode opératoire

Le mélange réactionnel contient : 100µl de l'extrait enzymatique brut, 50µl de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 0,3% et 2850µl de tampon phosphate (50mM, pH=7,2). L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique. La réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée .

##### ➔ Le calcul

Activité de catalase exprimée en µmol oxydé /min/g de MF. Elle est calculée par la formule suivante:

$$A_{\text{ct}} = \frac{\Delta A \times V_t}{\epsilon \times \Delta t \times L \times V_e \times p}$$

**Act:** Activité enzymatique en moles/min/mg de protéines  $\epsilon$ : coefficient d'extinction

Linéique molaire en (M).

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

**ΔA:** Différence moyenne de l'absorbance.

**Vt:** Volume total du mélange réactionnel en (ml).

**Ve:** Volume de l'extrait enzymatique en (ml).

**L:** Largeur de la cuve de mesures en (cm).

**P:** Poids des protéines en (mg) **T:** temps de lecture en (min).

### II.4.6.2. Dosage de l'activité Glutathion S-Transférase (GST) :

#### ➔ Principe

Le dosage de la glutathion S-transférase est réalisé par la méthode de (**Habig et al., 1974**) Elle basant sur la cinétique de formation d'un complexe entre un substrat des GST: le 1-chloro-2-4-dinitrobenzène (CDNB), et le glutathion (GSH). Le complexe formé peut être visualisé par une augmentation de la densité optique à une longueur d'onde de 340 nm.

#### ➔ Mode opératoire

Les échantillons sont homogénéisés dans un 1ml tampon phosphate (pH = 6 et à 10mM). L'homogénat est centrifugés à 14000 trs/mn pendant 30min et la surnageant récupère servira comme source d'enzyme.

La méthode consiste à faire réagir 200 μl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)+GSH (5mM) (20,26 mg CDBN 153,65 mg GSH , 1ml éthanol , 100ml tampon phosphate (0,1 ph 6 ) la lecture des absorbances est effectuée tous les 1min pendant 2min à 340 nm. Contre un blanc contenant 200μl d'eau distiller remplaçant la quantité du surnageant

#### ➔ Expression des résultats

Les concentrations de la GST sont exprimées en nmoles/min/mg de protéines.

$$\text{GST} = \frac{\Delta \text{DO}}{9.6} \times \frac{Vt}{Vs} / \frac{1}{\text{mg de proteines}}$$

**ΔDo :** Pente de droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction de temps.

**9,6 :** Coefficient d'extinction molaire du CDNB.

## DEUXIEME PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

---

**Vt:** Volume totale dans le cuve :1,4 ml surnageant +1,2 ml du mélange CDNB/ GSH

**Vt:** Volume de surnageant dans la cuve : 1,2 ml.

**Mg de protéines :** quantité de protéines exprimée en mg.

### II.4.7. Analyses Statistiques

Dans cet étude le résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, Les valeurs d'IC50% (concentration inhibitrice à 50% , test DPPH) et I% (pourcentage d'inhibition , test hémolyse ) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].En utilisant le logiciel MINITAB (version 13 fr )pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA un facteur .

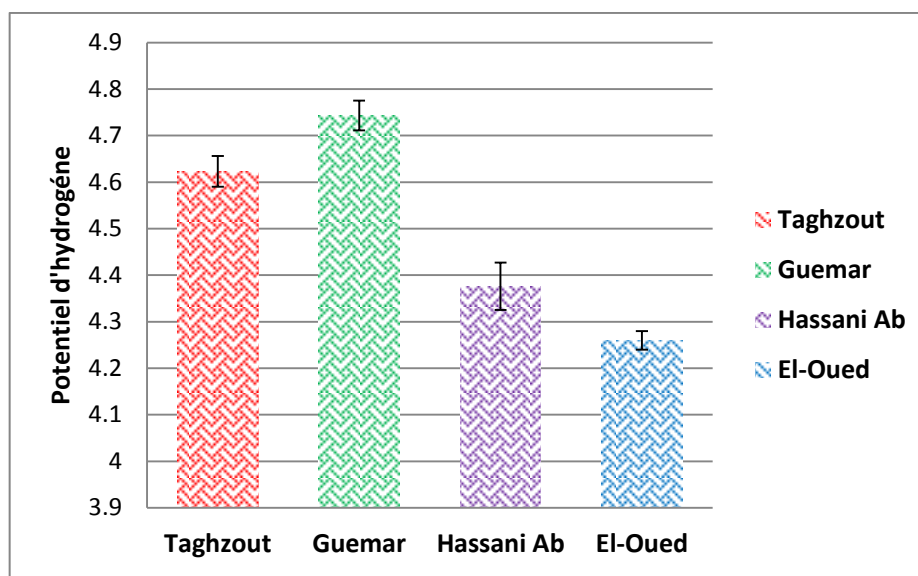
*partie III*: résultats et  
discussion

# PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

## III.1. Résultats

### III.1.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Les résultats de la mesure de potentiel d'hydrogènes de la plante reportent dans le figure (23) , qui montrent que les valeurs du pH de la plante étudiée sont variées entre (4.2.-4.8).



**Figure 23:** Variation de valeur pH de plante.

Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA(AV1) pour le paramètre de potentiel d'hydrogène (figure23) montrent qu'il y a une différence très hautement significative en fonction de variation des régions(\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

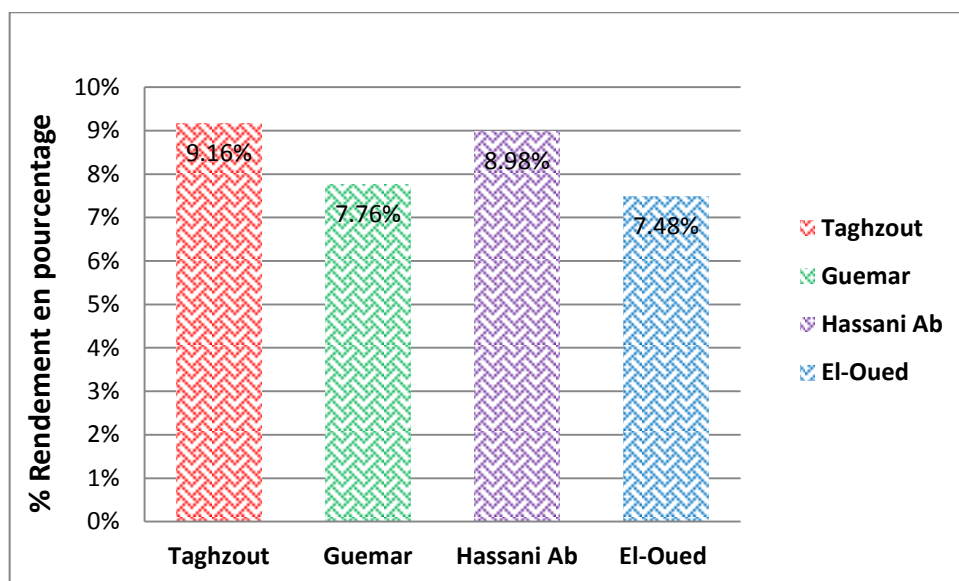
### III.1.2. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Le rendement de l'extraction qui est le rapport entre le poids d'extrait et le poids de plante est donné dans le tableau (08) et figure (24).

**Tableau 07:** Rendements des extraits obtenus à partir plantes récolte à quatre régions.

| Régions           | Caractères organoleptiques |               | Rendement % |
|-------------------|----------------------------|---------------|-------------|
|                   | Aspect                     | Couleur       |             |
| <b>Taghzout</b>   | Poudre                     | Marron foncé  | 9.16        |
| <b>Guemar</b>     | Poudre                     | Marron foncé  | 7.76        |
| <b>Hassani Ab</b> | Poudre                     | Marron foncé  | 8.98        |
| <b>El-Oued</b>    | Poudre                     | Marron claire | 7.48        |

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure24:** Variation de rendement des extraits obtenues à partir la plante étudiée.

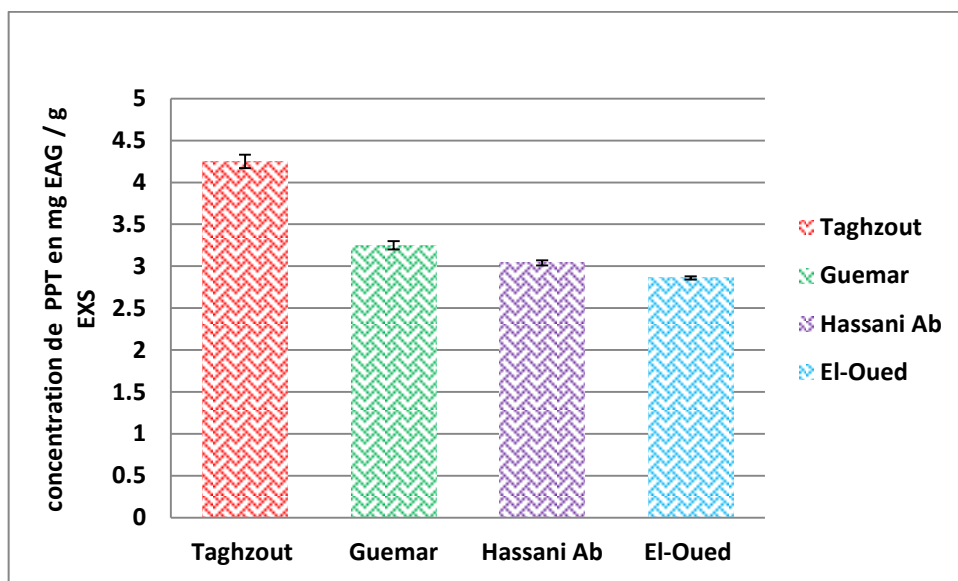
Selon le figure (24) la plante a donné de masse en extrait sec de rendement différents, et a donné le rendement le plus élevé pour la région Taghzout est de (9.16%) suivie par les extraits des échantillons de région Hassani Abdelkrim avec de taux(8.98%). Le rendement le plus faible est enregistré au niveau de Guemar et El-Oued avec une teneur de (7.76% et 7.48%) respectivement.

### III.1.3. Quantification des polyphénols totaux (PPT)

La teneur en phénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour les extraits à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique l'équation standard de courbe :  $y = 2.0345x - 0,0276$  ;  $R= 0.9856$ .

(annexe2) Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de l'extrait sec (mg EAG/gEXS). Les résultats présentés dans la figure (25).

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 25:** Variation de teneurs en phénols totaux des quatre extraits.

D'après la figure (25) nous avons observé une variabilité des teneurs en polyphénols dans la plante étudiée. montre que l'échantillon du Taghzout est la plus haute teneur en polyphénols ( $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS), suivie par l'échantillon de Guemar ( $3.25 \pm 0.11$  mg EAG/g EXS) et Hassani Abdelkrim ( $3.04 \pm 0.03$  mg EAG/g EXS). enfin l'extrait de région El-Oued ( $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS).

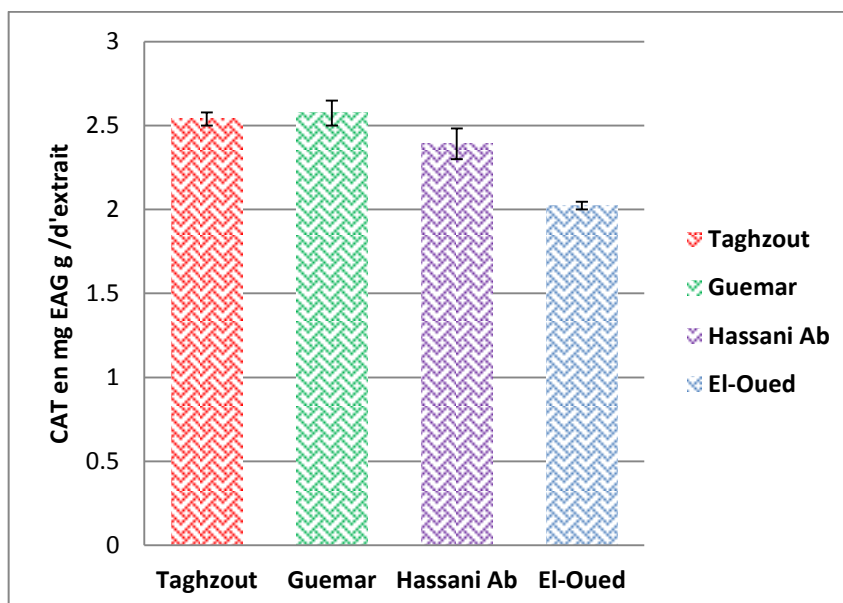
Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le paramètre de polyphénol totaux (figure 25) montrent qu'il y a une différence très hautement significative en fonction de la variation des régions (\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

### III.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

#### ✓ Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale (CAT) est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait sec). Le taux de capacité antioxydante totale des extraits ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique ayant l'équation:  $Y = 2.905X + 0.0175$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.9934$ . (annexe2). Nos résultats sont présentés dans la figure (26)

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 26:** Variation de capacité antioxydante total de différent extrait.

D'après le figure (26) les résultats montrent que tous les extraits présentent des activités antioxydantes différentes. Échantillons de Guemar possèdent la meilleure capacité antioxydante totale de l'ordre de ( $2.574 \pm 0.074$  mg EAG/g EXS), suivi par l'extrait Taghzout avec ( $2.539 \pm 0.039$  mg EAG/g EXS) et par l'extrait de Hassani Abdelkrim avec ( $2.391 \pm 0.091$  mg EAG/g EXS) et pour El-Oued avec capacité ( $2.023 \pm 0.023$  mg EAG/g EXS).

Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA(AV1) pour le paramètre la capacité antioxydante total (CAT) (figure 26) montrent qu'il y a une différence très hautement significative en fonction de variation des régions(\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

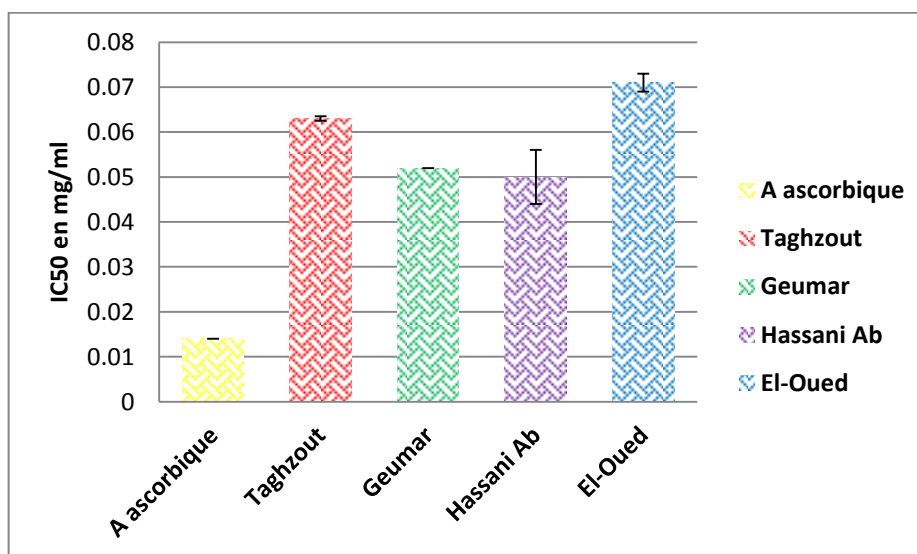
### ✓ Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH<sup>\*</sup>) à la couleur jaune DPPH-H) mesurable à 517nm.

Les capacités antioxydantes des extraits des plantes étudiées ont été déterminées et comparées à l'activité de composé anti-radicalaire étalon, l'acide ascorbique. Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en terme de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC<sub>50</sub>). Ces IC<sub>50</sub> sont déterminées à partir des courbes de chaque extrait dans l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. (annexe 2) on utilise l'acide ascorbique comme standard ayant l'équation:  $Y = 3.624x + 3.09$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.980$ .

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les pouvoirs anti-radicalaires de l'extrait sont présentés dans la figure (27).



**Figure 27:** Variation de valeur IC50 des différents extraits.

Selon le résultat présenté dans les figures (27), nous avons observé une variabilité dans les valeurs IC 50 au niveau de quatre régions pour plantes étudiées. L'IC 50 plus faible nous avons constaté à Hassani Abdelkrim avec de teneur (0.050 ± 0.006 mg/ml). Et (0.052 ± 0.000 mg/ml) pour plante de Guemar et Taghzout (0.063 ± 0.0005 mg/ml), enfin El-Oued avec la valeur (0.071 ± 0.002 mg/ml), qui sont largement supérieures à celle de l'acide ascorbique de dont la valeur est (0.014 mg/ml).

Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le IC50 (figure .27) montrent qu'il y a une différence très hautement significative en fonction de variation des régions (\*\*\*) (P < 0,05).

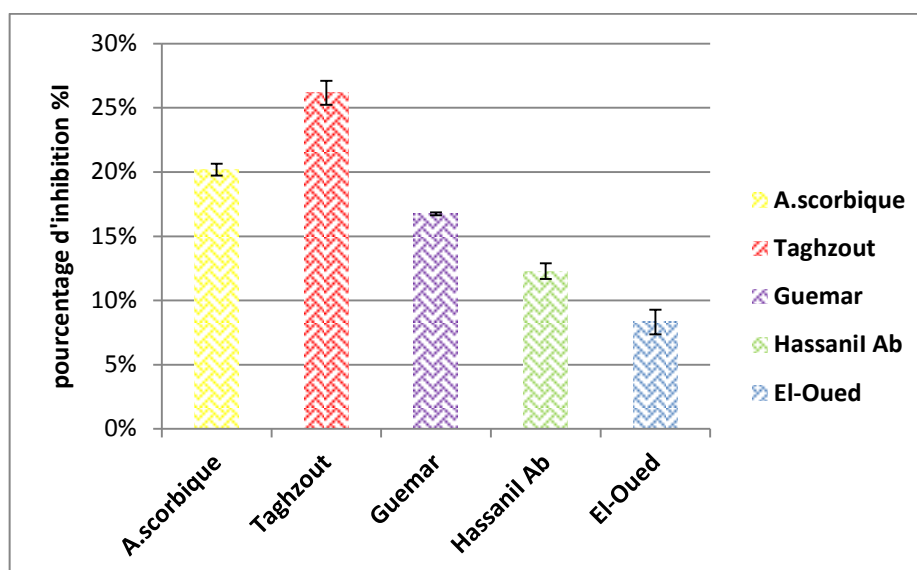
### ✓ Test biologie (test hémolyse)

L'exposition des érythrocytes à une attaque radicalaire conduisant donc à la rupture de leurs membranes plasmiques avec libération du contenu cellulaire mesurable à 540 nm.

Les résultats de ce test expriment sous forme de pourcentage d'inhibition (I%) déduit de mesures pour de concentration 0.8 mg/ml. On utilise l'acide ascorbique comme standard ayant l'équation:  $Y = -50.211x + 67.301$  avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.9601$ .

Les pourcentages d'inhibition du test hémolyse mesure pour la concentration 0.8 mg/ml présenté dans la figure (28).

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 28:** Variation de pourcentage d'inhibition du test hémolyse.

Les résultats illustrés dans le figure(28) montrent que le pourcentage d'inhibition le plus faible a été enregistré dans la région El-Oued ( $8.32\% \pm 0.950$ ) tandis que plante de Guemar et Hassani Abdelkrim le pourcentage d'inhibitions ( $16.74\% \pm 0.108$ ,  $12.27\% \pm 0.610$ ) respectivement, contrairement au Taghzout le pourcentage d'inhibition qui a été estimé à ( $26.163\% \pm 0.949$ ), Ces valeurs sont très élevées par rapport acide ascorbique ( $20.18\% \pm 0.00$ )

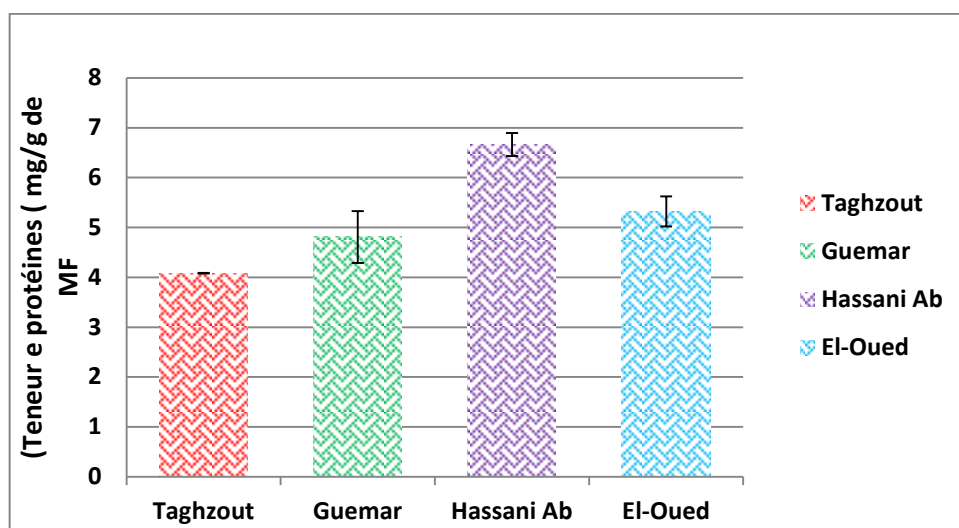
Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA pour le paramètre de I% (figure.28) montrent qu'il y a une différence très hautement significative en fonction de variation des régions (\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

### III.1.5. Evaluation l'activité non enzymatiques

#### ✓ Teneur en protéine

La teneur en protéines est exprimée en milligramme par gramme de matière fraîche (mg /g de MF). Les taux des Protéines ont été obtenus à partir du courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :  $y = 0.163x + 0.0135$  sachant que  $R^2 = 0.974$  (annexe 2) . Les résultats présentés dans le figure (29) .

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 29:** Variation de quantité de protéines dans les matières fraîches.

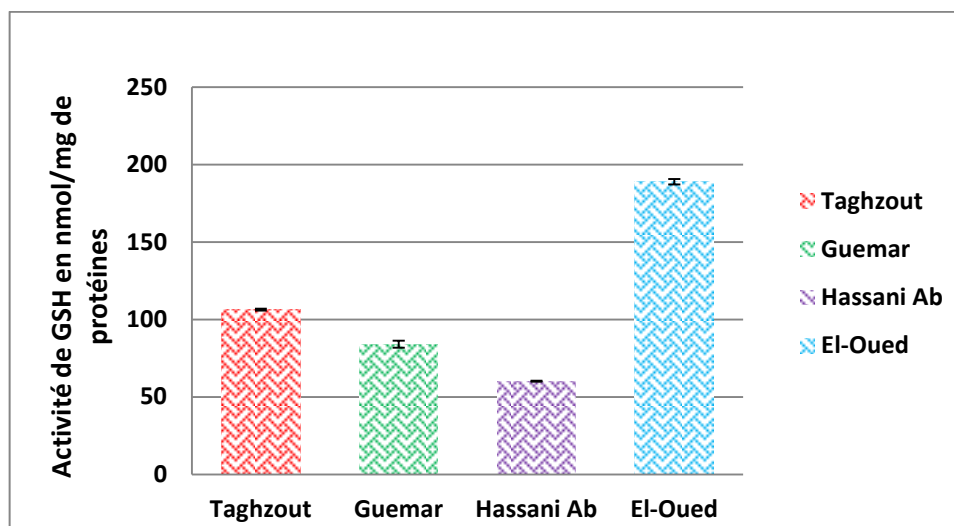
Nos résultats (figure .29) montrent la présence élevée des protéines dans tous les extraits étudiés mais la concentration la plus élevée est marquée chez région Hassani Abdelkrim ( $6.663\pm 0.230$  mg/g de MF), suivi par plante de région El-Oued ( $5.32\pm 0.3$  mg/g de MF), alors que pour Taghzout il est ( $4.083\pm 0.04$  mg/g de MF). Plante de Guemar présente ( $4.810\pm 0.52$  mg/g de MF).

Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le paramètre des protéines (figure. 29) montrent qu'il y a une différence très hautement significative sur le facteur variation de régions (\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

### ✓ **Activité de glutathion (GSH)**

Résultats de la teneur contenu en glutathion (GSH) dans la plante étudiée *Calligonum comosum* L'her sont présentés dans la figure (30).

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 30:** Variation de la quantité du GSH en fonction des différentes régions.

Les résultats montrent que la plante de Hassani Abdelkrim a la faible concentration ( $60.172 \pm 0.28$  nmol/mg des protéines de MF). Par contre, El-Oued a été noté un bon contenu en glutathion ( $189.0 \pm 1.74$  nmol/mg des protéines de MF). Pour la plante de Taghzout, nous remarquons que le contenu de GSH ( $106.450 \pm 0.58$  nmol/mg des protéines de MF). Pour Guemar, la concentration de GSH dans la plante représente ( $84.15 \pm 2.26$  nmol/mg des protéines de MF).

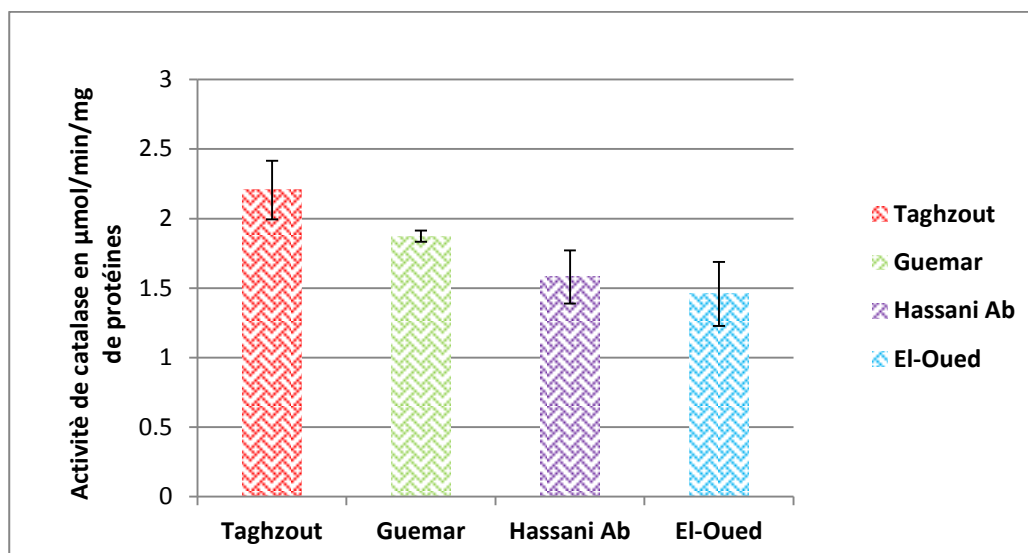
Les résultats de l'analyse statistique test ANOVA (AV1) pour le paramètre des GSH (figure.30) montrent qu'il y a une différence très hautement significative en variation des régions (\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

### III.1.6. Evaluation l'activité enzymatiques

#### ✓ Activité enzymatique de la catalase

Les résultats obtenus de l'activité catalase en fonction des différentes régions sont représentés sur la figure (31).

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 31:** Variation de l'activité de catalase .

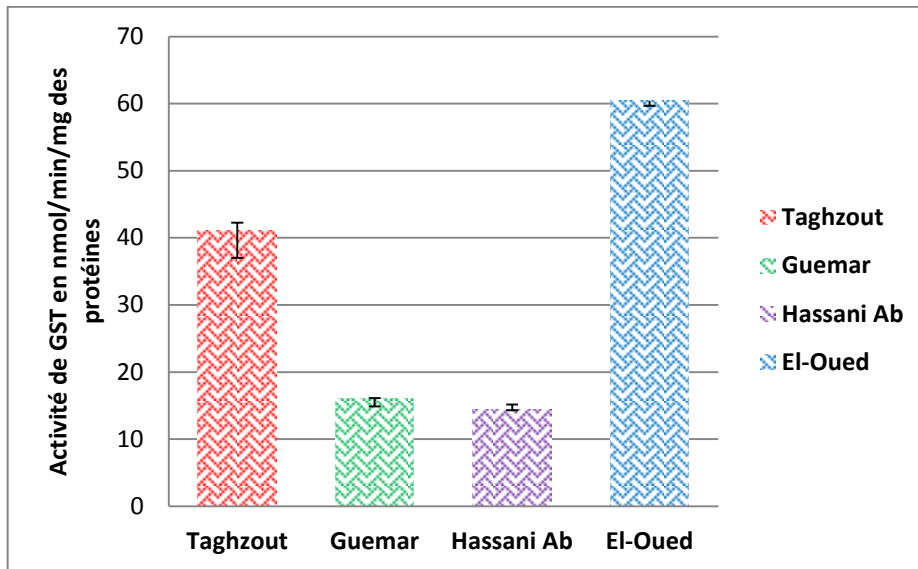
Nos résultats montrent que l'activité de cette enzyme est faible chez l'échantillon d'El-Oued ( $1.458 \pm 0.231 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  des protéines de MF). Par contre cette enzyme (la catalase) est caractérisée par une bonne activité dans la plante de Taghzout ( $2.205 \pm 0.218 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  des protéines de MF). Tandis que dans l'activité catalasique la plante de Guemar est ( $1.872 \pm 0.045 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  des protéines de MF), Alors que pour l'échantillon Hassani Abdelkrim caractérisé par une activité ( $1.580 \pm 0.191 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  des protéines de MF).

Les résultats de l'analyse statistique par tANOVA(AV1) pour le paramètre des activités catalase (figure 31) montrent qu'il y a une différence très hautement significative sur le facteur variation de régions (\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

### ✓ **Activité de Glutathion S-Transférase (GST)**

Les données obtenues après dosage de l'activité spécifique GST exprimées en nmoles/min/mg de protéines mesurées sont regroupées dans les figures (32).

## PARTIE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 32:** Variation de l'activité de glutathion S-transférase (GST).

D'après le figure .31, on remarque que la bonne activité de cette enzyme enregistrée chez échantillon d'El-Oued ( $60.407 \pm 0.72$  nmol/min/mg des protéines de MF) suivi par Taghzout par ( $41.11 \pm 4.110$  nmol/min/mg des protéines de MF) par contre échantillon de Guemar et Hassani Abdelkrim en remarque une faible activation de cette enzyme ( $16.023 \pm 1.14$ ,  $14.430 \pm 0.104$  nmol/min/mg des protéines de MF) respectivement.

Les résultats de l'analyse statistique teste ANOVA(AV1) pour le paramètre des activités de GST (figure 32) montrent qu'il y a e différence très hautement significative en variation des régions(\*\*\*) ( $P < 0,05$ ).

## **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

---

### **III.2. Discussion générale.**

Le potentiel d'hydrogène est une des variables utilisées pour caractériser les propriétés des milieux. De nombreuses études se sont attachées à corrélérer sa valeur à des lois cinétiques de réactions, des qualités organoleptiques de produits ou encore des activités enzymatiques (**Boukhiar , 2009**). Nos résultats montrent que (pH) des solutions aqueuses de *Calligonum comosum* L'her est acide avec le max valeur enregistré au plante de Taghzout(4.75) et la mini valeur chez plante d'El-Oued (4.2). Ces résultats sont accord avec ceux trouvé par **Ali Sadiq et al .(2003)** d'après leur travail sur purification physico-chimique et partielle de composés alcaloïdes bruts en barries, feuilles et racines de plantes ( *Solanum nigrum* ) . La variation de potentiel d'hydrogène peut être due aux facteurs génétique (**Tembesi, 1994**) aussi peut due à la saleté et les facteurs climatique, l'irrigation et la fertilisation. (**yurtsevenet al ., 2005**).

La méthode d'extraction de polyphénols doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique (**Sun et al., 2005**) . Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécule polaires de moyenne et de faible polarité (**Seidel, 2005**). Les études précédentes montrent que le méthanol un des solvants les plus utilisés pour une haute récupération de composés phénoliques (**Benbrinis, 2012**) et l'obtention d'une meilleure activité antioxydante (**Barroset al., 2010**). Ce solvant a été utilisé dans cette étude pour obtenir les extraits à partir de la partie aérienne (feuilles) de *Calligonum comosum* L'her.

D'après nos résultats de l'extraction de composés phénoliques montrent le rendement optimum marque à plante de Taghzout et la minimum chez plante de El-Oued . Nos résultats viennent à confirmer à ceux trouvés par **Hechifa et Merad (2016)** à savoir que l'extrait à l'air libre et l'extrait fraîche d'*Calligonum comosum* l'her sont présentant des valeurs de 10.02% et 8.28%. Ce résultat est plus faible en comparaison avec nos résultats.généralement associée à des rendements d'extraction divers composés de plantes à la polarité de la solution qui détermine à la fois la quantité et le type de composés extraits antioxydant, et le temps d'extraction et la température et la proportion de l'échantillon de la solution . Cela peut être dû à la différence dans la situation géographique et de la collecte sélective, ou bien aux des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Leeet al., 2003**). Le solvant peut aussi intervenir parfois dans l'extraction les matériaux non-phénoliques tels que les colorants et les

## **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

graisses et les protéines et les sucres, conduisant à un manque de pureté de rendement et faible valeur nette et a valeur nette basse( **Djeridane et al., 2007** ).

Les composés phénoliques comme les acides phénoliques sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité anti-oxydante des plantes (**Li et al.,2007**) . C'est la raison pour la quelle, les dosages des polyphénols totaux, de la partie aérienne ( feuilles ) de plante étudiée . l'extrait d'*Calligonum comosum L'her* de région Taghzout est présenté les plus grands valeurs de polyphénols ( $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS) . Par rapport aux autres régions étudiées. Ces résultats importantes reflètent les résultats trouvés où nous avons enregistré des rendements élevés des extraits bruts ce qui prouve la richesse de plante en polyphénols .Tandis que El-Oued ( $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS) .

D'après **Hechifa et Merad (2016)** la teneur des polyphénols totaux d'extrait de *Calligonum comosum L'her* fraîche est égale à ( $235.99 \mu\text{g EAG/g EXS}$ ).Ce résultat est relativement très faible par rapport à nos résultats. Autre résultats sont équivalents et comparable à ceux trouvés par **Adjal et Mekki (2015)** la teneur des polyphénols totaux d'extrait d'*Calligonum comosum L'her* est égale ( $3.28\text{mgEAG/g EXS}$ ) . La variation de teneur de polyphénols totaux du entre différents extraits peut être due à la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles . (**Benbrinis, 2012**). En générale, la teneur des polyphénols varie quantitativement d'une plante à autre , cela peut être attribué à plusieurs facteurs:

- Facteurs environnementaux : la zone géographique , sécheresse , sol , agressions et maladies...etc. ( **Ebrahimi et al., 2008**).
- Le facteurs génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (**Miliauskas et al., 2004**)
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2003**).
- le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (**Hamia et al., 2014**).
- les conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) (**Ksouri et al.,2008**),

Les processus oxydatifs sont multiples et la nature de l'activité antioxydant peut être multiforme et attribuée à différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres , capacité antioxydante totale (**Ozen , 2009**) . Le test du pouvoir

## **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

réducteur du phosphomolybdate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques (**Prieto et al., 1999**).

Nos résultats montrent que l'extrait de *Calligonum comosum* L'her possède un faible pouvoir réducteur. L'extrait de Guemar possède la meilleure capacité antioxydante totale de l'activité antioxydante minimale observée à l'extrait d'El-Oued. Nos résultats sont contraires à ceux trouvés par **Adjel et Mekki (2015)**. La capacité antioxydante totale enregistrée par la même espèce est égale ( $275.41 \pm 23.77$  mg AG E/g Extrait). D'après **Belyagoubi et Benhmmou (2011)** la capacité antioxydante totale des extraits de *Inulamontana* L est ( $1.637 \pm 0.802$  mg AG E/g Extrait). Ce résultat est relativement très faible par rapport à nos résultats. Très peu de chercheurs se sont intéressés à l'étude du pouvoir réducteur du phosphomolybdate dans différents environnements de la région (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim, El-Oued) de la plante *Calligonum comosum* L'her. En fonction de ces résultats, il n'existe pas de relation entre la teneur totale en polyphénol et la capacité antioxydante totale, l'activité antioxydante des extraits ( $R_2=0.395$ ) confirme ce qui est largement répandu dans la littérature (**Sun et al., 2005**). Il est très accepté que ce n'est pas nécessairement la forte teneur en polyphénols qui exhibe une activité antioxydante puissante (**Moure et al., 2001**). La seule explication de l'absence de cette corrélation est due à la synergie des composés phénoliques dans les extraits méthanoliques (**Rice-Evans et al., 1997**) et que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration mais aussi de la structure de ces molécules. La faible capacité peut être due à la polarité des solvants qui changent la capacité de dissoudre un groupe choisi de composés antioxydants, ce qui influence l'évaluation de l'activité antioxydante. (**Turkmen et al., 2007**) et due à la structure et nature des composés phénoliques et leur concentration dans les tissus végétaux (**Rice-Evans et al., 1997**).

L'activité antioxydante de tous les extraits a été évaluée par le test DPPH. Dans cet essai les antioxydants réduisent et décolorent le radical DPPH, à un composé jaune le diphenylpicryl hydrazine, l'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants de donner l'hydrogène (**Ardestani et al., 2007**). Cette activité peut être due à la richesse de ces extraits en composés phénoliques. (**Ahrizat et Sobti, 2016**). En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (**Javanovic et al., 1994**).

Nos résultats montrent que les extraits méthanoliques de *Calligonum comosum* L'her de la région Guemar présentent une bonne activité de piégeage des radicaux libres par

## ***PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION***

rapport les autres régions et El-Oued nous remarquons une faible activité de piégeage des radicaux. Les résultats obtenus par **Abdo et al. (2015)** sur l'activité anti-radicalaire d'extrait de *Calligonum comosum L'her*, a révélé que  $IC_{50} = 0.029 \text{ mg/ml}$ . Ce résultat est relativement faible par rapport à nos résultats. Aussi d'après l'étude de **Ashour et al. (2012)** montre que le pourcentage d'inhibition I% d'extrait de même plante à concentration (0.05 mg/ml) est de 70.6%. Ce résultat est relativement élevé par rapport à nos résultats. D'après **Adjel et Mekki (2015)** le pourcentage d'inhibition  $IC_{50}$  d'extrait *calligonum comosum L'her* obtenu par méthode d'extraction ultrason est 0.05 mg/ml. Ces résultats sont proches aux nos résultats. La variation de capacité de piégeage de radicaux libres dans différentes régions due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (**Torres de pinedo et al., 2007**), l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, méthoxylés, glycosylés et le degré de polymérisation (**Popovici et al., 2010**). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (**Rodriguez-Bernaldo et al., 2010**). L'état géographique et climatique dans différentes régions pourrait entraîner à la fois dans le contenu des composés bioactifs et leur bioactivité. (**Ghasemiet al., 2010**).

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en l'hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (**Meziti, 2009**). Dans ce test biologique les hématies sont soumises à une agression oxydante, production contrôlée de radicaux libres par  $(FeCl_3)$  et  $(H_2O_2)$ . L'eau oxygénée peut avoir plusieurs destinations. En présence de fer  $Fe^{++}$ , elle est transformée en radical hydroxyle OH par la réaction de Fenton. Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les acides gras polyinsaturés, formant parfois d'autres radicaux libres (**Barouki, 2006**). L'oxydation radicalaire des acides gras des membranes lipidiques (peroxydation lipidique) des globules rouges conduit à l'hémolyse et la libération d'hémoglobine (**Portier et al., 2007**).

Nos résultats montrent que le maximal pourcentage d'inhibition ( $26.163\% \pm 0.94$ ) est obtenu avec l'extrait de Taghzout à la concentration 0.8 mg/ml. En revanche, les extraits de région El-Oued à la même concentration avec le plus faible pourcentage ( $8.39\% \pm 0.89$ ). L'acide ascorbique s'est avéré l'antioxydant primaire dans le plasma (**Feri, 1990**) il est classé parmi les antioxydants les plus puissants connus, l'extrait de région Taghzout est plus efficace contre l'oxydation des lipides dans la membrane d'érythrocyte que la vitamine C.

### **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

---

cette différence d'activité pourra être due à l'effet de la solubilité des composés dans les milieux réactionnels. Puisque l'acide ascorbique (vitamine C) est classé comme un composé hydrosoluble, il peut agir alors contre la propagation radicalaire. Or nos extraits phénoliques montrent l'activité à l'encontre des radicaux libres plus efficaces que celle observée pour l'acide ascorbique.

De nombreuses études ont démontré la capacité des composés phénoliques pour protéger les globules rouges contre les stress oxydatifs (**Valente et al., 2011**). Il peut être aussi due à la présence des flavonoïdes dans les membranes cellulaires qui sont les sites de peroxydations lipidiques (**Ferrali et al., 1997**). Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle ( $C_3-OH$ ) fortement réactif. Effectivement, plusieurs études photochimiques ont mis en évidence la présence de flavonoïdes dans les extraits de *Calligonum comosum* L'her (**Gori et Tebbale, 2014 ; Abdo et al., 2014**). Tandis que l'extrait phénolique d'autres régions moins efficace contre l'oxydation des lipides dans la membrane d'érythrocyte que la vitamine C. Cette différence d'activité pourra être due à la présence de saponosides pendant l'incubation des érythrocytes avec les extraits et avant l'exposition à l'attaque radicalaire que les extraits eux-mêmes provoquent une hémolyse importante. Selon la littérature, l'effet hémolytique des extraits de plantes est attribué à la présence de saponosides (**Chwalek, 2004**). Ces composés, connus depuis très longtemps pour leur propriété tensioactive (solution moussante dans l'eau) ou encore leur capacité à lyser les globules rouges. Le mécanisme hémolytique des saponosides est dû à la formation d'un complexe avec le cholestérol membranaire formant des structures assimilables à des pores ou des puits, altérant ainsi la perméabilité membranaire et conduisant à la destruction du globule rouge (**Sparget et al., 2004**). Effectivement, plusieurs études phytochimiques ont mis en évidence la présence de saponosides dans les extraits des feuilles de *Calligonum comosum* L'her (**Adjel et Mekki, 2015; Hechifa et Merad, 2016**).

Concernant la teneur des feuilles en protéines nos résultats montrent la concentration la plus élevée est marquée chez la plante de la région Hassani Abdelkrim tandis que la plante de Taghzout enregistre une quantité plus faible par rapport aux autres régions. Nos résultats viennent en accord avec ceux trouvés par **Ouis (2016)** à savoir que la teneur en protéines des racines de *Abelmoschus Esculentus* L. stressée par  $NaCl+CaCl_2$  est présente une valeur de (3.10 mg/g de matière fraîche). Selon l'étude de **Guedda et Djaber (2016)** ont montré que la teneur en protéines de la variété Zeralda de tomate *Lycopersicon esculentum* L. sous stress salin possède une valeur de (1µg/g de matière fraîche). Ce résultat est plus faible en comparaison avec nos résultats.

## **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

---

L'accumulation de cet acide aminé peut en effet jouer un rôle dans l'osmorégulation des cellules en cas de déficit hydrique et servir comme indicateur de la sécheresse et /ou un détecteur de stress ( **Aspinall et Paleg , 1981 ; Grote et Claussen, 2001**). Selon de **Heckathorn et al. (2004)**. L'augmentation des teneurs en protéines peut être due aussi à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées aux stress, telles que les protéines « LEA » qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires (**David et Grongnet , 2001**). L'étude de **Chakeret et al.(2014)** est expliquée la diminution de baisse de l'efficacité de plante dans la transformation d'acides aminés en protéines ou à augmenter l'activité des certaines enzymes tel que la protéase qui est responsable de la dégradation des protéines conduisant à une réduction et d'annuler leur contenu, ou enzyme ARN ribonucléase responsable de la dégradation des acides nucléiques et ensuite démunie la synthèse de protéines. Les végétaux dans les zones arides et semi-arides sont soumis en particulier à un stress abiotique caractérisé par la fréquence des sécheresses et la salinisation des sols (**Ouis, 2016**). Induit la présence des ROS qui endommagent les macromolécules tel que les protéines (**Sbartai, 2008**). Selon de nombreux auteurs, les stress hydrique et salin peuvent réduire la photosynthèse ainsi que l'activité photochimique en produisant au niveau des résidus protéiques différentes modifications désamination (**Ouis, 2016**).

Le glutathion est un tripeptide constitué du glutamate, cystéine et glycine que l'on trouve en concentration assez élevée (1-10mM) dans les cellules des eucaryotes animaux, végétaux, champignons), est un donneur d'électrons adéquat dans les réactions physiologiques, sa concentration est très importante dans les cellules végétales et en particulier dans les chloroplastes où elle peut atteindre 5mM ( **Noctor et al., 1998**). C'est un régulateur de l'expression génique (**Baier et Dietz , 1999**). Il est impliqué dans la régulation redox du cycle cellulaire (**Gyuris et al., 1993**). Nos résultats montrent une variation en taux de GSH entre les régions, cette observation peut être due au degré de divers stress environnementaux d'exposition des plantes tandis que le stress est responsable de la propagation des radicaux libres, En outre, GSH a un groupe thiol associé à des radicaux libres, puis ensuite soustraite qui a entraîné à une diminution de leurs quantités dans les plantes ceci peut être expliqué la faible quantité de GSH pour la région Hassani Abdelkrim. L'étude de **Huk et al.(1998)** ; **Morin et al.(2001)** ont montré que la cellule dispose pour sa protection au GSH porteur d'une fonction thiol qui constitue le système antioxydant de la première défense en se liant par sa fonction SH aux métabolites toxiques, donc les taux de GSH sont nettement diminués suite à leur action de neutralisation des radicaux libres générés par le stress.

## **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

tandis que la quantité de GSH est augmenté dans la plante d'EL' Oued ça peut être dû au stress salin lui expose cette plante, où le stress entraîne les plantes à produire une grande partie de GSH pour la résistance adaptée dans des conditions défavorables. Aussi selon de **Xiang et Olivier. (1998) ; Lin et al .(2007)** ont montré que une augmentation de la production de GSH, en présence de la stress ,qui pourrait résulter de la stimulation de la transcription des gènes codant pour la synthèse de ce métabolite tels que les gènes codant pour la  $\gamma$ -glutamylcystéine synthétase, la glutathion synthétase et la glutathion réductase. Plusieurs auteurs ont lié l'augmentation de l'activité de la GSH avec les différentes formes de stress et son accumulation est souvent simultanée avec celle des ROS (**May et al., 1998 ; potters et al., 2002**).

les plante se défendent contre ces espèces réactives de l'oxygène par l'indication de l'activité de certains enzyme antioxydant parmi ces enzymes le catalase, glutathion S-transférase qui éliminent l'espèces réactives de l'oxygène (**Hernandez et al., 2000**).

Concernant l'activité enzymatique de catalase nos résultats montrent que région Taghzout en remarque une bonne activité de ces enzymes à la contraire de région Hassani Abdelkrim Remarque une faible activité.Nos résultats sont équivaux et comparables à ceux trouvés par **Serradj Ali Ahmed(2014)** L'activité de l'enzyme catalase de *Flavoparme liacaperata (L)* Hale. Est (2.2  $\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg}$  en protéines), il a enregistré au niveau de station semi-urbaine de la région d'Annaba. Nos résultats sont à l'opposé de ceux qu'ils sont trouvés, l'activité de la catalase chez des plantes de blé (*Triticum durum* Desf ) exposées à un stress saline est égal (0.7 $\mu\text{mol} / \text{min} / \text{mg}$  en protéines) . des études ont montré que le traitement des plantes par des solutions salin provoquait une réduction de l'activité de cette enzyme chez la tomate( **Doudech et al.,2008 ; Burcu et al.,2010** ) . D'une manière générale l'activité de la catalase est stimulée avec les faibles doses et inhibées avec les fortes doses. Cette modification del'activité de l'enzyme est dépendante de la sévérité du stress, de la variété et du stade de développement (**Ashraf et al., 2012**).Une diminution de l'activité catalase dans conditions intenses de stress a été attribuée à l'inactivation de certaines enzymes provoquée par les ROS . L'émission de radicaux libres est alors supérieure à la capacité de détoxification de l'enzyme et peut contribuer à réduire son activité , à diminuer la synthèse des enzymes ou à des perturbations au moment de l'assemblage des sous-unitésde la protéine enzymatique (**Muschitz , 2009**).

Les glutathion -s-transférasesreprésentent une famille d'enzymes qui jouent un rôle important dans la détoxification (**Benhamdi , 2014**) . Il catalyse la conjugaison de diverses

## ***PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION***

molécules électrophiles avec le glutathion, augmentant le caractère hydrophile des substances xénobiotiques . L'élimination de ces conjugués est facilitée et les molécules toxiques sont ainsi métabolisées (**Clark, 1990**).

Nos résultats montrent variabilité dans l'activité enzymatique GST entre le quater échantillons .Peuvent être due à présenter un grand polymorphisme génétique, et ne répondent pas de la même façon aux modifications du milieu , ou la capacité de la détoxification de la GST xénobiotique associée à substrat GSH , ou bien l'exposition des plantes à de fortes stress abiotique ;comme des facteurs du milieu (température, UV , la nature du sol et le type du microclimat salinité et pH (**Atmaniet al ., 2009** ). et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes.

D'après **Benhamdi (2014)**l'activité de GST de la partie aérienne de *Hedysarum pollidum Desf* en réponse à la pollution du sol par l'antimoine est égale à 60  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines, ce résultat est relativement très proche par rapport nos résultats.

La bonne activité de cette enzyme remarqué au niveau de région El-Oued et Taghzout peut être, se traduir par une forte activité de détoxification de l'organisme par la GST liée à une exposition à un milieu pollué et salinité de sol (pH élevé) ce qui conduit à la difficulté de fer et phosphore soluble, empêche l'absorption des nutriments du sol sur la base de  $\text{H}_2\text{O}$  où des ajustements dans l'activité vitale pour résister au stress en passant par . Aussi l'étude de **Kobayashi et al. (2010)** montrent qu'une exposition de semis aux UV-C pendant 15 minutes par jour (rayons généralement filtrés par la couche d'ozone) augmente de façon considérable les activités de GST dès 24heures.

La diminution de l'activité enzymatique (GST) au niveau de régions Geumar et Hassani Abdelkrim, était en raison de la similitude de la situation de vie de l'environnement .aussi peut expliquer par une régulation positive de la GST ou par une inactivité des isoenzyme (**Benhamdi ,2014**). Le GSH sert également de substrat pour le glutathion S-transférase (GST) (**Marrs, 1996**),donc en nos résultats il ya un corrélation positif entre l'activité GSH et quantité GST. L'étude de **Boyland et Chasseaud (1969)**; **Chasseaud (1979)** ont montrée que GST sont des enzymes non spécifiques et multi-fonctionnelles. Le premier rôle accordé aux GST est la capacité à détoxifier les composés xénobiotiques électrophiles en catalysant leur conjugaison avec le glutathion (GSH).

En conclusion, les résultats sont contrastés mais pas contradictoires. En effet,les conditions expérimentales influencent les résultats. Comme le montre l'étude de la température & laquelle se déroule la réaction enzymatique influent sur les conclusions des chercheurs savoir l'établissement d'une relation entre la résistance au froid et lanature des iso peroxydases. Ou encore, l'utilisation de divers substrats(**Kovacsiet al.,1978**).

*Conclusion*

## CONCLUSIO

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

D'évaluer l'influence de la variation d'environnement des quatre régions (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim, El-Oued) sur les principes actifs de plante *Calligonum comosum* L'her par des analyses qualitatives et quantitatives et sur l'activité antioxydante.

Nous avons extrait les substances actives des plantes en utilisant du solvant méthanol dans la méthode de macération, nous avons réussi grâce à estimer le rendement des extraits alcooliques, rendement de l'extrait de méthanol de la zone Taghzout est considérable par rapport à l'extrait de méthanol de l'échantillon hassani Abdelkrim, Guemar et El-Oued. La comparaison entre les quatre extraits (Taghzout, Guemar Hassani Abdelkrim, El-Oued) est afin que:

Le dosage quantitatif du polyphénols des extraits méthanolique ont donné des valeurs considérables, plante de Taghzout est le plus élevé teneur en polyphénols ( $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS), Suivi par plante de Guemar ( $3.25 \pm 0.11$  mg EAG/g EXS) et Hassani Abdelkrim ( $3.04 \pm 0.03$  mg EAG/g EXS). Inférieur taux enregistré chez plante d'El-Oued ( $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS); Cette différence est due à la quantité de phénols entre les quatre extraits de composés phénoliques dans chaque extrait.

Pour évaluer l'activité antioxydant de l'extraits alcoolique en utilisant des tests: la capacité antioxydant totale (CAT) par la réduction de molybdène, les résultats ont montré que d'extraits méthanoliques sont faible dans sa réactivités anti-oxydantes totale des différents échantillons, l'extrait d'échantillon de Guemar possède la meilleure capacité antioxydant totale de l'ordre de ( $2.574 \pm 0.074$  mg EAG/g EXS), et Taghzout avec ( $2.539 \pm 0.039$  mg EAG/g EXS) et par l'extrait de Hassani Abdelkrim avec ( $2.391 \pm 0.091$  mg EAG/g d'extrait) et pour El-Oued avec ( $2.023 \pm 0.023$  mg EAG/g EXS).

Cependant, pour le piégeage du radical libre DPPH. Et en comparant les IC50 des différents extraits testés des quatre régions pour de *Calligonum comosum* L'her par rapport à celle de l'acide ascorbique. nous avons remarqué une activité antioxydant faible dans leurs les extraits méthanoliques chez différentes échantillon, constaté à Hassani Abdelkrim (IC50 =  $0.050 \pm 0,006$  mg/ml) et (IC50 =  $0.052 \pm 0,00$  mg/ml) pour Guemar et pour Taghzout (IC50 =  $0.063 \pm 0,0005$  mg/ml), enfin El-Oued avec la valeur (IC50 =  $0.071 \pm 0,002$  mg/ml)

respectivement, qui sont inférieures à la capacité de piégeage du radical DPPH• de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 0.014 \pm 0,000$  mg/ml). Donc les quantités de polyphénols ne donnent pas forcément un dynamisme important antioxydant.

L'étude a également montré au niveau de la phase organique (in vivo) que divers extraits de *Calligonum comosum* L'her contient une quantité large et variée de composés phénoliques est très efficace dans la protection de membrane des globules rouges de contre le agression induite par  $H_2O_2$  et  $FeCl_3$  particulièrement l' extrait d'échantillon Taghzout le pourcentage d'inhibition qui a été estimé à  $(26,163\% \pm 0,94)$ , cette valeur très élevée par rapport à l'acide ascorbique  $(20.18\% \pm 0.46)$ . Aussi par la mesure de PH de plantes que nous avons trouvé avec PH Acide.

Pour étudier l'activité antioxydant enzymatique sur les feuilles de plantes fraîches pour diverses régions ont été parmi les éléments suivants :

L'estimation de paramètres biochimiques (contenu en protéines) dans la matière fraîche pour diverses plantes, où la grande quantité de protéine trouvée dans tous les échantillons étudiés, cette augmentation joue un rôle dans la protection des cellules contre le stress oxydatif, le dosage montre que la grande quantité de protéine se trouve dans la plante cultivée dans la zone Hassani Abdelkrim par rapport à d'autres régions à  $(6.663 \pm 0.230$  mg/g de MF).

Ainsi la détoxification des ROS constitue un élément clé de défense des plantes. Les agents responsables de cette détoxification sont nommés enzymes antioxydants, parmi lesquelles on peut citer : la catalase (CAT) et glutathion -s- transférases (GST) etc. Les résultats de cette étude pendant l'exposition des plantes au stress abiotique ont montré une perturbation dans l'activité de ces enzymes. En effet, l'activité de catalase a été réduite avec stress de salinité  $(1.458 \pm 0.231 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  des protéines de MF) chez la région El-Oued.

D'une manière générale, les enzymes étudiées telles que: la catalase, glutathion -s- transférases (GST) et peptide GSH. générées lors du stress oxydatif causé par la présence de température, salinité, type de sol, sécheresse, pollution et agent biotique à l'intérieur des cellules, jouent un rôle essentiel dans l'élimination des radicaux libres qui sont toxiques pour le métabolisme cellulaire. Ces données montrent une valeur élevée que la variété échantillon El-Oued présente une certaine défense vis à vis de la salinité et échantillon Taghzout contre différentes formes de stress par l'intervention des molécules osmorégulatrices et des enzymes antioxydants.

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées : Elargir le panel des activités antioxydantes in vitro et in vivo et pourquoi pas d'autres tests biologiques

: antitumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire , caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques.

*Références  
bibliographique*

1. **Abdo , W., Hirata ,A., Shukry, M., Kamal ,T., ABDEL-SATTAR , E., MAHROUS E. et YANAI, T.(2015).** Calligonum comosum extract inhibits diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats, *oncology letters*.1-7. doi: 10.3892/ol.2015.3313.
2. **Abdallah, H.M.I., Asaad, G.F., Arbid, M.S., & Abdel-Sattar, E.A. (2014).** Antiinflammatory , Antinociceptive, Antipyretic and Gastroprotective Effects of Calligonum comosum in Rats and Mice. *International Journal of Toxicological and PharmacologicalResearch*, 6(2), 26-33.
3. **Afonso,V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74,636 – 643.
4. **Ahrizat, N. E. et Sobti , A.(2016).**Effets de quelques plantes médicinales du Sahara central Algérien sur quelques activités biologiques, status redox et le diabète chez rats Wistar rendus diabétique par injection d'alloxane. Memoire de master académique en sciences biologiques. Université Echahid hamma lakhdar ,El oued.
5. **Aissaoui, H. (2010).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de type flavonique d'une espèce de la famille des Verbenacées .Memoire de magister en chimie, Universite Mentouri ,Constantine.
6. **Amadou, D. (2008)** .Etude de la phytochimie et des activites biologique de *syzgium guineense* willd. (MYRTACEAE).Thèse de docteur en pharmacie (diplôme d'état), Universite de Bamako.
7. **Aref, M. et Heded, M.(2015).**Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) d'une plante médecine *Cleome arabica L* (région d'oued souf). Memoire master académique en biochimie ,Universite Echahid hamma lakhdar , El-oued.
8. **Arraki . K,(2014).** les stilbénoides chez les cypéracées : isolation, identification et étude de leurs activités biologiques. identification et dosage des stilbènes dans des vins tunisiens. Thèse Présentée Pour obtenir le grade de doctorat , Université de Bizerte , carthage .
9. **Ashoumr, O. M., Abdel-Naim , A. B., Abdallah, H.M., Nagy ,A. A., Mohamadin , A. M. et Abdel-Sattar ,E. A. (2012).** Evaluation of the potential cardioprotective activity of some saudi plants against doxorubicin toxicity .*Cardio protection by Saudi Plants*,297-307.
10. **Ashraf, M.A., Ashraf ,M.et Shahbaza ,M., (2012).**Growth stag-based modulation in antioxidant defense system and proline accumulation in two hexaploïdes wheat (*Triticumaestivu L*) cultivars differing in salinity tolerance. *Flora.*, 207,388–397.

11. **Aspinall, D. et Paleg, L.D. (1981).** Proline accumulation. Physiological aspects. In *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Eds, Sydney: Academic Press.
12. **Attou, A.(2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d' Ain Témouchent . Memoire de magister en biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen .
13. **Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de doctorat en chimie organique, Université de Bamako.
14. **Bahorun ,T., Gressier ,B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx ,M., Vasseur ,J., Cazin ,M., Cazin, J. C. et Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung* . 46,1086-1089.
15. **Baier, M. et Dietz, K.J. (1997).** The plant 2-Cys peroxiredoxin BAS1 is a nuclear-encoded chloroplast protein: its expressional regulation, phylogenetic origin, and implications for its specific physiological function in plants. *The Plant Journal*, 60,282–314
16. **Bakpinar, S. et Tugrul ,Y. (1995) .** Influence of selenium supplementation in non-toxic doses on testis lipid peroxide and antioxidant levels in chronic alcohol fed rats. *Alcohol Alcohol* , 30 ,645-650.
17. **Barouki , R . (2006) .** Stress oxidant et vieillissement .*Medecine/Sciences*, 22 , 266-72
18. **Barros ,L., Ferreira, MJ., Queiros ,B., Ferreira, I. C. F. R et Baptista, P .(2007).** Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 103, 413-419.
19. **Belbache, H. (2003).** Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf, Mémoire de magister en chimie organique, Université Mentouri .Constantine.
20. **Belyagoubi , N. et Benhammou, N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat ,Université Aboubakr Belkaïd ,Tlemcen.
21. **Belyagoubi, N .,et Benhammou ,N.(2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du sud-ouest algérien. Thèse présentée pour l'obtention d'un doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd,Tlemcen.

22. **Benbordi ,A. et Hezla ,M.(2016).** Contribution à l'étude d'une plante toxique la Stramoine (*Datura stramonium*L.) dans la Wilaya D'El oued. Memoire de Master Académique en Sciences biologiques .Université Echahid Hamma Lakhdar , El oued
23. **Benbrinis , S.(2012).**Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire de magister en biochimie .Universite Ferhat Abbas, Setif.
24. **Benhamadi , A.(2014).**Etude des enzymes de stress oxydatif chez *Hedysarum pallidum* Desf .et *Lygeu Spartum L* .en réponse à la pollution du Sol par l'antimoine .Thèse doctorat en Biochimie et Biotechnologie ,Université , Costantine .
25. **Birben, E ., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., et Kalayci, O. (2012).** Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J. Jan*; 5(1), 9–19.
26. **Boizot N., & Charpentier .J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques l'Inra*,75-82.
27. **Bokhari, J., Khan, M.R, Shabbir, M., Rashid, U., Jan S., & Zai, J.A. (2013).** Evaluation of diverse antioxidant activities of Galium aparine. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 102, 24–29.
28. **Bonnefont-Rousselot, D., Théron, P., & Delattre, J. (2003)** .Radicaux libre et antioxydant en : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J. C. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris, Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J. Jan*, 5(1), 9–19. Cité par Meziti, A.(2009).
29. **Bouakaz, I., (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister , Batna.
30. **Bouchama,S. et Yezza , S.(2014).** index des métabolites secondaires vegetaux .Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de licence, Universite kasdi merbah, Ouargla.
31. **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de magister en Biochimie, Université Ferhat Abbes, Sétif.
32. **Boukhiar ,A. (2009).** Analyse du processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes tel qu'appliqué au sud Algérie : essai d'optimisation. Mémoire de magistère, Universitaire M'hamed Bougara , Boumerdes.
33. **Boutaoui , N.(2012).**Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae) .Etude de la phase acétate d'éthyl .Memoire de magister en chimie organique, Université Mentouri , Constantine .
34. **Bradford, M.M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding.

*Academic Press*, 72 (57), 248-254. En ligne  
[http://hoffman.cm.utexas.edu/courses/bradford\\_assay.pdf](http://hoffman.cm.utexas.edu/courses/bradford_assay.pdf).

35. **Bruneton, J. (1993).** *Pharmacognosie*, phytochimie, plantes médicinales. (2<sup>e</sup> éd). Technique et documentation. Paris: Lavoisier.
36. **Bruneton, J. (1997).** *Pharmacognosie*, phytochimie, plantes médicinales ( 5<sup>e</sup> éd). Technique et documentation. Paris: Lavoisier.
37. **Burcu ,S., Turkan ,I., Askim ,H S. et Ceyda ,O. ( 2010).**The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeummarinum* Huds. (Seabarleygrass) and *Hordeumvulgare*L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany*, 69,76–85.
38. **Carrière, A ., Galinier, A., Fernandez, Y ., Carmona, M.C., Pénicaud,L. et Casteilla,L.(2006)** .Les espèces actives de l’oxygène : le *yin* et le *yang* de la mitochondrie .*Med Sci* 22(1), 47–53.
39. **Cash, T., Pan, Y. et Simon, M.C. (2007).** Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free radical biology & medicine*. 43,1219-1225.
40. **Chaabi, M. (2008).** Etude phytochimique et biologique d’espèces végétales africaines *Euphorbia stenocla* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissuslio carpus* Guill. Etperr. (Combrétaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université Mentouri , Constantine .
41. **Chasseaud , L.F.( 1973).** The nature and distribution of enzymes catalising the conjugation of glutathione with foreign compounds. *Drug Metab. Reviews* , 2, 185-220.
42. **Chasseaud, L.F. (1979).** The role of glutathione and glutathione Stransferases in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophonic agents. *Adv. Cancer Res*, 29,175-192.
43. **Chehma, A. et Djebar, M R. (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara
44. septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Revue Synthèse*, 17, 36-45
45. **Chong, J., Poutaraud ,A .et Hugueney ,Ph.(2009).** Metabolism and roles of stilbenes in plants . *Plant Science* ,177 ,143–155.
46. **Chouikh, A .,Mekki, M ., et Adjal , E.H.( 2015).** Effects of extraction methods on antibacterial activity of different extracts of *calligonum comosum* l'her. growing in sahara Algerian. *international journal of recent scientific research* ,6, 4, 3534-3536.
47. **Christelle, K-R. (2006)** .Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases ,*Nutrition clinique et métabolisme* 20,165–177.

48. **Chwalek, M. (2004)** .Hémisynthèse de saponosides à hédragenine. Etude de l'influence de la chaîne osidique sur l'activité hémolytique. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Reims Champagne-Ardennes. France.
49. **Cowan, M . M .(1999)**. Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564 – 582.
50. **David, J.C., Grongnet, J.-F. (2001)**. Les protéines de stress. *INRA Prod. Anim*, 14(1) ,29-40.
51. **Deby-Dupont, G., Deby ,C., Lamy, M.(2002)**. Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *éanimation* , 11 ,28-39.
52. **Defraigne, J.O. et Pincemail, J. (2008)**. Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63(1), 10-19.
53. **Delattre J., Beaudoux J.L. et Bonnefont-Rousselot D. (2005)**. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Paris: Lavoisier.
54. **Densiov E.T.et Afanas'ev I.B . (2005)**. Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. USA: Taylor & Francis Group.
55. **Djeridane, A., Yousfi ,M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J.F. et Stocker, P.( 2007)**- Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur, Food Res, Technol* , 224, 801-809.
56. **Doudech ,N., Mhamdi, M., Bettaieb ,T.et Denden, M. (2008)**.Tolérance à la salinité d'une graminée à gazon.*Tropicultura* , 26 (3),182-185.
57. **Dridi ,F.(2015)**. Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Thèse de doctorat en chimie de la matière et environnement, Université M'hamed Bougara , Boumerdès.
58. **Durre, S.et Muhammad, A. R. (2012)**. Antioxidant potential of phenolic extracts of *Mimusops elengi*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 547-550.
59. **Dziri, S., Hassen, I., Fatnassi, S., Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, B., et Hosni, K. (2010)**.Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic ( *Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of functional foods*, 4, 423-432.
60. **Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., & Yousefzadi, M. (2008)**. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonologicals stages. *Food chemistry*, 110, 927-931.
61. **Esther, G.(2005)**.Localisation cellulaire de proteines fluorescents isoprenylables dans des cellules de tabac BY-2. Thèse de doctorat en Biologie moleculaire végétale. Université Louis Pasteur, Strasbourg.

62. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaab, M. et Abdely, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C.R. Biologies*, 331,372-379.
63. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 108-115.
64. **Ferrali, M., Signorini, C., Caciotti, B., Sugherini, L., Ciccoli, L., Giachetti, D. et Comporti, M. (1997).** Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Lett*, 416, 123-129.
65. **Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique, 91-96.
66. **Ghalem, M. (2014).** Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria*. Thèse de doctorat en physiologie et biochimie de la nutrition, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
67. **Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Seyed, M.N., Nabavi, S. F., Ebrahimzadeh, M. A. et Pourmorad, F. (2011).** Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(7), 1128-1133. Available online at <http://www.academicjournals.org/JMPR>.
68. **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4(1), 162-169.
69. **Ghedjati, N. (2014).** Toxicité aiguë et subaiguë des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du *Datura stramonium*. Mémoire magister en Biologie, Université Ferhat Abbas, Sétif
70. **Ghnimi, W. (2015).** Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité cetylcholinestérase. Thèse de doctorat pour obtenir le grade de docteur de l'Université, Lorraine.
71. **Gobbi, R. et Khebbaz, W. (2014).** Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux. Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de licence, Université Kasdi Merbah, Ouargla.
72. **Gori, Z. et Tebbale, H. (2014).** Impact de différents modes de conservation sur les caractéristiques biochimiques de quelques Plantes spontanées médicinales. Mémoire de master académique en biotechnologie végétale. Université Kasdi Merbah, Ouargla.

73. **Grote D. et Claussen W., (2001).** Severity of root rot on tomato plants caused by *Phytophthora nicotianae* under nutrient and light stress conditions. *Plant Pathol*, 50, 702–707.
74. **Guedda, K. et Djaber ,O.(2016).**Evaluation du comportement de trois variétés de tomate (*L. Lycopersicum esculentum*) Sous un stress salin. Memoire de Master Académique en Sciences biologiques. Université echahid hamma lakhdar ,El-oued.
75. **Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M. et Aboul-Enein H.Y .(2010)** .Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry* ,3,43–53.
76. **Gyuris ,J., Golemis ,E., Cherthov, H., Brent , R. (1993).**Cdi1, a human G1 and S phase protein phosphatase that associates with Cdk2. *Cell* ,75,791-803.
77. **Habig ,W.H., Pabst, M.J. et Jakoby ,W.B. (1974).** Glutathione S-transférase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 25, 7130-7139.
78. **Hagen, T. M., Wierzbicka, G. T., Sillau, A. H., Bowman, B. B., & Jones, D. P. (1990).** Bioavailability of dietary glutathione: Effect on plasma concentration. *Am j Physiol* , 259 ,524 -590.
79. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraignem J.O. et Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628-638.
80. **Halliwell ,B. (2007).**Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions* , 35, 1147-1150.
81. **Halliwell ,B., Gutteridge ,J. (1986).**Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine : some problems and concept. *Arch Biochem Biophys*, 246 , 501-504 .
82. **Hamia ,C., Guergab .A., Rennane, N. E., BIRACHE, M., HADDAD ,M., SAIDI ,M. et YOUSFI ,M.(2014).** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressium* et l'activité . 6( 1),33-39.
83. **Hamimed ,S . et Belkhiri, A.(2009).**Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum* L.Mémoire de magister en chimie organique, Université Mentouri ,Constantine.
84. **Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68, 2831 – 2846.
85. **Hechif, D. et Merad, K. (2016).** Caractérisation phénolique et mesure des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes médicinales dans le Sahara Septentrional Algérien. Memoire de Master Académique en Sciences biologiques .Université Echhahide Hamma L'akhdar. El-oued.

86. **Heckathorn, D.D., Semaan ,S., Broadhead R.S.et Hughes, J.J. (2002).** Extensions of respondent-driven sampling: a new approach to the study of injection drug users aged . *aids and behavior*, 6(1):55-67.
87. **Hernandez ,S., Deleu , C., et Larher ,F.,(2000).**Accuulation de proline dans les Tissus foliaire de tomate en réponse à la salinité . *life Science*.323:551-557.
88. **Hopkins, W.G. (2003).** Physiologie végétale. (2é èd). (R, Sarge, Trad.). Ed :de boeck unversité .
89. **Hugueneu, P.(2013).**Génomique fonctionnelle de la biosynthèse des stibènes chez la vigne (*Vitis Vinifera*).Thèse de docteur , l'Université de strasbourg .
90. **Hugues , A. O.N., Evelyne , C. D. D., Mamyrbékova-Békro , J. A.et Yves-Alain .B. (2011).**Teneurs en composés phénoliques de 10 plantes médicinales employées dans la tradithérapie de l'hypertension artérielle, une pathologie émergente en Côte d'Ivoire. *Revue de génie industriel*, 6, 55-61.
91. **Huk, I., Brokovich ,V., Nanobashvili ,J., Weigel ,G., Neumayer ,C., Partika ,L., Patton, N.et Malinski ,T.( 1998).** Bioflavonoid quercetin scavenger superoxide and increases nitric oxide concentration in ischemia-reperfusion injury: an experimental study. *Brit J Surg*, 85, 1080-1085.
92. **Jacques, R. (2010).** Signalisation cellulaire et cancer un manuel pour les étudiants et les oncologue. Ed, Springer- Verlag: Paris.
93. **Javanovic, S.V., Steenken, S., Tasic, M., Marjanovic, B &, Simic, M.J. (1994).**Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116, 4846-4851.
94. **Jehl, N., Debros, D.,Blanchart, G. (1995).** Une nouvelle méthode de dosage des acides phénoliques dans les aliments. *Annzootch* 44,suppl ,1-33.
95. **Kabouche . ,A . (2005).** Etude phytochimique de plantes médecinales appartenant à la famille *des Lamiaceae*. Mémoire de doctorat d'état en chimie , Universite mentouri, Constantine.
96. **Kambale1, J.K., Ngbolua, K.N., Mpiana, P.T., Mudogo, V.,Tshibangu, D.S.T., Wumba, D.M.R., Mvumbi , L.G., Kalala, L.R., Mesia, K.G.,et Ekutsu, E.(2013).**Evaluation *in vitro* de l'activité antifalcémiant et effet antioxydant des extraits d'*Uapaca heudelotii* Baill. (Euphorbiaceae) *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 7(2), 523-534.
97. **Kanoun, K. (2011).**Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de tlemcen (honaine) .Mémoire de magister En Biologie, Universite Aboubekr Belkaid ,Tlemcen.

98. **Ketterer, B. et Taylor J.B. (1994).** Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): DNAC cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*, 300(1), 271-276.
99. **Khoudali, S., Benmessaoud left, D., Essaqui, A., Zertoubi,M., Azzi , M.et Benaissa, M.(2014).** Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L) du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (3), 887-898.
100. **Koechlin-Ramonatxo, C.(2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *nutrition clinique et métabolisme* ,20,165–177.
101. **Kovacs, I., Fejer, O. et Devay, M. (1978).** Cold induced changes in the peroxidase multiple enzyme pattern in winter wheat cultivars during the hardening period. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 173(4), 327-332.
102. **Laine ,E., Hano ,C.et Lamblin ,F.(2007).** Les lignanes phytoestrogènes du lin sont-ils des bienfaiteurs méconnus? *Phytothérapie* , 5,121–128.
103. **Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et Carde, J-P. (1994).** Biogénèse des monoterpènes (II- La chaîne isoprénique). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133,79-99.
104. **Laraba ,M.,Serrat, A., Ouassaa ,G. (2016)** .Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de Master en Sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri ,Constantine.
105. **Larbi, S. et Rabah, S.(2014).** Etude de l'efficacite des huiles essentielles de *curcuma longa* comme un biopesticide cas antifongique .Mémoire de master en végétale ,Universite Aboubekr Belkaid ,Tlemcen.
106. **Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., & Lee, C.Y. (2003).** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51(25), 7292-7295.
107. **Lhuillier, A. (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat sciences des agroressources.Université Toulouse.
108. **Li , H . B., Cheng , K .W., Wong, C . C., Fan , K . W., Chen ,F et Jiang , Y . (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102,771-776.

109. **Lin, R., Wang, W., Luo, Y., Du, W.,a, Guo, H.et Yin D. (2007)** Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Chemosphere* ,69 , 89–98.
110. **Litvak, M.E.et Monson, R.K. (1998).**Patterns of induced and constitutive monoterpène production in conifer needles in relation to insect herbivory. *Oecologia*,114, 531-540.
111. **Lobo, V., Patil , A., Phatak, A., et Chandra ,N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Jul-Dec*, 4(8), 118–126.
112. **Loïc , L. (2011).** Effet protecteur des polyphenols de la verveine odorante dans un modele d'inflammation colique chez le rat. Thèse de docteur en spécialité nutrition ,Université blaise pascal ,D'auvergne.
113. **Maamir, S.(2008).** Etude de *pistacia atlantica* de deux régions de sude algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénoles essais antileishmaniens.Mémoire de magister en Biologie ,Université M'hamed Bougarz, Boumerdes.
114. **Mac Adam, J.W., Neleson, C.J. et Sharpe, R.E. (1992).** Peroxydase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant physiology*, 99, 872-888.
115. **Madi, A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux - plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leur activités biologiques.Mémoire de Magister en biotechnologie végétale, Université Mentouri , Constantine.
116. **Manallah, A . (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive. Mémoire de magister en Biochimie .Université Ferhat Abbas ,Sétif.
117. **Matés, M. J., Perez-gomez ,C. et CASTRO I. N. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8) , 595–603.
118. **Mauro, N. M. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. Thèse doctorat en Chimie, Université Joseph Fourier ,Grenoble .
119. **May ,M., Vernoux, T., Leaver, C., Montagu ,M.et Inze ,D. (1998).**Review article. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development. *Journal of Experimental Botany*, 49(321), 649-667.
120. **Mayer ,A.M.( 2004) .**Resistance to herbivores and fungal pathogens:Variations on a common theme? A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on herbivores and fungal pathogens. *Isrel Journal Of Plant Sciences* . (52), 279-292.
121. **Mérillon J.M., Fauconneau B., Waffo Teguo P., Barrier L., Vercauteren J. et Huguet F. (1997).** Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from *Vitis vinifera* Cell Cultures. *Clinical Chemistry*, 43(6), 1092-1093.

122. **Meziti ,A.(2009)**. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude *in vitro* et *in vivo*. Mémoire de magister en biochimie appliquée ,Université El-haj Lakhdar ,Batna .
123. **Mezzetti , A., Pierdomenico S.D.et Costantini .F.(1998 )**. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load : effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Rad Biol Med* ,25,676-681.
124. **Midoun, T. (2011)**. Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l’obtention du diplôme de Master, Spécialité : chimie appliquée. Université Kasdi Merbah ,Ouargla.
125. **Migdal ,C.et Serres, M.(2011)**. Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant. *Med Sci Paris*; 27,405–412.
126. **Milane, H. (2004)**. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg.
127. **Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. & Van Beek, T.A. (2004)**. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85(2) : 231-237. Doi: 10.1016/j.foodchem.2003.05.007.
128. **Mohammedi ,Z .(2013)**.Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l’algérie. Thèse de doctorat en biologie, Université abou bekr belkaid ,Tlemcen .
129. **Molyneux, P. (2004)**. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin . *J. Sci. Technol.* 26(2), 212-218. En ligne :<http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/journal/26-2/07-DPPH.pdf>.
130. **Moran, J. F. ,James E. K., Rubio M. C., Sarath G., Klucas R. V.et Becana M. (2003)**. Functional characterization and expression of a cytosolic iron-superoxide dismutase from cowpea root nodules. *Plant Physiol.* 133 , 773–782
131. **Morin, D., Thiery, H., Spedding, M.et Tillement , J. P. (2001)**. Mitochondria as target for antiischemic drugs. *J Physiol Pharmacol.* 13, 22-67..
132. **Moure, A., Cruz, J .M., Franco ,D., Dominguez, J .M., Sineiro, J., Dominguez ,H., Nunez, M .J.et Parajo, J .C .(2001)**. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
133. **Mpondo, M. E., Yinyang. J.et Dibong, S. D.( 2014 )** . Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun).*Journal of Applied Biosciences* ,85,7804– 7823.

134. **Muschitz ,A.(2009).**Réponses physiologiques de végétaux supérieurs aux stress métalliques .Caractérisation du rôle des parois cellulaires dans les stratégies défensives des cellules de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) face aux éléments traces métalliques. Thèse doctorat en Physiologie Végétale. Université d'Artois.
135. **Nasrullah, A., Khan, H .,Sada Khan, A., Man, Z., Muhammad, N., Irfan Khan, M . et Abd El-Salam, N. M.(2015).**Removal of methylene blue dye from aqueous solution.*The Scientific World Journal*, 1-11 .<http://dx.doi.org/10.1155/2015/562693>.
136. **Nedjmi ,Aichouche., et Soussou, Aicha.(2014 )**.caractérisations biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage. Mémoire master académique, Université kasdi merbah, Ouargla.
137. **Nauseef .W.M. (2008) .** Biological roles for the NOX family NADPH oxidases. *J Biol Chem*,283,16961-16965.
138. **Neguia, F. (2014).** contribution à l'étude de la biodiversité fongique des sols salins et hypersalins (chotts) de la région d'oued souf et leur activité protéolytique .Mémoire du diplôme magister, Université Mohamed khider , Biskra.
139. **Nkhili, E.(2009) .** Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse en co-tutelle de doctorat ingénierie de l'environnement, Université Cadi Ayyad, Marrakech.
140. **Noctor ,G., Arisi, A., Jouanin ,L., Kunert, K., Rennenberg, H.et Foyer ,C. (1998).** Review article. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany*.49(321), 623-647.
141. **Nordmann, R., Ribiere, C.et Rouach, H. (1992) .**Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Rad Biol Med*, 12,219 -240.
142. **Omayma ,A.E. & Abdel Nasser ,B. S.(2013 )** . *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Carotenoids* , 2( 1), 225-234.
143. **Ozen ,T . (2009).** Investigation of antioxidant properties of Nasturtium officinale (Watercress) leaf extracts. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 66 (2), 187-193.
144. **Pal Yu, B. (1994).** Cellular defences against damage from reactive oxygen species . *Physiopathological Reviews*, 74,139-155.
145. **Pasquier,C. (1995 )** .\_Stress oxydatif et inflammation June , 87-92.
146. **Pemble, S., Schroeder, K.R., Spencer, S.R., Meyer, D.J., Hallier, E, Bolt, H.M ,Ketterer, B. et Taylor J.B. (1994).** Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): DNAC cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal*, 300(1), 271-276.

147. **Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R. et Defraigne, J.O. (1999).** Méthodes L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5), 95-98.
148. **Pincemail, J., Heusele, C., Bonté, F., Limet, R. et Defraigne J.O. (2001).** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones - Nutrition*, 7(4), 158 -164.
149. **Portier, J.K., Kirschvink, N., Fellmann, N., Coudert, J. et Lekeux, P. (2007).** Paramètres influençant la structure et la fonction du globule rouge chez le cheval. *Méd. Vét.* 151,101-106.
150. **Potter, C.J., Pedraza, L.G., Xu, T. (2002).** Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. *Nat. Cell Biol*, 4(9), 658-665.
151. **Prieto, P., Pineda, M. et 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*, 337-341. doi:10.1006/abio.1999.4019.
152. **Quezel, P., et Senta, S. (1963).** Nouvelle flore de l'algerie et des régions désertique méridionales. Ed, tome II : Paris.
153. **Rahman, T., Hosen, I., Towhidul M. M. I. et Shekhar H. U. (2012).** Oxidative stress and human health. *Advances in bioscience and biotechnology*, 3, 997-1019.
154. **Ré, D.B., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L. et Had-Aissouni, L., (2005).** Cerebral oxidative stress: are astrocytes vulnerable to low intracellular glutamate concentrations ? Consequences for neuronal viability. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24, 502-509.
155. **Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P. et Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Sciences et techniques du vin. Ed, Tome 1 Dunod : Paris.
156. **Rice-evans, C.A, Sampson, J., Brameley, P.M. et Holloway D.E. (1997).** Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vitro?. *Free Radical Res*, 26 (4), 381-398.
157. **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.
158. **Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal, & Lopez, H. J. (2010).** Antioxydant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research & Technology*, 231 (3), 495 - 498.

159. **Sato, F., Hashimoto ,T., Hachiya, A., Tamura, K. I., Choi ,K. B., Morishige ,T., Fujimoto , H. et Yamada, Y. (2001).**Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (1), 367-372.
- 160.**Sbartai, H. (2007).** Etude des effets du Cadmium sur la Tomate. Thèse de doctorat en ecotoxicologie végétale, Université Badji Mokhtar ,Annaba .
- 161.(*Lycopersicon esculentum L.*) : essai in vivo et in vitro
- 162.**Scalbert, A.et Williamson,G. (2000).**Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130 , 2073-2085.
163. **Seidel , V .(2005).** Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. *Humana Press (Totowa)*, 27-37.
164. **Sereme, A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko , S . et Nacro, M .(2010) .** Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso . *J. Sci*, 10(2), 24 – 32.
165. **Serradj Ali Ahmed, M., Boumedris, Z.E., Reda Djebbar,M. et Tahar .A., (2014) .** Réponses d'antioxydants chez *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale à la pollution atmosphérique au niveau de deux zones urbaine et semi-urbaine dans la région d'Annaba (Est de l'Algérie). *Pollution atmosphérique atmosphérique* [En ligne], N° 221, mis à jour le : 21/09/2016, URL : <http://odel.irevues.inist.fr/pollution-atmospherique/index.php?id=2674>, <https://doi.org/10.4267/pollution-atmospherique.2674> .
166. **Shahriar, M. , Hossain, Md. I., Sharmin, F. A., Akhter, ,S., Haque Md. A. et Bhuiyan, M.A.(2013).** InVitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Withania Somnifera Root* .*Iosr Journal Of Pharmacy* ,3 (2) ,38- 47.
167. **Sherratt, P.J. et Hayes J. (2001).** Glutathione-S-transferases: Enzyme systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics. Ioannides, C: Wiley & sons . doi: 10.1002/0470846305.ch9.
168. **Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, 327, 649-662.
169. **Sun, Y., Jinlong, C., Aimin, L., Fuqiang, L. et Quanxing, Z.(2005).** Adsorption of resorcinol and catechol from aqueous solution by aminated hypercrosslinked polymers .*Reactive and Functional Polymers*, 64(3),63–73. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2005.03.004
170. **Tahraoui, F. Z.(2014).**Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante d'extraits de *Pituranthos scoparius* (Guezzah) par la méthode de réduction du fer : FRAP. Mémoire de Master en Biologie, Université Aboubekr Belkaid ,Tlemcen.
171. **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J. et Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydant et la composition physico chimique des extraits méthanolique et

aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci*, 6 (4),1111-1117.

172. **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J. et Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydant et la composition physico chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci*, 6 (4), 1111-1117.

173. **Talbi,M, (2015).**Dosage des polyphénols de la plante *D'artemisia Campestris.L* par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de magester en chimies, Université Ahmed Benbella , D'oran.

174. **Tanguy, M., Marie, A ., Simon, B .(2009).**Antioxydants Première partie : les antioxydants dans l'alimentation. Stratégies mise au point .256-260.

175. **Tombesi, A. (1994).** Olive fruit growth and metabolism. *Acta Horticulture*, 356,225 - 232.

176. **Torres de Pinto, J., Casanova ,C ., Montejo de Garcini, A ., Jaime,A.A.et Celli, B. R . (2007).**COPD heterogeneity: Gender differences in the multidimensional BODE index *.International Journal of COPD*,2(2), 151–155.

177. **Turkmen, N., Velioglu, Y., Sari, F.et Polat, G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 12, 484-496. doi:10.3390/12030484

178. **Valente ,M.J., Baltazar .AF., Henrique, R., Estevinho, L.et Carvalho, M. (2011)** Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. *Food Chem Toxicol.* 49,86–92.

179. **Vandermoten, S., Cusson, M., Francis ,F.et Haubruge, E .(2008 ).**La biosynthèse des isoprénoïdes chez les pucerons : une cible potentielle de nouveaux bio-insecticides . *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12(4), 451-460.

180. **VU ,T. D. (2008).**Effet de l'environneent sur la criossance et l'accuulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill .cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques. Thèse docteur en Sciences Agronomiques. Université de Lorraine.

181. **Wassmann, S ., Wassmann, K .et Nickenig, G. ( 2004).**Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension.* 44 : 381-386.

182. **Waxman, D.J. (1990).** Glutathione 5-Transferases: Role in Alkylating Agent Resistance and Possible Target for Modulation Chemotherapy. *Cancer Research* . 50, 6449-6454.
183. **Weckbercker, G. et Cory, J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. 40(3), 257-264.
184. **Yezza , S . et Bouchama , S.(2014).** index des métabolites secondaires végétaux .projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de licence, Université kasdi merbah, Ouargla .
185. **Youbi, M., (2005 )**.Effets de deux fongicides Artea et Punch nouvellement introduits en Algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du blé dur (*Triticum durum Desf*).Thèse de Magister de l'Université Badji Mokhtar ,Annaba.
186. **Yurtseven ,E., Kesmez ,G.D., Unlukara ,A., (2005).** The effects of water salinity and potassium levels on yield, fruit quality and water consumption of a native central Anatolian tomato species (*Lycopersicon esculantum*). *Agr. Water Manage.* 78, 128–135.
187. **Zaghdane ,H.(2008).**Études synthétiques de la kopsine via un réarrangement d'irlandais et une cycloaddition de diels-alder intramoléculaire. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise sciences en chimie, Université du québec à Montréal.
188. **Zenk, MH. et Jueng, M., (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry* 68, 2757- 2772.
189. **Zga, N. (2010).**Purification et identification de polyphénols stilbeniques présents dans la vigne .These de doctorat en chimie organique, Université badji mokhtar, annaba.

## مراجع بالعربية

190. بكوش، ك.و. ميلي، ع. (2016). دراسة فسيولوجيا المحصول الكمي والنوعي لصنفين من الفجل (*Raphanus sativus* L.) تحت تأثير مستويات التلوث الملحي (NaCl) للتربة ضمن ظروف منطقة صحراوية. مذكرة شهادة الماستر اكايمي شعبة علوم البيولوجيا. جامعة الشهيد حمة الأخضر، الوادي.
191. شاكر، ر.م.، محمد، ع. أ. (2014). التداخل بين الملوحة والهرمونات النباتية وأثره في نمو النبات، الحنطة وتطوره. مجلة ديالي للعلوم، المجلد 10 العدد 1، 29-41.
192. شويخ، ع. (2015). مساهمة في دراسة بيئية وطبية لنباتي الشبكية (*Cotula cinerea* Del) والسهمري (*Helianthemum lippii* (L) Dum Cours) في منطقة وادي سوف (ولاية الوادي) الجنوب الشرقي الجزائري. مذكرة دكتوراه في بيولوجيا النبات، جامعة برج باجي مختار، عنابة.
193. عجال، ا.و. مكي، م. (2015). المساهمة في دراسة الفيتوكيميائية والنشاطية البيولوجيا لنبات صحراوي الأرتى (*Calligonum comosum* L'her) النامي في منطقة وادي سوف. مذكرة الماستر اكايمي شعبة علوم البيولوجيا، جامعة الشهيد حمة الأخضر، الوادي.

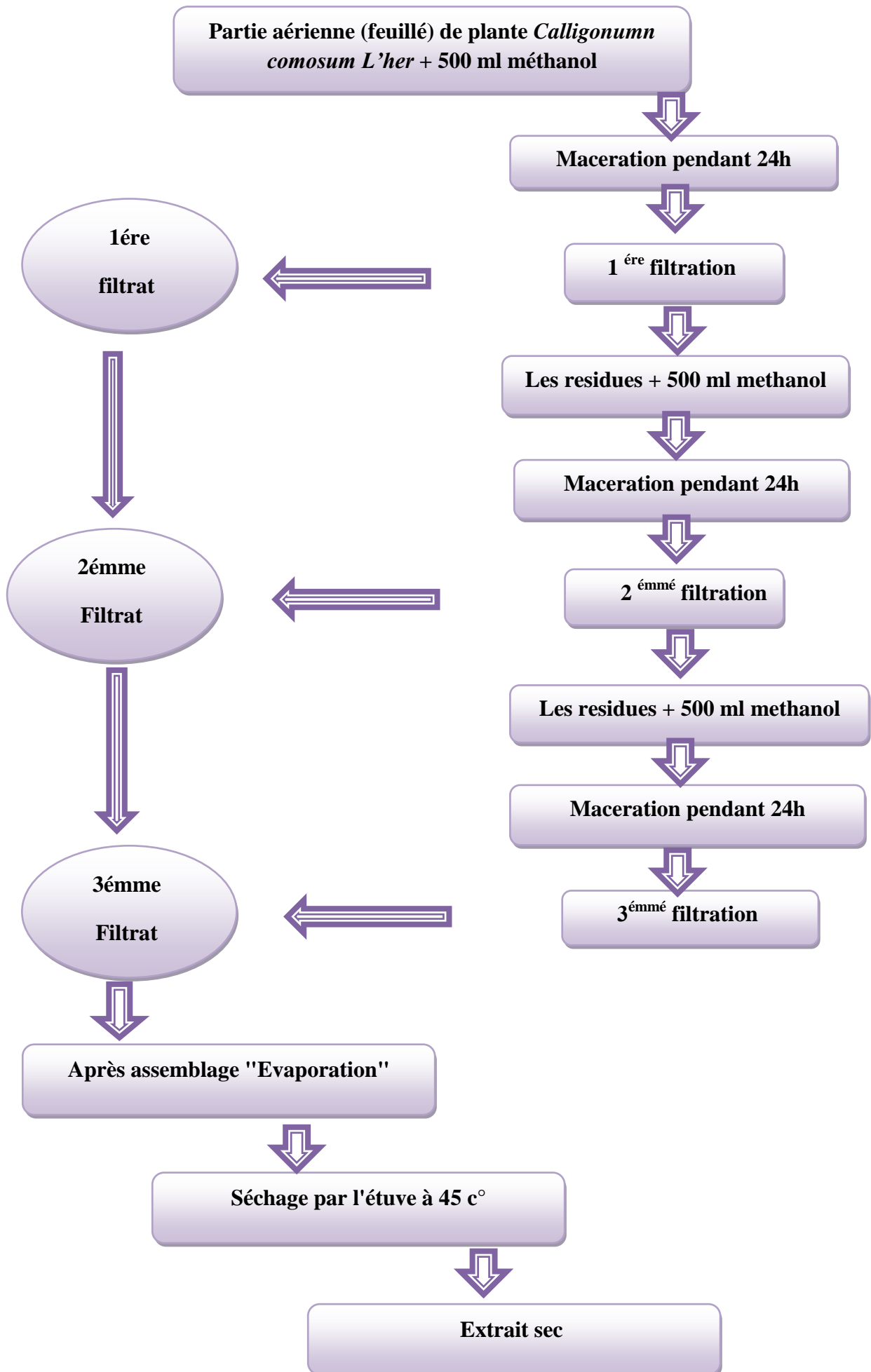
# *Annexes*

# Annexe I

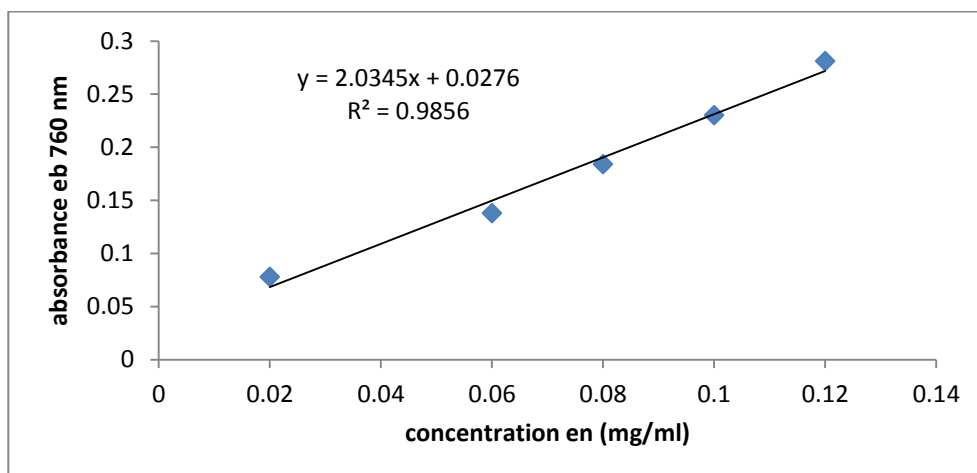
**Tableau :** liste des matériels utilise dans notre travail

|   |  |
|---|--|
| <b>Produits<br/>et<br/>réactifs:</b>    | Méthanol - éthanol - Bleu de Comassie (BBC).- Sérum bovin albumine (BSA) -Acide ascorbique -Tris.- Acide sulfosalicylique. - DTNB(5-5'-dithiobis2 nitrobenzoïque)- Peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) - GSH - trichlorure de fer (FeCl <sub>3</sub> )- acide sulfurique- Folin-Ciocalteu (FCR) - carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )- acide gallique- acide sulfosalicylique -acide sulfurique -tampon phosphate (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )- CDNB (1chloro 2,4 di nitrobenzène)- eau distille - gäicol (C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> ) - éthylène diamine tétra-acétique( EDTA).2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl(DPPH) |
| <b>Matériels<br/>de<br/>laboratoire</b> | - Centrifugeuse horizontale de type SIGMA<br>-Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type UV- VIS -1240<br>-Bain-marie de type MEMMERT<br>-Balance analytique de type KERN ABJ/ABS<br>-Agitateurs<br>-Evaporateurrotatif de type Rotavapor BUCHI Heating bath R-491.<br>-PHmetre(Meter Lab M210)   |
| <b>Verreries</b>                        | Micropipette -Pipette gradué -Hown -Entonnoir, Erlenmeyers,<br>-Béchers, Eprouvettes graduées, Tubes à essais -Pipette et micropipette   |

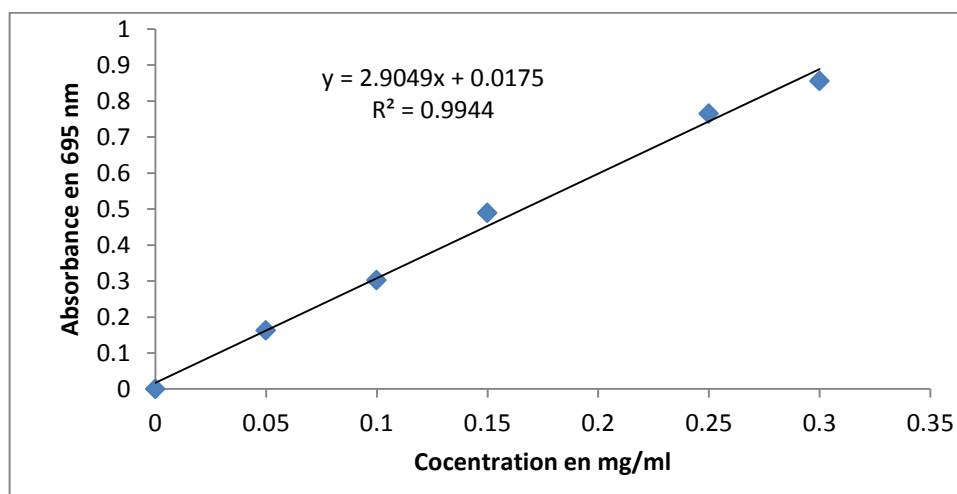
**Figure :** Protocole de montrent l'étape d'extraction composés phénoliques



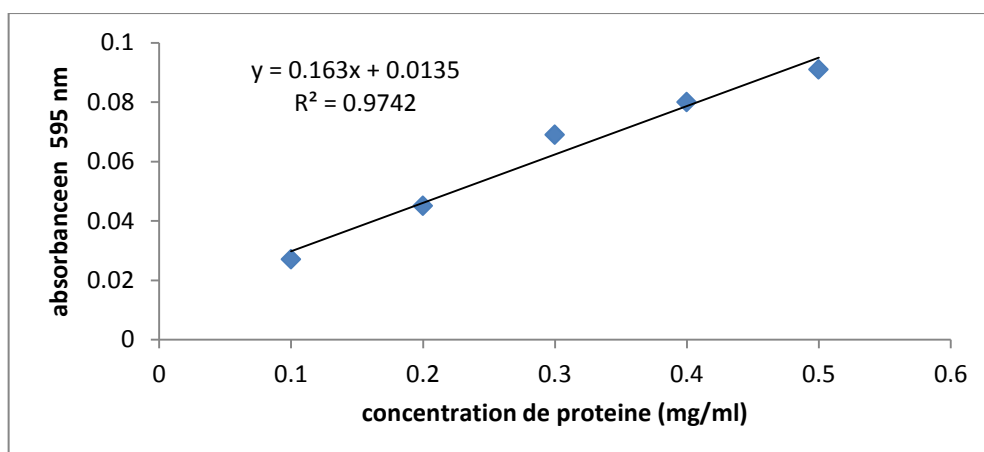
# AnnexII



**Figure:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour dosage des polyphénols totaux

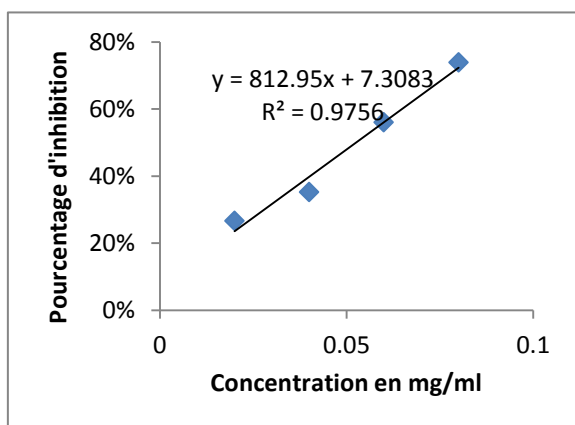


**Figure:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour les test de capacité antioxydant totale

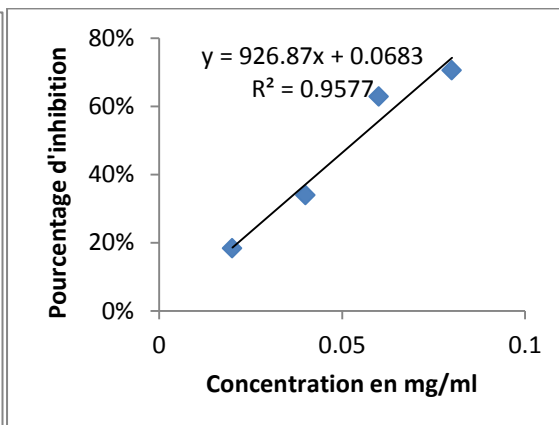


**Figure:** Courbe d'étalonnage de sérum albumine bovine pour dosage de protéines

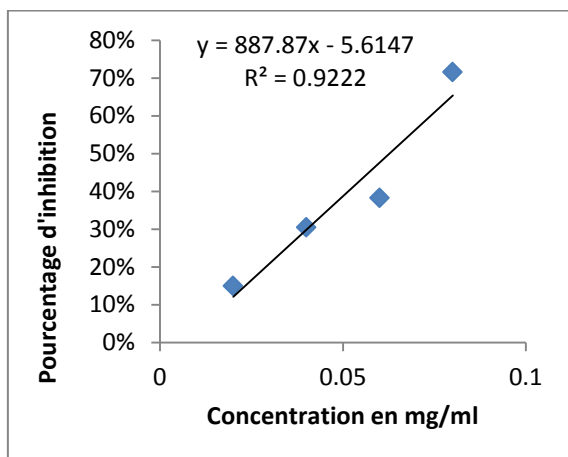
- Activité de Piégeage du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH•) en fonction différent concentration d'extrait pour les quatre régions.



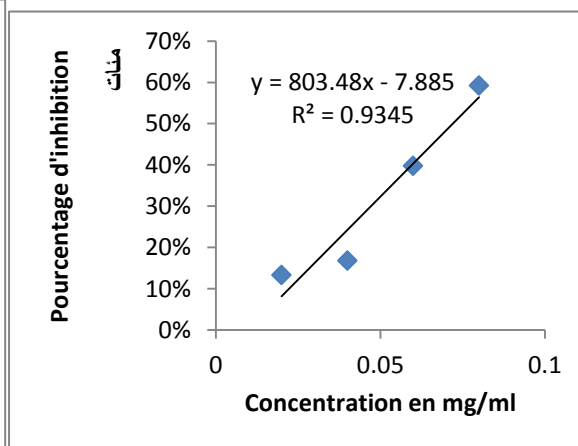
**Figure:** activité antioxydant d'extrait phénolique du région Guemar



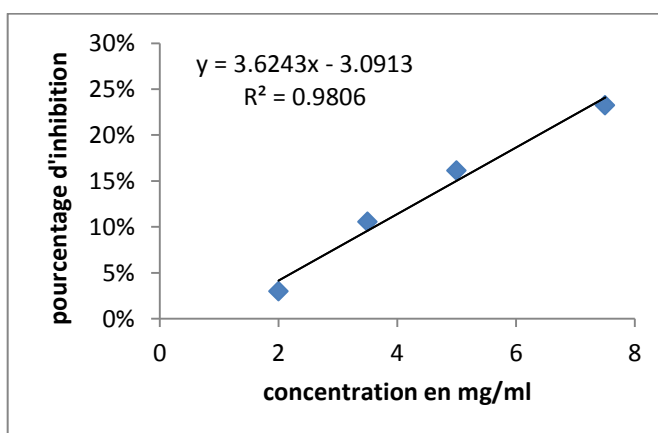
**Figure:** activité antioxydant d'extrait phénolique du région Hassani Abdelkrim



**Figure:** activité antioxydant d'extrait phénolique du région Tagzout

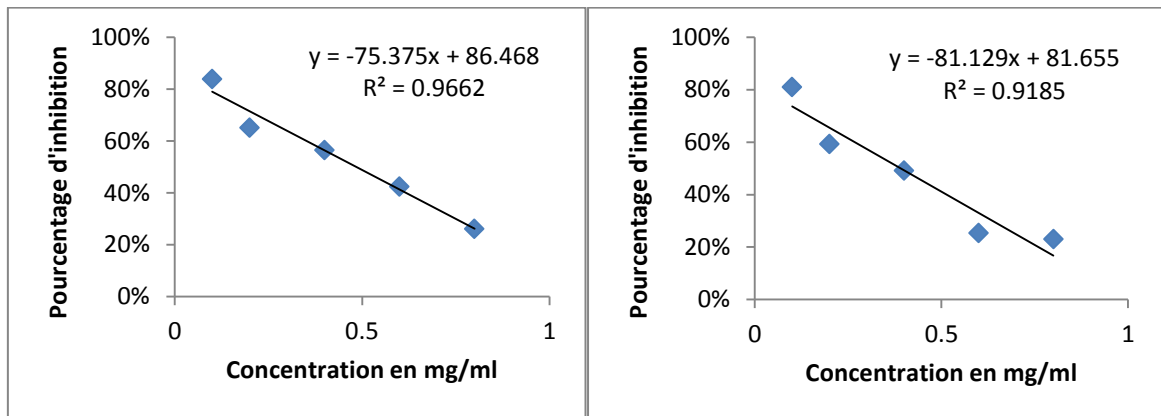


**Figure:** activité antioxydant d'extrait phénolique du région El-Oued



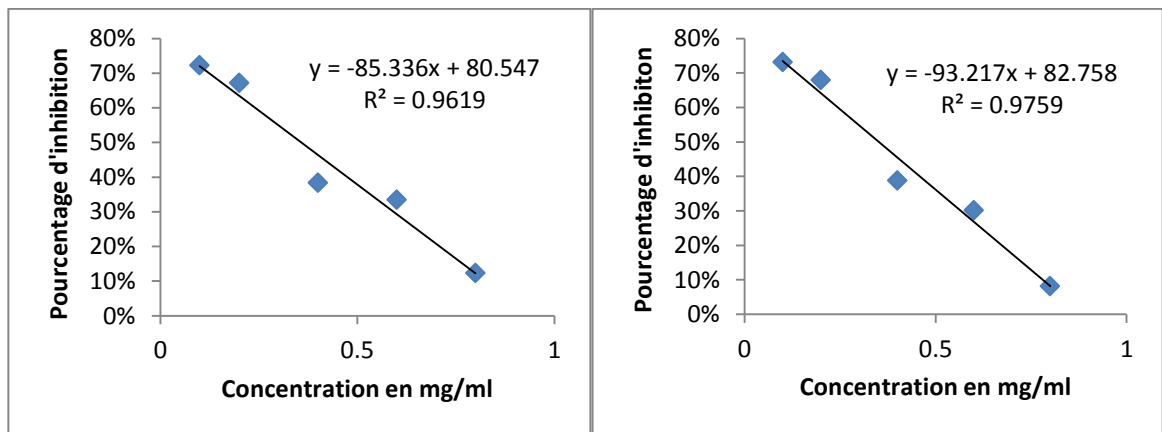
**Figure:** activité antioxydant d'acide ascorbique

- Pourcentage d'inhibition de la lyse des globules rouge (test Hémolyse) en fonction d'une différente concentration d'extrait pour les quatre régions.



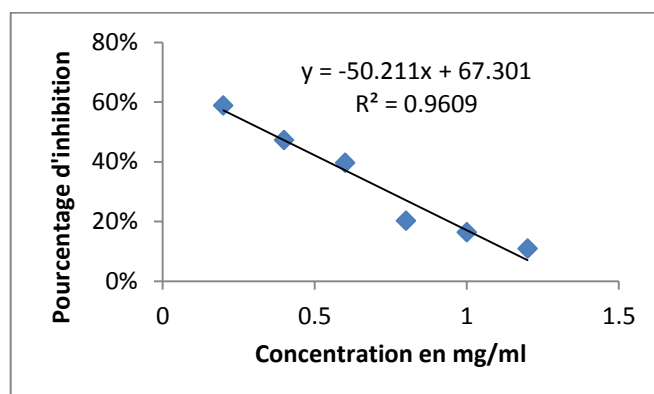
**Figure:** activité d'extrait phénolique du région Tagzout

**Figure:** activité d'extrait phénolique du région Geumar



**Figure:** activité d'extrait phénolique du région Hassani Abdelkrim

**Figure:** activité d'extrait phénolique du région El-Oued



**Figure:** activité d'extrait d'acide ascorbique



## *Annexe III*

**Tableau de résultats**

|   | <b>Taghzout</b> | <b>Guemar</b> | <b>Hassani<br/>Abdelkrim</b> | <b>El-Oued</b> | <b>Acide<br/>ascorbique</b> |
|---|-----------------|---------------|------------------------------|----------------|-----------------------------|
| <b>PH</b>                                     | 4.623± 0.033    | 4.743±0.032   | 4,376±0.051                  | 4.260±0.020    | /                           |
| <b>% de rendement</b>                         | 9.16            | 7.76          | 8.98                         | 7.48           | /                           |
| <b>PPT (mg EAG<br/>/ g EXS)</b>               | 4.25 ± 0.08     | 3.25 ± 0.11   | 3.04 ± 0.03                  | 2.86 ± 0.02    | /                           |
| <b>CAT(mg EAG<br/>g EXS)</b>                  | 2.539 ±0.039    | 2.574±0.074   | 2.391 ±0.091                 | 2.023±0.023    | /                           |
| <b>IC50 (mg/ml)</b>                           | 0.063±0.0005    | 0.052±0.000   | 0.050±0.006                  | 0.071±0.002    | 0.014±0,00                  |
| <b>I% (mg/ml)</b>                             | 26.163 ± 0.949  | 16.747±0.108  | 12.277±0.610                 | 8.323±0.950    | 20.18 ±0.46                 |
| <b>Protéines (mg/<br/>g MF)</b>               | 4.083±0.040     | 4.810±0.52    | 6.663±0.230                  | 5.323±0.343    | /                           |
| <b>GSH (nmol /mg<br/>De Protéines)</b>        | 106.450 ±0.58   | 84.15±2.262   | 60.172±0.280                 | 189.0±1.74     | /                           |
| <b>Catalase(μmol/mi<br/>n/mg De protéines</b> | 2.205±0.218     | 1,872± 0,045  | 1,580± 0,191                 | 1,458± 0,231   | /                           |
| <b>GST(nmol/min/<br/>mg de protéines )</b>    | 41.11±4.110     | 16.023±1.14   | 14.430±0.104                 | 60.40±0.72     | /                           |

## Résultat d'analyse statistique

### Analyse de variance pour **Valeur de pH**

| Source | DL | SC      | CM      | F     | P     |
|--------|----|---------|---------|-------|-------|
| C1     | 3  | 0,44169 | 0,14723 | 27,01 | 0,000 |
| Erreur | 8  | 0,04360 | 0,00545 |       |       |
| Total  | 11 | 0,48529 |         |       |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |
|--------|---|---------|-----------|
| E      | 3 | 4,2600  | 0,0200    |
| G      | 3 | 4,7433  | 0,0321    |
| H      | 3 | 4,3767  | 0,0513    |
| T      | 3 | 4,6233  | 0,0332    |

Ecart-type groupé = 0,0738

### Analyse de variance pour **Capacité antioxydant total**

| Source | DL | SC      | CM      | F     | P     |
|--------|----|---------|---------|-------|-------|
| C1     | 3  | 0,57142 | 0,19047 | 48,20 | 0,000 |
| Erreur | 8  | 0,03161 | 0,00395 |       |       |
| Total  | 11 | 0,60304 |         |       |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |
|--------|---|---------|-----------|
| E      | 3 | 2,0230  | 0,0230    |
| G      | 3 | 2,5740  | 0,0740    |
| H      | 3 | 2,3910  | 0,0910    |
| T      | 3 | 2,5390  | 0,0390    |

Ecart-type groupé = 0,0629

### Analyse de variance pour **IC50**

| Source | DL | SC        | CM        | F      | P     |
|--------|----|-----------|-----------|--------|-------|
| C1     | 4  | 0,0057984 | 0,0014496 | 173,95 | 0,000 |
| Erreur | 10 | 0,0000833 | 0,0000083 |        |       |
| Total  | 14 | 0,0058817 |           |        |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne  | EcartType |
|--------|---|----------|-----------|
| A      | 3 | 0,014000 | 0,000000  |
| E      | 3 | 0,071333 | 0,002082  |
| G      | 3 | 0,052000 | 0,000000  |
| H      | 3 | 0,050000 | 0,006083  |
| T      | 3 | 0,063333 | 0,000577  |

Ecart-type groupé = 0,002887

Analyse de variance pour **test hémolyse**

| Source | DL | SC      | CM      | F      | P     |
|--------|----|---------|---------|--------|-------|
| reg    | 4  | 574,183 | 143,546 | 299,29 | 0,000 |
| Erreur | 10 | 4,796   | 0,480   |        |       |
| Total  | 14 | 578,980 |         |        |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau   | N | Moyenne | EcartType |      |
|----------|---|---------|-----------|------|
| t        | 3 | 26,163  | 0,949     | (-*) |
| g        | 3 | 16,747  | 0,108     | (-*) |
| h        | 3 | 12,277  | 0,610     | (*-) |
| e        | 3 | 8,323   | 0,950     | (-*) |
| Ascorbiq | 3 | 20,180  | 0,460     | (-*) |

Ecart-type groupé = 0,693

12,0      18,0      24,0

Analyse de variance pour **dosagedesProtéines**

| Source  | DL | SC     | CM    | F     | P     |
|---------|----|--------|-------|-------|-------|
| REGIONS | 3  | 10,662 | 3,554 | 31,52 | 0,000 |
| Erreur  | 8  | 0,902  | 0,113 |       |       |
| Total   | 11 | 11,564 |       |       |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |             |
|--------|---|---------|-----------|-------------|
| T      | 3 | 4,0833  | 0,0404    | (----*----) |
| G      | 3 | 4,8100  | 0,5272    | (---*----)  |
| H      | 3 | 6,6633  | 0,2307    | (----*----) |
| E      | 3 | 5,3233  | 0,3439    | (---*----)  |

Ecart-type groupé = 0,3358

4,0      5,0      6,0      7,0

Analyse de variance pour **activité de GSH**

| Source  | DL | SC       | CM      | F       | P     |
|---------|----|----------|---------|---------|-------|
| regions | 3  | 28214,66 | 9404,89 | 3652,44 | 0,000 |
| Erreur  | 8  | 20,60    | 2,57    |         |       |
| Total   | 11 | 28235,26 |         |         |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |     |
|--------|---|---------|-----------|-----|
| T      | 3 | 106,45  | 0,58      | (*) |
| G      | 3 | 84,15   | 2,62      | (*) |
| H      | 3 | 60,17   | 0,28      | (*) |
| E      | 3 | 189,00  | 1,74      | (*) |

Ecart-type groupé = 1,60

80      120      160      200

Analyse de variance pour **activité decatalase**

| Source  | DL | SC     | CM     | F    | P     |
|---------|----|--------|--------|------|-------|
| regions | 3  | 0,9970 | 0,3323 | 6,79 | 0,014 |
| Erreur  | 8  | 0,3918 | 0,0490 |      |       |
| Total   | 11 | 1,3888 |        |      |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |               |
|--------|---|---------|-----------|---------------|
| E      | 3 | 1,4587  | 0,2314    | (-----*-----) |
| G      | 3 | 1,8727  | 0,0456    | (-----*-----) |
| H      | 3 | 1,5803  | 0,1910    | (-----*-----) |
| T      | 3 | 2,2050  | 0,2180    | (-----*-----) |

Ecart-type groupé = 0,2213      1,20      1,60      2,00      2,40

Analyse de variance pour **activité deGST**

| Source | DL | SC      | CM      | F      | P     |
|--------|----|---------|---------|--------|-------|
| REG    | 3  | 4349,85 | 1449,95 | 309,50 | 0,000 |
| Erreur | 8  | 37,48   | 4,68    |        |       |
| Total  | 11 | 4387,33 |         |        |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |       |
|--------|---|---------|-----------|-------|
| E      | 3 | 60,407  | 0,723     | (--*) |
| G      | 3 | 16,023  | 1,146     | (--*) |
| H      | 3 | 14,430  | 0,104     | (--*) |
| T      | 3 | 41,110  | 4,110     | (--*) |

Ecart-type groupé = 2,164      15      30      45      60

Analyse de variance pour **Polyphénols Totaux**

| Source  | DL | SC      | CM      | F      | P     |
|---------|----|---------|---------|--------|-------|
| Régions | 3  | 3.47567 | 1.15856 | 490.83 | 0.000 |
| Erreur  | 8  | 0.01888 | 0.00236 |        |       |
| Total   | 11 | 3.49455 |         |        |       |

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

| Niveau | N | Moyenne | EcartType |     |
|--------|---|---------|-----------|-----|
| E      | 3 | 2.8587  | 0.0177    | (*) |
| G      | 3 | 3.2507  | 0.1126    | (*) |
| H      | 3 | 3.0410  | 0.0262    | (*) |
| T      | 3 | 4.2510  | 0.0753    | (*) |

Ecart-type groupé = 0.0486      3.00      3.50      4.00      4.50

## Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de la variation d'environnement de la région (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim et El-Oued) sur les principes actifs et leur activité biologique de plante *Calligonum comosum* L'her (Larta) Qui pousse dans la région d'El-oued (Est Sud d'Alger). On a fait l'étude phytochimique et biochimique d'extrait de plante. On a pris en compte les mesure de différents paramètres tels que le pH, les composés phénoliques et les protéines, de même, on a testé l'activité des antioxydants et l'activité enzymatique de partie aérienne (feuilles) de la plante aux différents régions (Taghzout, Guemar, Hassani Abdelkrim et El-Oued). D'après cette étude, On a enregistré un pH de plante varie entre (4.2 à 4.7), aussi un pourcentage de rendement plus élevé pour plante de Taghzout (9.16%) et la plante de hassani Abdelkrim (8.98%), et la plante de Guemar (7.76%). El-Oued (7.48%). En ce qui concerne le dosage quantitatif des polyphénols, on remarque la quantité la plus élevée chez plante de Taghzout ( $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS), suivi par échantillon de Guemar ( $3.25 \pm 0.11$  mg EAG/g EXS) et Hassani Abdelkrim ( $3.04 \pm 0.03$  mg EAG/g EXS). Enfin l'extrait de région El-Oued ( $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS). Les tests utilisés pour l'estimation de l'activité antioxydant sont: capacité antioxydante total (CAT), piégeage de radical libre DPPH et pourcentage d'inhibition la lyse de globule rouge. Le test des bonnes valeurs notamment chez plante de (Guemar:  $2.574 \pm 0.074$  mg EAG/g EXS) et (Taghzout:  $2.539 \pm 0.039$  mg EAG/g EXS), aussi les extraits (Hassani Abdelkrim) donnent des valeurs importantes ( $2.391 \pm 0.091$  mg EAG/g EXS) et (El-Oued:  $2.023 \pm 0.023$  mg EAG/g EXS). Les valeurs (pourcentage d'inhibition) IC50 montrent des valeurs importantes chez plante de Hassani Abdelkrim qui sont ( $0.050 \pm 0.006$  mg/ml chez plante de Guemar est  $0.052 \pm 0.00$  mg/ml), mais les valeurs d'IC 50 faibles chez des extraits (Taghzout:  $0.063 \pm 0.0005$  mg/ml et ( $0.071 \pm 0.002$  mg/ml chez El-Oued). Taghzout en remarque un Pourcentage d'inhibition de la lyse des globules rouge très élève par rapport acide ascorbique ( $26.163\% \pm 0.949$ ). Concernent les paramètres biochimiques et enzymatiques, on a montré que la bonne quantités de protéine et GSH enregistre chez plante de (Hassani Abdelkrim et El-Oued) respectivement, plante de Taghzout est caractérisée par une bonne activité de CAT tandis que on remarque la bonne activité de GST enregistre chez plant de El-Oued. Nos résultats ont montré qu'il y a des différences très hautement significative entre les quatre régions d'*Calligonum comosum* L'her vis-à-vis la plupart des paramètres dossée.

**Mots clé :** *Calligonum comosum* L'her, phytochimique, régions, l'activité anti oxydantes, l'activité enzymatique, plane saharienne

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير التباين البيئي في المناطق على المادة الفعالة ونشاطها البيولوجي لنبات (الأرطى) . *Calligonum comosum* L. النامي في منطقة الوادي (جنوب شرق الجزائر) اجريت الدراسة الفيتو كيميائية والبيوكيميائية للمستخلصات النباتية. مثل درجة الحموضة، والمركبات الفينولية والبروتينات، وأيضاً تم اختبار النشاطية المضادة للأكسدة والنشاطية الإنزيمية في الجزء الهوائي (أوراق) للنبات من مختلف المناطق (تغزوت، قمار، حساني عبد الكريم و الوادي). سجلت درجة حموضة النبات تتراوح بين (4.2-4.8)، ونسبة المرودية الأعلى سجلت لدى نبات تغزوت (9.16%) يليها نبات حساني عبد الكريم (8.98%)، قمار (7.46%) و الوادي (7.48%). أما فيما يخص تحديد كمية عديد الفينول، فسجلت أعلى كمية لدى نبات تغزوت ( $4.25 \pm 0.08$  mg EAG/g EXS) تليها عينة قمار ( $3.25 \pm 0.11$  mg EAG/g EXS) وحساني عبد الكريم ( $3.04 \pm 0.03$  mg EAG/g EXS). أخيراً نبات الوادي ( $2.86 \pm 0.02$  mg EAG/g EXS). الاختبارات المستخدمة لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة هي: القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، اقتناص الجذر الحر DPPH وقدرة المستخلص على حماية كريات الدم من الانحلال. اختبار CAT اعطى قيم جيدة خصوصاً في (نبات قمار: mg EXS  $2.574 \pm 0.074$  EAG/g) ونبات (تغزوت: mg EXS  $2.539 \pm 0.039$  EAG/g) ، وأيضاً مستخلص (حساني عبد الكريم) اعطى قيمة معتبرة ( mg EXS  $2.391 \pm 0.091$  EAG/g) و نبات الوادي: ( mg EXS  $2.023 \pm 0.023$  EAG/g). قيم القدرة التثبيطية IC 50 تظهر عالية في نبات (حساني عبد الكريم) هي ( $0.050 \pm 0.006$  mg/ml و قمار  $0.052 \pm 0.00$  mg/ml)، على عكس منطقة (تغزوت:  $0.063 \pm 0.0005$  mg/ml) و(الوادي:  $0.071 \pm 0.002$  mg/ml) كانت قيمة IC50 منخفضة. نبات تغزوت سجل نسبة تثبيط تحلل خلايا الدم الحمراء عالية جداً مقارنة بالشاهد حمض الاسكوربيك ( $26.163\% \pm 0.949$  mg/ml). فيما يخص المعايير البيوكيميائية والأنزيمية، أظهرت النتائج أن الكمية المعتبرة من البروتين و GSH سجلت لدى نبات (حساني عبد الكريم و الوادي) على التوالي، يتميز نبات تغزوت بنشاطية انزيمية جيدة ل Catalase في حين يلاحظ النشاطية الجيدة ل GST سجلت لنبته الوادي. وأظهرت نتائجنا أن هناك اختلافات م جد عالية المعنوية بين الأربع مناطق ل *Calligonum comosum* L'her في معظم المعايير المدروسة.

**الكلمات المفتاحية:** *Calligonum comosum* L: مناطق، فيتوكيميائية، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية الإنزيمية، نبات صحراوي.