



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques  
Département de Biochimie et Microbiologie

## **Mémoire de fin d'études**

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en sciences biologiques

**Filière** : Biotechnologie

**Spécialité** : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

# **Potentiels antioxydant et anti-inflammatoire de deux plantes médicinales récoltées dans le Sud algérien**

Présenté par :

LAMOURI Louiza

HARBANE Sonia

**Dirigé par** : D<sup>r</sup> Bouazza B.

**Co-encadré par**: D<sup>r</sup> Oussaid S.

### **Jury:**

Ait-Said S.

MCA (UMMTO)

President

Taleb-Toudert K.

MCB (UMMTO)

Examinatrice

Mansour-Benamar M.

MCB (UMMTO)

Examinatrice

**Année universitaire 2018/2019**

## Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre gratitude et nos remerciements pour toutes les personnes qui ont contribué à sa réalisation.

Nous tenons tout d'abord à remercier Dr BOUAZZA B. et Dr OUSSAID S. pour avoir accepté de diriger ce travail, pour leurs aides, leurs conseils, leurs encouragements et leur grande disponibilité.

Nous adressons nos remerciements à Dr AIT-SAID S. d'avoir accepté de présider le jury de la soutenance.

Nous adressons également nos remerciements à Dr Taleb-Toudert K. et Dr Mansour-Benamar M. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements pour BOUJEMA A., LIDI B., BEKAKRA A. et HAMAIDI M. de nos avoir aidé à récolter les plantes au Sahara.

Nous remercions monsieur Bensidhoum M. de nos avoir aidé à identifier les plantes.

Nous tenons à remercier Dr MAMOU M. ainsi que son équipe de nos avoir aidé à réaliser l'analyse chromatographique au sein du laboratoire de chimie analytique à la faculté de médecine UMMTO.

Nous remercions également tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, qu'ils retrouvent à travers ce mémoire le fruit de leurs longues années de travail.

## **Dédicaces**

**A nos chers parents, l'assise de notre vie.**

**A nos chers (e) frères et sœurs.**

**A nos chers amis (e).**

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Photo originale d' <i>Ephedra alata</i> prise à Hassi Messaoud le 07/09/2018.....	04
<b>Figure 2</b> : Photo originale d' <i>Anabasis articulata</i> prise à Oued-Souf le 07/09/2018.....	06
<b>Figure 3</b> : Structure de base des acides benzoïque et cinnamique .....	08
<b>Figure 4</b> : Fréquence des plantes utilisées pour le traitement du cancer par les populations de Tizi-Ouzou, de Hassi Messaoud et d'Oued-Souf.....	19
<b>Figure 5</b> : Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques des extraits d' <i>Ephedra alata</i> séchée .....	20
<b>Figure 6</b> : Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques des extraits d' <i>Ephedra alata</i> fraîche .....	21
<b>Figure 7</b> : Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques des extraits d' <i>Anabasis articulata</i> séchée .....	22
<b>Figure 8</b> : Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques des extraits d' <i>Anabasis articulata</i> fraîche .....	22
<b>Figure 9</b> : Chromatogramme de l'extrait optimisés d' <i>Anabasis articulata</i> séchée .....	30
<b>Figure 10</b> : Chromatogramme de l'extrait optimisés d' <i>Anabasis articulata</i> fraîche .....	30
<b>Figure 11</b> : Chromatogramme de l'extrait optimisés d' <i>Ephedra alata</i> fraîche .....	30
<b>Figure 12</b> : Chromatogramme de l'extrait optimisés d' <i>Ephedra alata</i> séchée .....	31
<b>Figure13</b> : Effet des extraits optimisés d' <i>Ephedra alata</i> et d' <i>Anabasis articulata</i> sur l'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA.....	37

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Constituants chimiques d' <i>Anabasis articulata</i> .....	07
<b>Tableau 2 :</b> Les classes de flavonoïdes .....	09
<b>Tableau 3 :</b> Programme de gradient .....	17
<b>Tableau 4 :</b> Teneurs totales en polyphénols (TTP) et teneurs totales en flavonoïdes (TTF) d' <i>Ephedra alata</i> séchée et fraîche .....	24
<b>Tableau 5 :</b> Teneurs totales en polyphénols (TTP) et teneurs totales en flavonoïdes (TTF) d' <i>Anabasis articulata</i> séchée et fraîche .....	26
<b>Tableau 6.</b> Teneurs totales en polyphénols (TTP) et teneurs totales en flavonoïdes (TTF) des extraits optimisés d' <i>Ephedra alata</i> et d' <i>Anabasis articulata</i> .....	28
<b>Tableau 7 :</b> Les molécules de composés phénoliques et leurs concentrations dans les extrait S1, S2, S3 et S4 des plantes étudiées.....	30
<b>Tableau 8 :</b> Valeurs des IC50 de différents extraits d' <i>Ephedra alata</i> séchée.....	31
<b>Tableau 9 :</b> Valeurs des IC50 de différents extraits d' <i>Ephedra alata</i> fraîche.....	32
<b>Tableau 10 :</b> Valeurs des IC50 de différents extraits d' <i>Anabasis articulata</i> séchée.....	32
<b>Tableau 11 :</b> Valeurs des IC50 de différents extraits d' <i>Anabasis articulata</i> fraîche .....	33

## Listes des abréviations

**Ac** : Acétone

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

**AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens

**BHA** : Butylhydroxyanisole

**BHT** : Butylhydroxytoluène

**BSA** : Bovine serum albumin

**CPLH** : Chromatographie en phase liquide à haute performance

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**EAG** : Equivalant acide gallique

**EC** : Ecart-type

**ED** : Eau distillée

**EQ** : Equivalant quercitine

**ERO** : Espèces réactives oxygénées

**Eth** : Ethanol

**FC** : Folin-Ciocalteu

**IC<sub>50</sub>** : Inhibitory Concentration 50%

**MS** : Matière sèche

**PBS** : Phosphate-buffered saline

**PI** : Pourcentage d'inhibition

**PIDT** : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique

**S1** : Extrait optimisé d'*Anabasis articulata* séchée

**S2** : Extrait optimisé d'*Anabasis articulata* fraîche

**S3** : Extrait optimisé d'*Ephedra alata* séchée

**S4** : Extrait optimisé d'*Ephedra alata* fraîche

**TTF** : Teneur totale en flavonoïde

**TTP** : Teneur totale en polyphénol

**UV** : Ultra-violets



# Table des matières

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Première partie : Synthèse Bibliographique</b>	
<b>I.1. Présentation des plantes étudiées</b> .....	03
<b>I.1.1. <i>Ephedra alata</i></b> .....	03
<b>I.1.1.1. Classification</b> .....	03
<b>I.1.1.2. Aspects écologique et botanique</b> .....	03
<b>I.1.1.3. Effets thérapeutiques et utilisations traditionnelles</b> .....	04
<b>I.1.1.4. Travaux scientifiques antérieurs</b> .....	04
<b>I.1.1.4.1. Activités biologiques de la plante</b> .....	04
<b>I.1.1.4.2. Composition chimique</b> .....	05
<b>I.1.2. <i>Anabasis articulata</i></b> .....	05
<b>I.1.2.1. Classification</b> .....	05
<b>I.1.2.2. Aspects écologique et botanique</b> .....	06
<b>I.1.2.3. Effets thérapeutiques et utilisations traditionnelles</b> .....	06
<b>I.1.2.4. Travaux scientifiques antérieurs</b> .....	06
<b>I.1.2.4.1. Activités biologiques de la plante</b> .....	06
<b>I.1.2.4.2. Composition chimique</b> .....	07
<b>I.2. Les composés phénoliques</b> .....	08
<b>I.2.1. Définition</b> .....	08
<b>I.2.2. Classification</b> .....	08
<b>I.2.2.1. Les acides phénoliques</b> .....	08
<b>I.2.2.2. Les flavonoïdes</b> .....	08
<b>I.2.2.3. Les tannins</b> .....	09
<b>I.2.2.4. Les coumarines</b> .....	10
<b>I.2.2.5. Les stilbènes</b> .....	10
<b>I.2.2.6. Les lignanes</b> .....	10
<b>I.3. Activité antioxydante</b> .....	10
<b>I.3.1. Les radicaux libres</b> .....	10
<b>I.3.2. Le stress oxydant</b> .....	11
<b>I.3.3. Mécanisme d'action des antioxydants</b> .....	11
<b>I.4. Activité antiinflammatoire</b> .....	12

## Deuxième partie : partie expérimentale

II. Matériels et méthodes .....	13
II.1. Enquête ethnobotanique .....	13
II.2. Matériel végétal.....	13
II.2.1. Préparation des échantillons de plantes.....	13
II.3. Optimisation des conditions d'extractions .....	13
II.3.1. Extraction des composés phénoliques .....	13
II.3.1.1. Choix de la durée d'extraction .....	14
II.3.1.2. Choix du solvant extracteur .....	14
II.3.2. Détermination des teneurs totales des polyphénols (TTP) .....	14
II.3.3. Détermination des teneurs totales en flavonoïdes (TTF) .....	15
II.4. Préparation des extraits optimisés .....	15
II.5. Caractérisation des extraits optimisés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	16
II.6. Evaluation de l'activité antioxydante .....	17
II.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	18
II.8. Analyse statistique .....	18

## Troisième partie : Résultats et Discussion

III.1. Enquête ethnobotanique .....	19
III.2. Optimisation de l'extraction des composés phénoliques .....	20
III.2.1. Choix de la durée d'extraction .....	20
III.2.1.1. <i>Ephedra alata</i> séchée .....	20
III.2.1.2. <i>Ephedra alata</i> fraîche .....	21
III.2.1.3. <i>Anabasis articulata</i> séchée .....	21
III.2.1.4. <i>Anabasis articulata</i> fraîche.....	22
III.2.2. Choix du solvant extracteur .....	23
III.2.2.1. Effet du type de solvant sur les teneurs en composés phénoliques totales (TTP) et sur les teneurs en flavonoïdes totales (TTF) .....	23
III.2.2.1.1. <i>Ephedra alata</i> séchée.....	23
III.2.2.1.2. <i>Ephedra alata</i> fraîche .....	25
III.2.2.1.3. <i>Anabasis articulata</i> séchée .....	26
III.2.2.1.4. <i>Anabasis articulata</i> fraîche.....	27

<b>III.3.</b> Estimation quantitative des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux des optimums.....	29
<b>III.4.</b> Identification des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	29
<b>III.5.</b> Activité antioxydante.....	32
<b>III.5.1.</b> <i>Ephedra alata</i> séchée .....	32
<b>III.5.2.</b> <i>Ephedra alata</i> fraîche .....	33
<b>III.5.3.</b> <i>Anabasis articulata</i> séchée .....	33
<b>III.5.4.</b> <i>Anabasis articulata</i> fraîche .....	34
<b>III.6.</b> Activité anti-inflammatoire .....	35
<b>Conclusion</b> .....	36

## **Références bibliographique**

## **Annexes**

.....  
.....

## Résumé

**Introduction.** Le stress oxydatif et l'inflammation peuvent favoriser l'apparition de plusieurs maladies notamment le diabète, les maladies cardiovasculaires ou le cancer. Ce dernier constitue un problème majeur de santé publique. En plus de leur inefficacité, les traitements anti-cancer possèdent des effets secondaires graves. Les plantes médicinales, souvent utilisées ces dernières années, peuvent constituer une alternative thérapeutique naturelle.

**Objectifs.** Ce travail a pour objectifs i) de rechercher et de sélectionner les plantes utilisées pour le traitement des maladies inflammatoires notamment le cancer, ii) d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques des plantes sélectionnées : *Ephedra alata* et *Anabasis articulata*, et enfin iii) d'examiner *in vitro* leurs propriétés antioxydante et anti-inflammatoire.

**Matériel & Méthodes.** La recherche et la sélection des plantes ont été effectuées par l'étude ethnobotanique à l'aide de questionnaires et d'interviews. L'optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques des feuilles des plantes sélectionnées est faite pour déterminer le meilleur temps (1h, 3h et 3X 1h) et le meilleur solvant (acétone, éthanol, eau distillée ainsi que leurs combinaisons) d'extraction. Les teneurs totales en polyphénols (TTP) et en flavonoïdes (TTF) ont été évaluées par des tests colorimétriques. Les composés phénoliques des extraits optimisés ont été identifiés par une chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Enfin, Le potentiel antioxydant a été déterminé par le test au DPPH alors que l'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines.

**Résultats.** L'optimisation des paramètres d'extraction des TTP et TTF a permis de déterminer 3h comme meilleur temps. Cependant, les meilleures combinaisons de solvants sont dépendantes de la plante et de son état (frais ou séché) : *E. alata* séchée (100% éthanol), *E. alata* fraîche (43% eau distillée + 33% éthanol + 24% acétone), *A. articulata* séchée (36% eau distillée + 26% éthanol + 38% acétone) et enfin *A. articulata* fraîche (48% eau distillée + 52 % éthanol). L'analyse du contenu phénolique des extraits optimisés par HPLC a révélé la présence des molécules bioactives importantes (l'acide cinnamique, l'acide caféiques et l'acide coumarique). Les extraits optimisés d'*E. alata* séchée, d'*E. alata* fraîche, d'*A. articulata* séchée et *A. articulata* fraîche ont montré des pouvoirs antioxydants élevés où les IC<sub>50</sub> sont  $0.55 \pm 0.005$ ,  $0.30 \pm 0.002$  et  $0.23 \pm 0.04$  et  $0.16 \pm 0.04$  mg/mL respectivement. De plus, tous les extraits sont caractérisés par une importante activité anti-inflammatoire (% d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA compris entre 80% et 97.82%).

**Conclusion.** Dans l'ensemble, nos résultats ont permis de mettre en évidence les potentiels antioxydant et anti-inflammatoire des feuilles d'*Ephedra alata* et d'*Anabasis articulata*, deux plantes utilisées traditionnellement dans le traitement du cancer et de ce fait pourraient se présenter comme une alternative thérapeutique.

**Mots clés :** *Ephedra alata*, *Anabasis articulata*, optimisation, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

## Abstract

**Introduction.** Oxidative stress and inflammation may lead to the development of several chronic diseases including diabetes, cardiovascular disease and cancer. The latter is a major public health problem. However, anti-cancer treatments are ineffective and have serious side effects. Medicinal plants were used as traditional medicines for many for the treatment of different health conditions including cancer.

**Objective.** The aims of our study are i) to identify and select the medicinal plants used by the local population for the treatment of inflammatory diseases, specifically cancer, ii) to optimize the extraction conditions of the phenolic compounds of the selected plants: *Ephedra alata* and *Anabasis articulata*, and iii) to examine *in vitro* their antioxidant and anti-inflammatory activities.

**Materiel & Methods.** Plant selection was achieved by ethnobotanical study using a questionnaire and interviews. In order to determine the best time (1h, 3h and 3X 1h) and the best solvent (acetone, ethanol, distilled water and their combinations) of plant extraction, different extraction parameters of the phenolic compounds from the leaves were optimized. Total phenolic contents (TPC) and total flavonoid contents (TFC) were evaluated by colorimetric tests. Phenolic compound of the optimized extracts was identified by high-performance liquid chromatography (HPLC). The antioxidant potential was determined by DPPH test while the anti-inflammatory activity was evaluated by the albumin denaturation inhibition assay.

**Results.** 3h was determined as the best time of TPC and TFC extractions. However, the best extraction solvent was depended on the plant and its stat (fresh or dried): dried *E. alata* [100% ethanol (Eth)], fresh *E. alata* [43% distilled water (DW) + 33% Eth + 24% acetone (Ac)], dried *A. articulate* (36% DW + 26% Eth + 38% Ac) and fresh *A. articulata* (48% DW + 52 % Eth). The HPLC analysis of the phenolic compounds of the optimized extracts revealed the presence of important bioactive molecules (cinnamic acid, caffeic acid and coumaric acid). Interestingly, the optimized extracts from *E. alata* (dried and fresh plant materials), *A. articulata* (dried and fresh plant materials) showed a high antioxidant potential. Indeed, the different extract exhibited significant inhibition of DPPH free radicals with low IC<sub>50</sub> values ( $0.55 \pm 0.005$ ,  $0.30 \pm 0.002$  et  $0.23 \pm 0.04$  et  $0.16 \pm 0.04$  mg/mL respectively). Moreover, all the extracts showed an important anti-inflammatory activity (% of the BSA denaturation inhibition was between 80% and 97.82%).

**Conclusion.** our results demonstrated the antioxidant and anti-inflammatory potentials of *Ephedra alata* and *Anabasis articulata* leaves extracts, and may be used as therapeutic alternatives in the treatment of cancer.

**Keywords:** *Ephedra alata*, *Anabasis articulata*, optimization, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**

## Introduction

Les espèces réactives de l'oxygène (dont les radicaux libres), le stress oxydatif et les antioxydants sont devenus des termes familiers dans le monde médical, jouant un rôle important dans la physiopathologie de plusieurs maladies (Defraigne et Pincemail, 2008).

Le changement climatique et environnemental, la pollution, les mauvaises habitudes alimentaires sont des facteurs qui favorisent la production excessive de radicaux libres dans l'organisme. Les radicaux libres provoquent le stress oxydatif qui est à l'origine de la dégradation des composants cellulaires (ADN, protéines, lipides et glucides) et d'une inflammation accrue (Zuo *et al.*, 2019). Des études récentes ont montré que l'inflammation est un facteur majeur de la progression de diverses maladies notamment le diabète, le cancer et les maladies inflammatoires de l'intestin (Arulselvan *et al.*, 2016).

Le traitement de l'inflammation est souvent basé sur l'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et stéroïdiens (AIS), ces médicaments et malgré leur efficacité, présentent souvent des risques de toxicité et des effets secondaires graves (Bourkhiss *et al.*, 2010, Villagómez-Rodríguez *et al.*, 2019). D'un autre côté, l'utilisation des antioxydants synthétiques de façon routinière tels que le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique est suspectée à long terme d'effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes (Bourkhiss *et al.*, 2010).

Afin de remédier à ce problème, beaucoup de chercheurs s'intéressent à identifier de nouvelles substances au potentiel thérapeutique. En effet, des études ont montré que les plantes médicinales possèdent de nombreuses molécules bioactives, telles que les polyphénols, qui sont dotés de plusieurs activités biologiques et pharmacologiques notamment des activités antioxydante, anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancéreuse, etc. (Mata *et al.*, 2019 ; Li *et al.*, 2019).

C'est dans cette optique que nous avons mené ce travail afin de contribuer à la recherche de substances naturelles (dérivées de plantes médicinales) pourvues de pouvoirs antioxydant et/ou anti-inflammatoire.

La présente étude est scindée en trois parties, la première présente une revue de la littérature sur les plantes médicinales sélectionnées à partir d'une enquête ethnobotanique sur les remèdes traditionnels à base de plantes médicinales utilisées dans le traitement du cancer, menée auprès des populations des régions de Tizi-Ouzou, de Hassi Messaoud et d'Oued-Souf en Algérie, leurs propriétés chimiques et biologiques et les principales classes des composés phénoliques. La seconde ayant pour objectifs d'optimiser les conditions d'extraction des

composés phénoliques des feuilles d'*Ephedra alata* et d'*Anabasis articulata* et d'examiner *in vitro* leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire. La dernière représente les principaux résultats de l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques des feuilles des deux plantes étudiées et leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire.

**PREMIÈRE PARTIE**  
**SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. 1. Présentation des plantes étudiées

*Ephedra alata* et *Anabasis articulata* sont deux espèces qui poussent principalement dans le désert, notamment le désert d'Algérie, dans des sols pierreux et arides (Ozenda, 2004). Ces plantes sont largement utilisées en Algérie, en Tunisie et en Egypte, d'une manière traditionnelle dans le traitement de diverses maladies notamment le cancer. Dans la présente étude ces deux plantes ont été sélectionnées et récoltées à Hassi Messaoud et Oued-Souf.

### I.1.1. *Ephedra alata*

#### I.1.1.1. Classification

Selon la classification phylogénétique de 2009 *Ephedra alata* est classée comme suit :

- Règne : plantae
- Sous Règne : Tracheobionta
- Division : Gnetophyta
- Classe : Gnetopsida
- Ordre : Ephedrales
- Famille : Ephedraceae
- Genre : *Ephedra*
- Espèce : *Ephedra alata*

#### I.1.1.2. Aspects écologique et botanique

Il existe environ 40 espèces du genre *Ephedra* qui colonisent les milieux arides, en particulier ceux de l'hémisphère nord et la partie sud de l'Amérique (Danciu *et al.*, 2018). Le genre *Ephedra* contient plus de 60 espèces réparties en Asie, en Amérique, en Europe et en Afrique du Nord (Zhang *et al.*, 2018).

*Ephedra alata* pousse principalement dans le désert, c'est un petit arbuste à rameaux articulés qui peut atteindre 1 à 3 mètres de hauteur. Il est d'une couleur vert-jaunâtre, portant des petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre, des fleurs en petits cônes, les mâles et les femelles sont généralement sur deux pieds différents (Ozenda, 2004). La figure 1 montre la photographie d'*E. alata* prise à Hassi Messaoud le 07.09.2018.



**Figure 1.** Photo originale d'*Ephedra alata* prise à Hassi Messaoud le 07/09/2018.

### **I.1.1.3. Effets thérapeutiques et utilisations traditionnelles**

Connue pour ses vertus médicinales, *E. alata* est largement exploitée en médecine traditionnelle. En effet, la plante est utilisée pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe et les maux de tête, cette plante présente également des activités antimicrobiennes et anticancéreuses (Al-Rimawi *et al.*, 2017).

A Ouargla en Algérie, les feuilles et les rameaux d'*E. alata* sont utilisés en macération comme en inhalation pour soigner la grippe, le rhume et les troubles respiratoires (Ould El Hadj *et al.*, 2003). En Palestine, une enquête ethnopharmacologique menée auprès de la population des zones rurales a montré que *E. alata* était la plante la plus utilisée pour le traitement de diverses maladies notamment le cancer (Jaradat *et al.*, 2016).

### **I.1.1.4. Activités biologiques de la plante**

Les études portant sur les extraits d'*E. alata* ont révélé qu'elle possède diverses activités biologiques. Les résultats obtenus par Al-Qarawi *et al.* (2011), suggèrent l'utilisation d'*E. alata* pour contrôler la contamination des fourrages par les aflatoxines. L'extrait aqueux d'*E. alata* récoltée au sud de la Tunisie agit comme un agent bactériostatique contre *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*. Cependant, il est bactéricide vis-à-vis des cocci à Gram positif (Danciu *et al.*, 2018). L'extrait aqueux d'*E. alata* collectée en

Egypte avait montré une activité antifongique contre les souches *Penicillium italicum*, *Syncephalastrum racemosum* et *Candida albicans* (Ghanem et El-Magly, 2008). Les extraits d'*E. alata* cultivée à l'état sauvage en Palestine, révèlent une importante activité antioxydante (Al-Rimawi et al., 2017). Danciu et al. (2018), ont démontré que l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne d'*E. alata* du sud de la Tunisie possède une activité antiproliférative, pro-apoptotique et cytotoxique contre la lignée cellulaire cancéreuse MCF-7.

#### **I.1.1.5. Composition chimique**

La caractérisation des constituants chimiques d'*E. alata* récoltée en Palestine réalisée par Kittana et al. (2017) a montré la présence de tannins, de flavonoïdes, de phénols, de glycosides cardiaques, de stéroïdes et de alcaloïdes.

Les composés phénoliques de l'extrait éthanolique d'*E. alata* récoltée en Tunisie, ont été identifiés par chromatographie sur colonne et sont constitués d'acide rosmarinique, du resvératrol, de la quercitine, du kampherol, de l'acide caféique, de l'acide p-coumarique et de l'épicatéchine. Dans l'extrait méthanolique, les composés suivants ont été détectés : l'acide rosmarinique, le resvératrol, la quercitine, le kampherol, l'acide caféique et l'acide coumarique (Danciu et al., 2018).

#### **I.1.2. *Anabasis articulata***

##### **I.1.2.1. Classification**

Selon la classification phylogénétique de 2009 *Anabasis articulata* est classée comme suit :

- Règne : plantae
- Sous Règne : Tracheobionta
- Division : Mognolophyta
- Classe : Mognolopsida
- Sous classe : Caryophyllidae
- Ordre : Caryophyllales
- Famille : Amaranthaceae
- Genre : *Anabasis*
- Espèce : *Anabasis articulata* (Forssk) Moq.

### I.1.2.2. Aspects écologique et botanique

*Anabasis articulata* est une plante endémique saharienne à buisson bas, à souche épaisse et tortueuse, à rameaux articulés vert-pâle presque blanchâtre surtout sur le sec, à articles épais à peine dilatés vers le haut en deux feuilles très courtes. Les fleurs blanches sont isolées à l'aisselle de chaque feuille. Le fruit est entouré par trois ailes dues à la dilatation de trois des cinq sépales. Elle est commune dans les sols pierreux de tout le Sahara, jusqu'au Sahara méridional (Ozenda, 2004). La figure 2 montre la photographie d'*Anabasis articulata* prise à Hassi Messaoud (le 07.09.2018).



**Figure 2.** Photo originale d'*Anabasis articulata* prise à Oued-Souf le 07/09/2018

### I.1.2.3. Effets thérapeutiques et utilisations traditionnelles

*Anabasis articulata* est une plante largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour traiter le diabète (Kambouche *et al.*, 2011). Les parties aériennes sont utilisées en décoction pour traiter la fièvre, les maux de tête et en utilisation externe pour traiter les maladies de la peau tel que l'eczéma (Hammiche et Maiza, 2006) et les infection rénales (Azza *et al.*, 2014).

### I.1.2.4. Activités biologiques de la plante

Des études ont montré que la tige (Benhamou *et al.*, 2013) et les racines (Ghembaza *et al.*, 2016) d'*A. articulata* récolté en Algérie exercent une considérable activité antioxydante. De plus, l'extrait aqueux des feuilles d'*A. articulata* a montré un effet antidiabétique (Kambouche *et al.*, 2011). Plusieurs autres propriétés ont été attribuées aux saponines telles que

l'effet immunostimulateur, la cytotoxicité ainsi que des propriétés antitumorales (Kambouche *et al.*, 2009).

Par ailleurs, une activité anti-inflammatoire élevée de l'extrait méthanolique d'*A. articulata* d'Arabie Saoudite a été observée sur un modèle d'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat (Abdallah *et al.*, 2014).

### I.1.2.5. Composition chimique

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles d'*A. articulata* récoltées en Algérie, menée par Kambouche *et al.* (2009) révèle la présence d'alcaloïde (1,25%) et de saponine (1,30%). Le tableau ci-dessous présente les constituants chimiques de la plante d'*A. articulata* récoltées en Libye, au fonction du solvant d'extraction :

**Tableau 1.** Constituants chimiques d'*A. articulata* (Hamdoon *et al.*, 2013) : (+) : présence ; (-) : absence.

Constituants de la plantes	Extrait éthanoïque	Extrait acétonique	Extrait de chloroforme	Extrait de petroleum d'éther
Polyphénols	+++	++	+	-
Flavonoïdes	+++	++	+	-
Tanins	+++	++	-	-
Anthraquinones	-	-	-	-
Alcaloïdes	+++	++	-	-
Saponines	+	+	-	-
Carbohydrates	++	-	-	-
Stérols	-	-	+	++

## I.2. Les composés phénoliques

### I.2.1. Définition

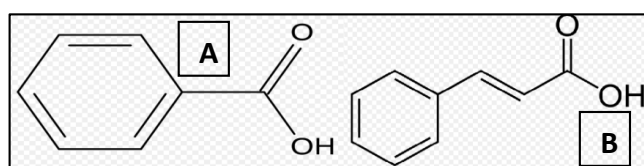
Les polyphénols constituent un groupe de métabolites secondaires caractérisés par la présence d'au moins un noyau aromatique, possédant un ou plusieurs groupes hydroxyles

(Abderrezak et Joël, 2007). Ces derniers sont soit libre ou engagés dans une autre fonction tels que l'éther, l'ester ou l'hétéroside (Bruneton, 2009). Plus de 8000 composés phénoliques ont été identifiés chez diverses espèces de plantes (Kanti et Syed, 2009) et sont présents dans les fruits, les légumes, les céréales et les boissons. Les polyphénols sont impliqués dans la défense contre les rayons ultra-violet (UV), contre les attaques des pathogènes et également sont des excellents antioxydants (Kanti et Syed, 2009).

## I.2.2. Classification

### I.2.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Les composés et les fonctions des acides phénoliques ont fait l'objet des études agricole, biologique, chimique et médicale (Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N., 2011). Les acides phénoliques sont abondants dans les aliments et se divisent en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. La teneur en acide hydroxybenzoïque des plantes comestibles est généralement faible. Les acides hydroxycinnamiques sont plus communs que les acides hydroxybenzoïques et constituent principalement les acides p-coumariques, cafféiques, féruliques et sinapiques (Kanti et Syed, 2009).



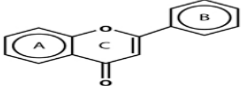
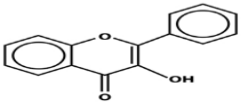
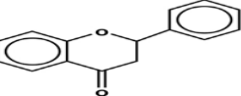
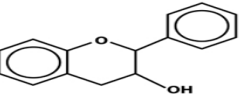
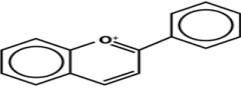
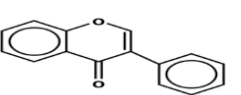
**Figure 3.** Structure de base des acides benzoïque (A) et cinnamique (B).

### I.2.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques comprenant plus de 4000 structures variées. Ce sont des pigments chez les plantes (Abderrezak et Joël, 2007). Tous les flavonoïdes possèdent une structure de base C6-C3-C6 constituée de deux cycles aromatiques (A et B) avec un C6 et un hétérocycle (C) contenant un atome d'oxygène. Les flavonoïdes sont dotés de différentes propriétés à savoir les propriétés antiradicalaires (Amić *et al.*, 2003), chélatrices des

ions métalliques (Malešev et Kuntić, 2007), propriétés antibactériennes (Khalfallah *et al.*, 2017) et antitumorales (Magne Nde *et al.*, 2015). On distingue six groupes de flavonoïdes (Tableau 2).

**Tableau 2.** Les classes des flavonoïdes (Ghasemzadeh, A et Ghasemzadeh, N., 2011).

<p><b>Flavones</b> (lutéoline, apigénine, tangerétine)</p>	
<p><b>Flavonols</b> (quercétine, kaempferol, myricétine, isorhamnetin, pachypodol)</p>	
<p><b>Flavanones</b> (hésprétine, naringénine, ériodictyol)</p>	
<p><b>Flavan-3-ols</b> (catéchine et épicatechine)</p>	
<p><b>Isoflavones</b> (génistéine, daidzéine, glycitéine)</p>	
<p><b>Anthocyanidines</b> (cyanidine, delphinidine, malvidine, pélargonidine, péonidine, pétunidine)</p>	

### I.2.2.3. Les tannins

Les tanins sont des dérivés phénoliques hétérogènes, ils sont largement distribués chez les plantes supérieures avec un poids moléculaire qui varie de 500 à 3000. Ils sont utilisés pour la teinture ou la préparation d'encre. Ils ont la propriété de rendre la peau imputrescible en se fixant sur des protéines, ainsi utilisés pour le tannage des peaux (Abderrezak et Joël, 2007).

On distingue deux grands groupes de tannins chez les végétaux supérieurs qui diffèrent par leur structure et leur origine biogénétique. Les tanins hydrolysables sont des esters de l'acide gallique et du glucose, alors que les tanins condensés ou proanthocyanidol sont des polymères flavaniques (Bruneton, 2009).

### I.2.2.4. Les coumarines

Les coumarines sont constituées de neuf atomes de carbone et caractérisées par le noyau 2H-1-benzopyrane-2-one. Les coumarines sont des dérivés des acides hydroxycinnamiques et également le point de départ d'une famille de composés qui se forme par une substitution en 6,7 et 8 sur le cycle aromatique (Abderrezak et Joël, 2007). Les coumarines simples ont été utilisées pour la conception des parfums et arômes de synthèse pour leur propriété de dégager une agréable odeur, rappelant la vanilline (Mpondo *et al.*, 2015).

#### **I.2.2.5. Les stilbènes**

Comme les flavonoïdes, les membres de la famille des stilbènes possèdent une structure de type C6-C2-C6. Ce sont des composés phénoliques, phytoalexine synthétisés par les plantes en réponse aux attaques fongiques, bactériales et virales. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

#### **I.2.2.6. Les lignanes**

Les lignanes représentent une classe importante de métabolites, ce sont des dimères d'unités phényl-propane (C6-C3) associées par le carbone central de leur chaîne aliphatique latérale. Les lignane sont présents dans les bois chez les Gymnospermes, tandis qu'ils sont rencontrés dans tous les tissus chez les Angiospermes (Bruneton, 2009).

### **I.3. Activité antioxydante**

#### **I.3.1. Les radicaux libres**

Les radicaux libres sont par définition des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdal et Serres, 2011). Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de radicaux libres, les radicaux primaires et les radicaux secondaires (Favier, 2003). Les ERO lorsqu'elles sont à faible concentration ont des effets bénéfiques pour la cellule (la phosphorylation des protéines, l'apoptose, etc.). Quand leur production augmente elles deviennent nocives pour les structures cellulaires comme les protéines et les lipides, et génèrent ainsi le stress oxydant (Togliatto *et al.*, 2017).

#### **I.3.2. Le stress oxydant**

L'oxygène joue un rôle important dans la survie et le développement de l'être Humain, mais également est un élément à l'origine de la toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence et de stress oxydatif lorsque son métabolisme est dérégulé (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la formation des radicaux libres et la capacité de la cellule à les éliminer (Togliatto *et al.*, 2017). Par ailleurs, quand il est en excès provoque des dommages pour les structures cellulaires (lipides, protéines ou ADN) et inhibe leurs fonctions normales, ainsi qu'il est à l'origine de nombreuses maladies dégénératives telles que l'athérosclérose, les maladies coronariennes, le vieillissement et le cancer (Feng-Lin *et al.*, 2010).

### **I.3.3. Mécanisme d'action des antioxydants**

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion et l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) et de protéines (Haleng *et al.*, 2007).

Les groupes hydroxyles des polyphénols sont des donneurs d'atomes d'hydrogènes ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote. Suite à l'interaction avec les espèces réactives initiales, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite, ayant une plus grande stabilité chimique que le radical initial. L'interaction des groupes hydroxyles des composés phénoliques avec les électrons du noyau benzénique donne aux molécules des propriétés particulières, notamment la capacité à générer des radicaux libres, où le radical est stabilisé par la délocalisation. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est également attribué à leur capacité à chélater les ions métalliques et inhibent certaines enzymes impliquées dans la génération de radicaux (Pereira *et al.*, 2009).

### **I.4. Activité antiinflammatoire**

L'inflammation est une réponse naturelle complexe à des stimuli nocifs physiques, biologiques ou chimiques. C'est une réaction de défense provoquée par une agression. Elle est considérée comme une réponse à de nombreuses maladies telles que le cancer, la polyarthrite rhumatoïde et le diabète (Villagómez-Rodríguez *et al.*, 2019). L'inflammation manifeste des

signes de rougeur, de gonflement et des douleurs, et qui implique une augmentation de la dénaturation des protéines (Gunathilake *et al.*, 2018).

Les composés phénoliques et les flavonoïdes jouent un rôle efficace en tant que facteurs anti-inflammatoires naturels qui bloquent les voies de signalisation majeures, responsables de la production de divers médiateurs pro- inflammatoires (Arulselvan *et al.*, 2016). De nombreuses études ont prouvé que les composés phénoliques et les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques dont l'activité anti-inflammatoire (Lafuente *et al.*, 2009 ; Pan MH *et al.*, 2009).

**DEUXIÈME PARTIE**  
**PARTIE EXPÉRIMENTALE**

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Enquête ethnobotanique

Une enquête ethnobotanique a été effectuée de Juin à Septembre 2018, dans trois populations : Tizi-Ouzou, Hassi Messaoud et Oued-Souf. Les données sont récoltées à l'aide d'un questionnaire (Annexe 1) et d'une interview auprès des herboristes et des personnes ayant des connaissances sur les plantes médicinales et la médecine traditionnelle. Le questionnaire est subdivisé en deux parties : une partie sur l'informateur et l'autre sur les plantes médicinales ayant un potentiel anti-inflammatoire utilisées pour le traitement du cancer.

### II.2. Matériel végétal

#### II.2.1. Préparation des échantillons de plantes

La présente étude a été réalisée sur les feuilles des plantes *E. alata* et *A. articulata* provenant de Hassi Messaoud et d'Oued-Souf et ont été identifiées par Monsieur Bensidhoum M. enseignant chercheur à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Les plantes ont été récoltées sur deux périodes, la première a été réalisée en mois de Septembre de l'année 2018 au stade végétatif et les échantillons cueillis ont subi un séchage de 5 mois à l'air libre et à l'abri de la lumière. La deuxième a été effectuée en mois d'Avril de l'année 2019 au stade de floraison pour une étude à l'état frais. Les différents échantillons ont été broyés et la poudre obtenue ayant un diamètre inférieur à 250 nm est utilisée pour réaliser les différents tests.

### II.3. Optimisation des conditions d'extractions

#### II.3.1. Extraction des composés phénoliques

L'extraction est une étape majeure dans l'utilisation ultérieure des composés phénoliques. Cette partie consiste en l'optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques à partir des poudres des plantes sélectionnées (*E. alata* et *A. articulata*). La plupart des extractions réalisées sur différentes plantes dans les études antérieures ont été effectuées sur des échantillons séchés. Cependant, très peu d'études ont rapporté des données sur les

échantillons frais. De ce fait, nous avons d'abord travaillé sur des échantillons séchés, ensuite nous avons testé les différentes conditions d'extraction sur les échantillons frais.

La préparation des extraits phénoliques à partir des feuilles des plantes étudiées a été effectuée selon la méthode décrite par Oussaid *et al.* (2017) avec quelques modifications. Le principe de l'extraction est basé sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques en utilisant trois solvants de différentes polarités : éthanol, acétone et eau distillée, par macération à température ambiante, pendant 1 heure, 3 heures et 3 heures par épuisement (3 X 1h).

#### **II.3.1.1. Choix de la durée d'extraction**

Des séries d'extractions ont été réalisées pour déterminer la meilleure durée d'extraction de chacun des échantillons frais ou séchés des plantes étudiées. 1 g de poudre a été macéré dans 20 mL de deux solvants organiques (éthanol ou acétone) et de l'eau distillée. Les échantillons ont été placés sous agitation à des temps différents : 1h, 3h et 3 X 1h sous température ambiante. Après filtration et centrifugation pendant 20 minutes à 4000 tours/min, le surnageant a été récupéré et conservé pour les analyses ultérieures. Toutes les extractions ont été faites en trois répétitions. Le meilleur temps d'extraction a été choisi en fonction de la teneur la plus élevée en composés phénoliques.

#### **II.3.1.2. Choix du solvant d'extraction**

Après l'optimisation de la durée d'extraction pour chacun des échantillons, des séries d'extractions ont été réalisées afin de déterminer le meilleur solvant d'extraction. Une quantité de 1 g de poudre a été macérée dans 20 mL de chacun des solvants (éthanol, acétone et eau distillée) ou de leur mélange à différents rapports (Annexe 2) pendant 3h à température ambiante. Les préparations ont été filtrées puis centrifugées pendant 20 min à 4000 tours/min. Toutes les extractions ont été faites en trois répétitions et le meilleur solvant a été choisi en fonction de la valeur la plus élevée en composés phénoliques.

### **II.3.2. Détermination des teneurs totales des polyphénols (TTP)**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon une méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FC). Son principe consiste à déterminer la concentration

totale de groupement hydroxyle présent dans l'extrait (Ali Rachedi, 2018). Le test FC repose sur le transfert d'électrons en milieu alcalin à partir des composés phénoliques vers des complexes d'acide phosphomolybdique et de phosphotungstique, déterminés par spectrophotométrie (Ainsworth et Gillespie., 2007).

Le protocole appliqué est celui décrit par Georgea *et al.* (2005) avec quelques modifications. 1mL du FC (dilué dix fois avec de l'eau distillée) est mélangé avec 100µL d'extrait. Après 5min, 1mL de bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ) à 7.5% sont ajoutées au mélange et les préparations ont été incubées au bain marie à 50° C pendant 15 min, l'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique comme standard et les valeurs exprimées en mg équivalent d'acide gallique/ g de matière sèche (mg EAG/g MS), (Annexe 3).

### II.3.3. Détermination des teneurs totales en flavonoïdes (TTF)

La teneur en flavonoïdes des extraits issus des différentes combinaisons de solvants a été déterminée par la méthode de Bahorun *et al.* (1996) avec quelques modifications. Cette méthode est basée sur la formation de complexe jaunâtre entre le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et les composés phénoliques par chélation de l'ion  $\text{Al}^{3+}$ .

Un volume de 1mL d'extrait dilué a été mélangé avec 1mL de Chlorure d'Aluminium à 2%. Après homogénéisation, les préparations ont été incubées à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 minutes. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 415nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Les concentrations en flavonoïdes ont été calculées en utilisant une courbe d'étalonnage préparée avec de la quercétine comme standard et les résultats ont été exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS), (Annexe 4).

### II.4. Préparation des extraits optimisés

Après la sélection de la meilleure durée de macération et du meilleur solvant extracteur par le logiciel JMP qui nous a permis d'avoir les pourcentages des mélanges de solvants optimisés à partir des différentes combinaisons, une extraction finale a été réalisée pour l'obtention des extraits les plus riches en composés phénoliques dans les mêmes conditions

précédant décrite. L'extrait brut obtenu soumis au dosage des polyphénols et des flavonoïdes ainsi que des activités biologiques (antioxydante et anti-inflammatoire).

## **II.5. Caractérisation des extraits optimisés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)**

La chromatographie est une technique biophysique importante qui permet la séparation, l'identification et la purification des composants d'un mélange pour des analyses qualitatives et quantitatives. La chromatographie en phase liquide à haute performance ou HPLC est une technique de chromatographie qui permet la purification et l'analyse structurale de nombreuses molécules en peu de temps (Ozlem, 2016).

Le contenu en composés phénoliques des extraits optimisés S1 (*A. articulata* séchée), S2(*A. articulata* fraîche), S3 (*E. alata* séchée) et S4 (*E. alata* fraîche) a été identifié par HPLC au laboratoire de chimie analytique à la faculté de médecine par Dr M. Mamou. Une élution en gradient a été utilisée avec 5 standards à savoir l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide coumarique, la quercitine et l'acide cinnamique.

- **Conditions chromatographiques**

L'analyse a été effectuée sur une colonne puerospher C18 de longueur de 250 mm avec un diamètre interne de 4.6 mm. La phase stationnaire est constituée d'un gel de silice et la phase mobile est un mélange de solution aqueuse d'acide formique (A) et d'acétonitrile (B) en mode gradient. Le débit de solvant était de 1mL/min. Le volume d'injection était de 10 µL à 30°C. L'absorbance a été lu à 280 nm. Le programme de gradient est présenté dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Programme de gradient.

Temps	Phase A	Phase B
0 – 4 min	96 %	4 %
4 – 40 min	96 - 0 %	4 – 100 %
40 – 45 min	0 %	100 %
45 – 55 min	0 – 96 %	100 – 4 %

## II.6. Evaluation de l'activité antioxydante

La mesure de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux, acétonique, éthanolique et des optimums des plantes d'*E. alata* et d'*A. articulata* a été effectuée par le test DPPH qui est un radical libre de couleur violet capable d'être réduit par les antioxydants en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons Talbi *et al.* (2015).

L'Activité antiradicalaire des extraits phénoliques d'*E. alata* (fraîche et séchée) a été déterminé avec le protocole décrit par Talbi *et al.* (2015). Des dilutions sérielles des différents extraits ont été préparées. Un volume de 100µL d'extrait de chacune des concentrations a été ajouté à 1500 µL de la solution DPPH. Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 100 µL de méthanol avec 1500 µL de la solution méthanolique du DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV.

Le pouvoir antiradicalaire des extraits phénoliques d'*A. articulata* (fraîche et séchée) a été déterminé selon le protocole décrit par Shirwaikar *et al.* (2006). Des dilutions sérielles des différents extraits ont été préparées. 1mL d'extrait de chacune des concentrations a été ajouté à 1mL de la solution DPPH (préparée dans du méthanol). Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1mL de méthanol avec 1mL de la solution méthanolique du DPPH. Après 20 minutes d'incubation au bain marie à 37° C, l'absorbance a été mesurée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant standard.

Le pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est déterminé par la formule suivante :

$$\text{PI du radical DPPH} = [(A1 - A2) / A2] \times 100$$

Avec : **A1** : Absorbance du contrôle ; **A2** : Absorbance Echantillon.

L'IC<sub>50</sub> « Inhibitory Concentration 50% » permet de déterminer la concentration nécessaire de l'échantillon testé à réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée graphiquement par une courbe de régression linéaire de pourcentage de réduction en fonction de la concentration des extraits.

## II.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits optimisés a été évaluée par la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines selon le protocole de Gunathilake *et al.* (2018) avec quelques modifications.

Un mélange réactionnel de 5 mL a été préparé avec 20 µL de chacune des concentrations des extraits (50, 200, 400 et 500 µg/mL), 0.2 mL de la solution aqueuse de la BSA 1% (Bovine Serum Albumine) et 4.78 mL PBS 1X (phosphate-buffered saline). Après incubation au bain marie à 37° C pendant 15 minutes suivie du chauffage à 70° C pendant 5 minutes, l'absorbance a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. Une solution standard a été préparée avec de l'acide acétylsalicylique dans les mêmes conditions.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique (PIDT) de la BSA a été exprimé par la formule suivante :  $\text{PIDT} = 100 \times (1 - A2 / A1)$ .

Avec : **A1** : Absorbance de l'échantillon contrôle ; **A2** : Absorbance l'échantillon à tester.

## II.8. Analyse statistique

La concentration moyenne des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux a été exprimée sur la base de trois mesures ± EC. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica 1984-2005. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par l'analyse des variances (ANOVA) et le test de Student. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0.05 ( $p < 0,05$ ).

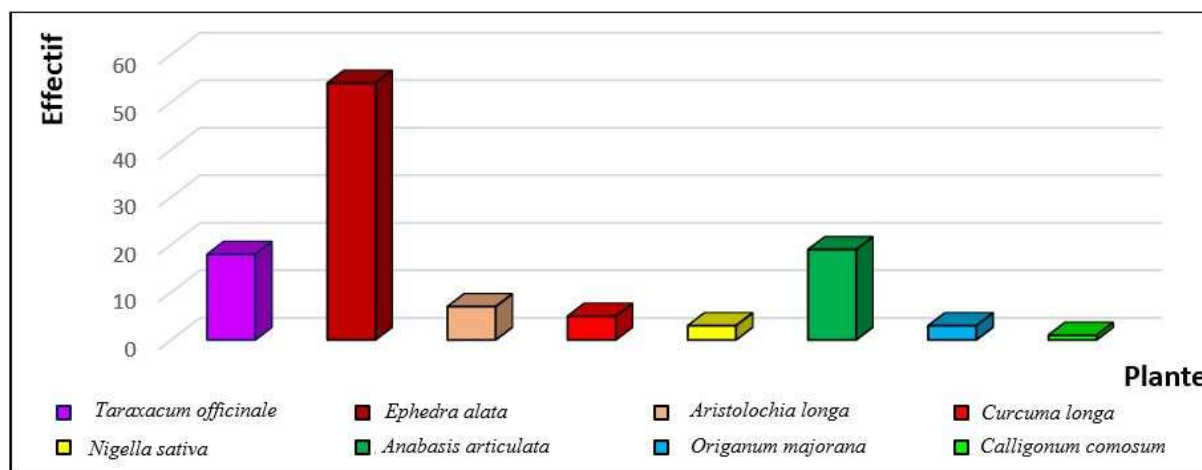
## **TROISIÈME PARTIE**

### **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. Enquête ethnobotanique

Le choix des plantes est dicté par les données obtenues suite à l'analyse des questionnaires sur les plantes médicinales utilisées pour le traitement du cancer.

Les résultats de cette enquête menée sur un panel de 100 individus, ont montré que 8 plantes sont utilisées pour le traitement du cancer par les populations de Tizi-Ouzou, de Hassi Messaoud et d'Oued-Souf (Figure 4). La partie aérienne tiges et feuilles, est la partie la plus fréquemment utilisée et la décoction est le mode de préparation principal.



**Figure 4.** Frequence des plantes utilisées pour le traitement du cancer par les populations de Tizi-Ouzou, de Hassi Messaoud et de Oued-Souf.

Les plantes les plus utilisées sont *Ephedra alata* et *Anabasis articulata*. *E. alata* est citée 54 fois dont 13 fois par les habitants de Tizi-Ouzou avec 10 herboristes âgés de 28 à 65 ans et 3 patients âgés de 40 à 50 ans. Alors qu'elle est citée 41 fois à Oued-Souf et à Hassi Messaoud dont 2 herboristes âgés de 40 à 60 ans, 10 autres personnes âgées de 28 à 66 ans et 29 patients âgés de 40 à 60 ans. *A. articulata* est citée 19 fois à Oued-Souf et à Hassi Messaoud avec 2 herboristes âgés de 40 à 60 ans et 17 autres personnes âgées de 30 à 50 ans.

Il a été rapporté qu'*E. alata* est utilisée pour traiter le cancer du sein (Jaradat *et al.*, 2016). D'après Ghembaza *et al.* (2016) ; Kambouche *et al.* (2009), *A. articulata* est utilisée pour le traitement de cancer, mais aucune preuve expérimentale n'a été démontrée sur leurs activité antiproliférative.

### III.2. Optimisation de l'extraction des composés phénoliques

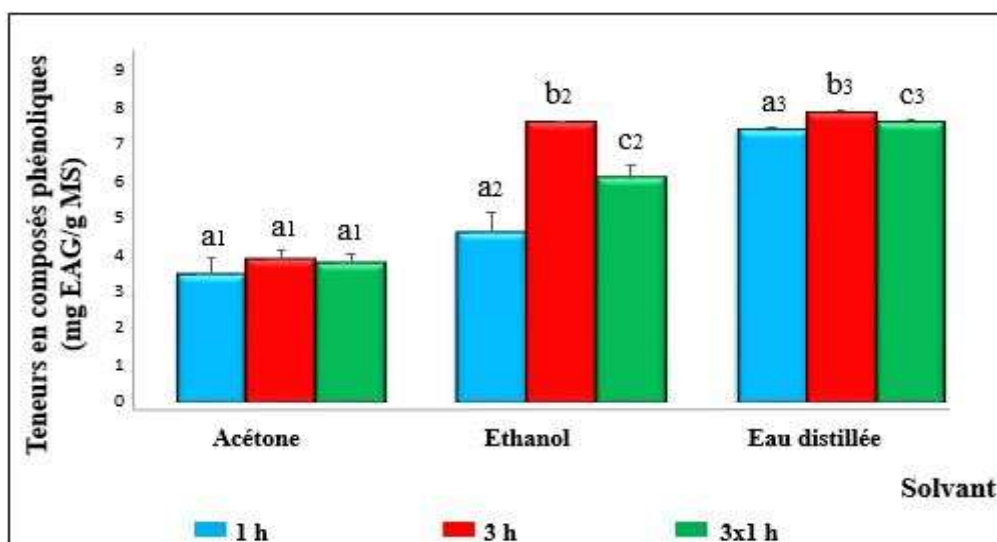
Dans le but d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques des feuilles des plantes étudiées, deux paramètres ont été étudiés : le temps et la nature du solvant d'extraction.

#### III.2.1. Choix de la durée d'extraction

Afin de déterminer la meilleure durée d'extraction des composés phénoliques des plantes étudiées, une macération par solvants organiques (acétone, éthanol) et par l'eau distillée a été effectuée pendant 1h, 3h ou 3h par épuisement (renouvellement de solvant chaque une heure).

##### III.2.1.1. *Ephedra alata* séchée

Les résultats de l'influence de la durée de l'extraction sur les teneurs en composés phénoliques des extraits d'*E. alata* séchée sont représentés dans la figure 5.



**Figure 5.** Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénolique des extraits d'*Ephedra alata* séchée.

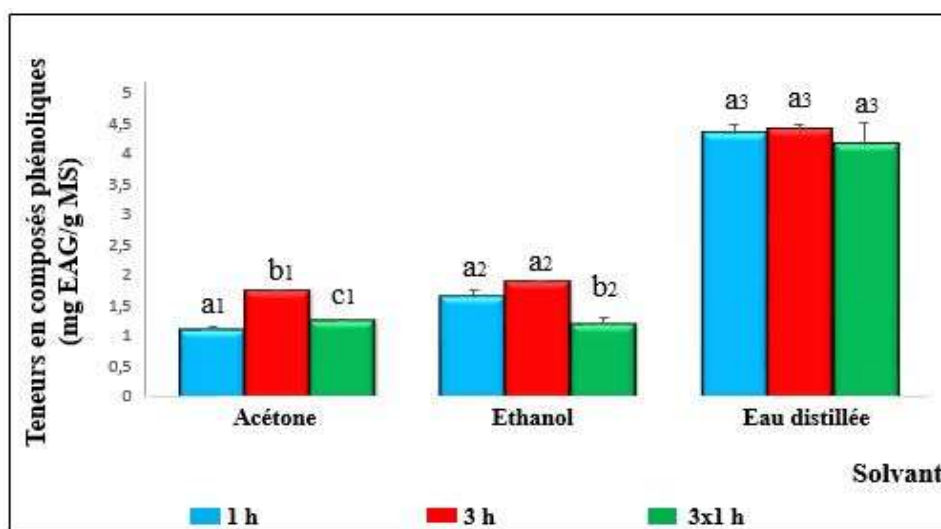
Comme est indiqué dans la figure 5, la durée d'extraction affecte d'une manière significative ( $p < 0,05$ ) les TTP des extraits obtenus. La comparaison des résultats obtenus pour les extraits phénoliques d'*E. alata* séchée nous a permis de déduire que la meilleure durée d'extraction était celle de 3h. L'extrait aqueux est le plus riche ( $p < 0,05$ ) avec une

concentration de  $7,89 \pm 0,05$  mg EAG/g MS, suivi de l'extrait éthanolique de  $7,62 \pm 0$  mg EAG/g MS puis de l'extrait acétonique de  $3,94 \pm 0,18$  mg EAG/g MS.

Les résultats de l'étude menée par Al-Rimawi *et al.* (2017) montrent que les teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux (30,9 mg EAG/g MS) et éthanolique (40,9 mg EAG/g MS) sont plus élevées que ceux obtenus dans la présente étude. Cette différence pourrait être due aux conditions d'extraction, notamment le ratio poudre/ solvant. En effet, ils ont macéré une grande quantité de poudre (310 g) alors que dans notre étude nous avons macéré seulement 1g.

### III.2.1.2. *Ephedra alata* fraîche

L'influence de la durée de l'extraction sur les teneurs totales en composés phénoliques des extraits d'*E. alata* fraîche sont démontrés dans la figure 6.

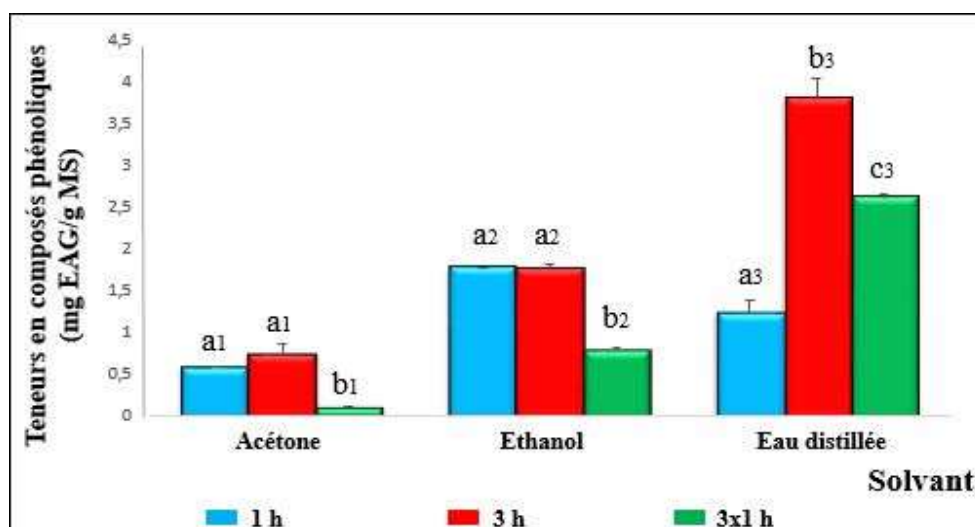


**Figure 6.** Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénolique des extraits d'*Ephedra alata* fraîche.

La durée d'extraction a un effet significatif ( $p < 0,05$ ) sur les TTP des extraits bruts obtenus. Cependant, quel que soit le solvant utilisé, la meilleure teneur en polyphénols extraite est obtenue après 3h de macération, qui est de  $1,76 \pm 0$  ;  $1,92 \pm 0,008$  et  $4,4 \pm 0,09$  mg EAG/g MS avec l'acétone, l'éthanol et l'eau distillée respectivement.

### III.2.1.3. *Anabasis articulata* séchée

L'effet de la durée d'extraction sur le contenu phénolique total des extraits bruts d'*A. articulata* séchée est montré dans la figure 7.

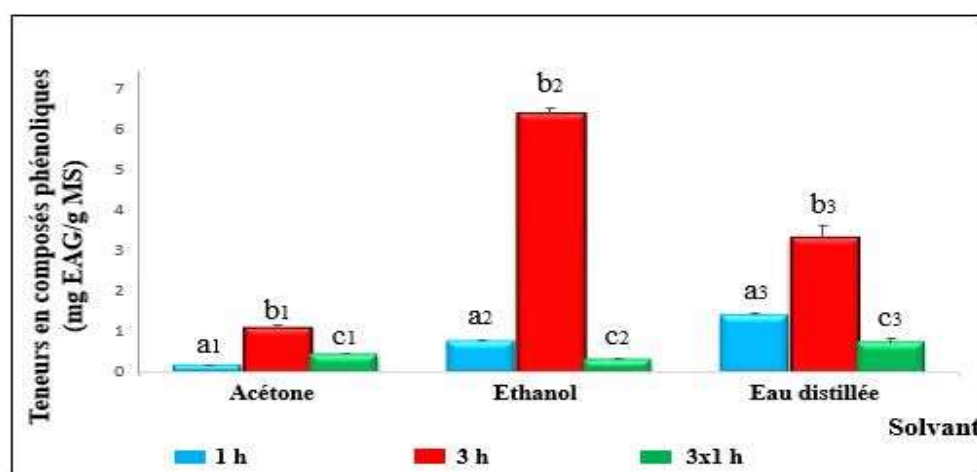


**Figure 7.** Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénolique des extraits d'*Anabasis articulata* séchée.

Il ressort de la figure 7 que la durée d'extraction affecte significativement ( $p < 0,05$ ) les TTP des extraits bruts obtenus et le meilleur taux en polyphénols a été enregistré après 3h de macération. L'extrait aqueux a le taux le plus élevé de TTP ( $3,79 \pm 0,25$  mg EAG/g MS), suivi de l'extrait éthanolique ( $1,78 \pm 0,04$  mg EAG/g MS) puis de l'extrait acétonique ( $0,75 \pm 0,12$  mg EAG/g MS).

#### III.2.1.4. *Anabasis articulata* fraîche

Les résultats de dosage des polyphénols totaux des extraits d'*A. articulata* fraîche obtenus à différentes durée d'extraction sont présentés dans la figure 8.



**Figure 8.** Effet de la durée d'extraction sur les teneurs en composés phénolique des extraits d'*Anabasis articulata* fraîche.

Il apparaît dans la figure 8 que les TTP présentent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) dans les différentes durées de macération. Dans les extraits acétonique, éthanolique et aqueux, les concentrations les plus élevées de  $1,14 \pm 0,02$ ,  $6,35 \pm 0,16$  et  $3,34 \pm 0,26$  mg EAG/g MS respectivement, ont été obtenues après 3h de macération.

A l'issue de ces résultats, nous constatons que la durée d'extraction affecte d'une manière significative ( $p < 0,05$ ) les teneurs totales en polyphénols extraites pour toutes les plantes étudiées. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté que la prolongation du temps d'extraction des composés phénoliques augmente leur rendement (Drużyńska *et al.*, 2007 ; Durling *et al.*, 2007).

### III.2.2 Choix du solvant d'extraction

#### III.2.2.1. Effet du type de solvant sur les teneurs en composés phénoliques totales (TTP) et sur les teneurs en flavonoïdes totales (TTF)

Dans le but de déterminer le meilleur solvant d'extraction, une extraction de 3h a été effectuée avec différents solvants : acétone, éthanol et eau distillée, chaque solvant est utilisé seul ou en combinaison. Nous observons dans les tableau 4 et 5 que le solvant d'extraction a un effet statistiquement significatif ( $p < 0,05$ ) sur les TTP et les TTF des extraits de différentes combinaisons de solvants d'extraction d'*Ephedra alata* et d'*Anabasis articulata* (plantes fraîche et séchée). Ces différences significatives sont indiquées par lettres minuscules (a, b, c, d, e, f, g, h).

##### III.2.2.1.1. *Ephedra alata*

Les résultats de l'effet de la nature de solvant d'extraction sur les TTP et TTF des différentes combinaisons d'*E. alata* séchée et fraîche sont rapportés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes d'*Ephedra alata* séchée et fraîche.

Combinaisons	<i>E. alata</i> séchée		<i>E. alata</i> fraîche	
	TTP mg EAG/g MS	TTF mg EQ/g MS	TTP mg EAG/g MS	TTF mg EQ/g MS
1: AC	17,8 ± 0,28 <sup>a</sup>	5,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	8,81 ± 0,11 <sup>a</sup>	4,74 ± 0,05 <sup>a</sup>
2 : Eth	19,29 ± 0 <sup>b</sup>	6,13 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,4 ± 0,31 <sup>b</sup>	2,97 ± 0,04 <sup>b</sup>
3 : ED	14,79 ± 0,36 <sup>c</sup>	1,15 ± 0,10 <sup>c</sup>	8,52 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,46 ± 0,04 <sup>c</sup>
4 : 1/2 Ac, 1/2 ED	17,94 ± 0,009 <sup>a</sup>	4,47 ± 0,08 <sup>d</sup>	8,5 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,77 ± 0 <sup>d</sup>
5 : 1/2 Ac, 1/2 Eth	17,15 ± 0,03 <sup>d e</sup>	5,67 ± 0,14 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,07 <sup>c</sup>	2,42 ± 0,07 <sup>e</sup>
6 : 1/2 Eth, 1/2 ED	16,46 ± 0,16 <sup>f</sup>	3,71 ± 0,03 <sup>e</sup>	10,55 ± 0,26 <sup>d</sup>	2,36 ± 0,07 <sup>e</sup>
7 : 1/3 Ac, 1/3 Eth, 1/3 ED	17,49 ± 0,04 <sup>a d</sup>	4,6 ± 0,02 <sup>d</sup>	10,51 ± 0,10 <sup>d</sup>	3,001 ± 0,001 <sup>b</sup>
8 : 4/6 Ac, 1/6 Eth1/6 ED	17,86 ± 0,009 <sup>a</sup>	4,78 ± 0,004 <sup>f</sup>	10,63 ± 0,27 <sup>d</sup>	4,62 ± 0,04 <sup>f</sup>
9 : 1/6 Ac, 1/6 Eth, 4/6 ED	17,58 ± 0,03 <sup>a d</sup>	3,13 ± 0,05 <sup>g</sup>	18,006 ± 0,02 <sup>e</sup>	5,007 ± 0,002 <sup>g</sup>
10 : 1/6Ac, 4/6Eth, 1/6 ED	17,03 ± 0 <sup>e</sup>	4,94 ± 0,01 <sup>h</sup>	16,13 ± 0,12 <sup>f</sup>	5,82 ± 0,05 <sup>h</sup>

Les résultats de l'optimisation du meilleur solvant d'extraction d'*E. alata* séchée indiquent que les teneurs totales les plus élevées en polyphénols (19,29 ± 0 mg EAG/g MS) et en flavonoïdes (6,13 ± 0,02 mg EQ/g MS) sont obtenues par l'éthanol pur (Eth), celles-ci représentent une différence significative ( $p < 0,05$ ) par rapport aux autres combinaisons. Alors que les plus faibles TTP (14,79 ± 0,36 mg EAG/g MS) et TTF (1,15 ± 0,10 mg EQ/g MS) sont obtenues avec l'eau distillée (ED). En effet, Ces différences de teneurs pourraient être attribuées aux caractéristiques chimiques et au degré de solubilisation des composés phénoliques. De plus,

la polarité du solvant d'extraction pourrait, également, jouer un rôle prépondérant (Al-Rimawi *et al.*, 2017).

La teneur totale en polyphénols d'*Ephedra alata* séchée de la présente étude, obtenue par l'extraction à l'éthanol, est beaucoup plus intéressante que celle d'*Ephedra altissima*, *Ephedra fragilis* et *Ephedra foeminea*, obtenue par un mélange de solvants (méthanol, eau distillée et acide acétique), dont les TTP sont respectivement  $16,4 \pm 0,1$  ;  $7,7 \pm 0,1$  et  $6,8 \pm 0,4$  mg EAG/g MS (Ibragic et Sofić, 2015). La comparaison des TTF d'*Ephedra alata* de la présente étude avec celle des autres pays a révélé que l'*Ephedra* d'Algérie est plus riche en terme de teneurs en flavonoïdes. En effet, les résultats rapportés par Harisaranraj *et al.* (2009), montrent que les teneurs totales en flavonoïdes d'*Ephedra vulgaris* de l'Inde, possède des teneurs inférieurs ( $1,48 \pm 0,20$  mg/100 g).

Les teneurs totales les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes d'*E. alata* fraîche, sont obtenues par la combinaison 9 (1/6 AC, 1/6 Eth, 4/6 ED) avec une concentration de  $18,006 \pm 0,02$  mg EAG/g MS et la combinaison 10 (1/6 Ac, 4/6 Eth, 1/6 ED) avec  $5,82 \pm 0,05$  mg EQ/g MS respectivement, et sont significativement supérieure par rapport aux autres combinaisons ( $p < 0,05$ ). Tandis que les plus faibles teneurs en polyphénols ( $2,4 \pm 0,11$  mg EAG/g MS) et en flavonoïdes ( $1,46 \pm 0,04$  mg EQ/g MS) sont observées avec l'éthanol (Eth) et l'eau distillée (ED) respectivement. En effet, nous constatons qu'il serait intéressant d'utiliser un mélange de solvants pour aboutir à de meilleures teneurs en composés phénoliques (Mohammedi et Atik, 2011), et cela pourrait être expliqué par l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les solvants mixtes par rapport aux solvants purs (Trabelsi *et al.*, 2010).

#### III.2.2.1.2. *Anabasis articulata*

Les résultats de l'influence de la nature du solvant extracteur sur les TTP et TTF des extraits bruts d'*Anabasis articulata* séchée et fraîche sont montrés dans le tableau 5.

**Tableau 5.** Teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes d'*A. articulata* séchée et fraîche.

Combinaisons	<i>A. articulata</i> séchée		<i>A. articulata</i> fraîche	
	TTP mg EAG/g MS	TTF mg EQ/g MS	TTP mg EAG/g MS	TTF mg EQ/g MS
1: AC	1,28 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,004 <sup>a</sup>	1,36 ± 0 <sup>a</sup>	0
2 : Eth	1,97 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,14 ± 0 <sup>b</sup>	0,09 ± 0,02 <sup>a</sup>
3 : ED	3,53 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,03 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,58 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,55 ± 0,06 <sup>b</sup>
4 : 1/2 Ac, 1/2 ED	3,78 ± 0,08 <sup>d</sup>	0,74 ± 0,01 <sup>d</sup>	3,09 ± 0,04 <sup>d</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>c</sup>
5 : 1/2 Ac, 1/2 Eth	1,81 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,75 ± 0,008 <sup>d</sup>	3,39 ± 0,05 <sup>e</sup>	0,36 ± 0,03 <sup>d</sup>
6 : 1/2 Eth, 1/2 ED	0,82 ± 0,05 <sup>e</sup>	0,38 ± 0,01 <sup>e</sup>	5,12 ± 0,02 <sup>f</sup>	0,10 ± 0,004 <sup>e</sup>
7 : 1/3 Ac, 1/3 Eth, 1/3 ED	4,85 ± 0,10 <sup>f</sup>	0,59 ± 0,004 <sup>a</sup>	2,11 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,02 <sup>f</sup>
8 : 4/6 Ac, 1/6 Eth, 1/6 ED	4,5 ± 0,09 <sup>g</sup>	0,79 ± 0,008 <sup>f</sup>	2,78 ± 0,07 <sup>g</sup>	0,69 ± 0,006 <sup>f</sup>
9 : 1/6 Ac, 1/6 Eth, 4/6 ED	3,71 ± 0,02 <sup>c,d</sup>	0,39 ± 0,01 <sup>e</sup>	1,9 ± 0,05 <sup>h</sup>	0
10 : 1/6Ac, 4/6Eth, 1/6 ED	3,52 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,91 ± 0,02 <sup>g</sup>	2,22 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,01 <sup>g</sup>

Les résultats de l'optimisation du meilleur solvant d'extraction d'*A. articulata* séchée indiquent que la combinaison 7 (1/3AC, 1/3 Eth, 1/3 ED) produit la concentration la plus élevée en composés phénoliques (4,85 ± 0,10 mg EAG/g MS) avec une différence significative ( $p < 0,05$ ) par rapport aux autres combinaisons. Tandis que la concentration la plus faible (0,82 ± 0,05 mg EAG/g MS) est obtenue dans la combinaison 6 (1/2 Eth, 1/2ED). Ces résultats suggèrent que l'utilisation des mélanges de solvants aboutit à un fort enrichissement des extraits en composés phénoliques (Mouhammedi et Atilk, 2011). La teneur la plus élevée en flavonoïdes (1,03 ± 0,03 mg EQ/g MS) est observée avec l'eau distillée (ED), avec une

différence significative ( $p < 0,05$ ) par rapport aux autres combinaisons. Par ailleurs, la plus faible teneur ( $0,18 \pm 0,01$  mg EQ/g MS) est observée avec l'éthanol (Eth), ce qui suggère que l'eau distillée (solvant fortement polaire) solubilisent mieux les flavonoïdes d'*A. articulata* du fait de leur caractère hydrophile (Bonnaillie *et al.*, 2012).

Dans *Anabasis articulata* fraîche, la combinaison 6 (1/2 Eth, 1/2 ED) permet d'extraire la concentration la plus élevée en composés phénoliques ( $5,12 \pm 0,02$  mg EAG/g MS) avec une différence significative ( $p < 0,05$ ) par rapport aux autres combinaisons. Tandis que la plus faible concentration ( $1,19 \pm 0,05$  mg EAG/g MS) est observée dans la combinaison 9 (1/6 Ac, 1/6 Eth, 4/6 ED). Ces résultats indiquent que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux d'*A. articulata* à l'état frais. En effet, l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols, par modulation de la polarité du solvant organique (Mahmoudi *et al.*, 2013). Par ailleurs, la combinaison 10 (1/6 Ac, 4/6 Eth, 1/6 ED) permet d'obtenir la teneur la plus élevée en flavonoïdes ( $1,505 \pm 0,002$  mg EQ/g MS) avec une différence significative ( $p < 0,05$ ) par rapport aux autres combinaisons. Cependant, l'acétone pur et la combinaison 9 (1/6 Ac, 1/6 Eth, 4/6 ED) donnent des valeurs très faibles en terme de teneur en flavonoïdes mais peuvent refléter des teneurs réelles. En effet, l'acétone est un solvant qui a l'avantage de précipiter les protéines et les glucides.

### III.3. Estimation quantitative des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux des optimums

Les résultats des TTP et des TTF des meilleurs extraits des feuilles d'*E. alata* et d'*A. articulata* (plantes fraîches et séchées) sont présentés dans le tableau 6.

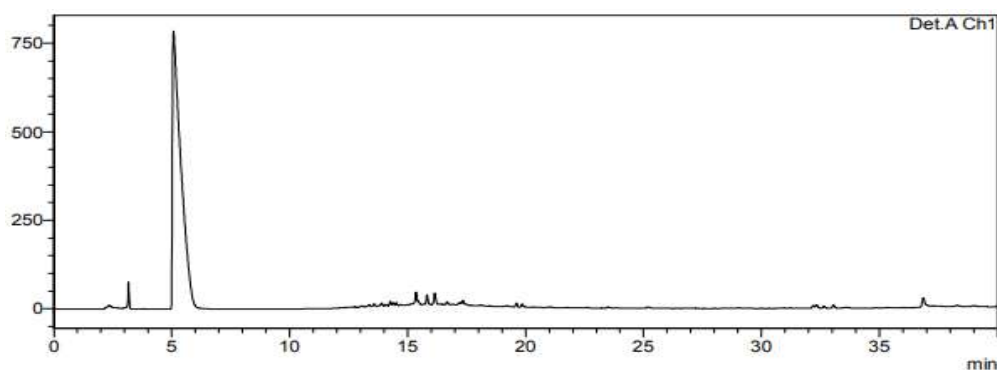
**Tableau 6.** Teneurs totales en polyphénols (TTP) et teneurs totales en flavonoïdes (TTF) des extraits optimisés d'*Ephedra alata* et d'*Anabasis articulata*.

Plantes	Optimums	TTP mg EAG/g MS	TTF mg EQ/g MS
<i>A. articulata</i> séchée	S1 (36% ED + 26% Eth + 38% Ac)	5,87 ± 0,20	1,62 ± 0,05
<i>A. articulata</i> fraîche	S2 (48% ED + 52% Eth)	4,84 ± 0,67	0,26 ± 0,09
<i>E. alata</i> séchée	S3 (100% Eth)	19,07 ± 0,38	5,79 ± 0,05
<i>E. alata</i> fraîche	S4 (43% ED + 33% Eth + 24% Ac)	20,01 ± 0,18	2,66 ± 0,09

L'optimisation des conditions d'extraction (temps et solvant d'extraction), nous a permis d'aboutir à des teneurs les plus élevées en composés phénoliques et en flavonoïdes.

#### III.4. Identification des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'identification et la quantification des composés phénoliques présents dans les extraits optimisés (S1 d'*A. articulata* séchée, S2 d'*A. articulata* fraîche, S3 d'*E. alata* séchée et S4 d'*E. alata* fraîche), ont été effectués en utilisant l'HPLC. Les profils chromatographiques des extraits S1, S2, S3 et S4 sont illustrés dans les figures 9, 10, 11 et 12 respectivement. Le tableau 7 présente les composés phénoliques identifiés et leurs concentrations dans ces extraits.



**Figure 9.** Chromatogramme de l'extrait optimisé S1 d'*Anabasis articulata* séchée.

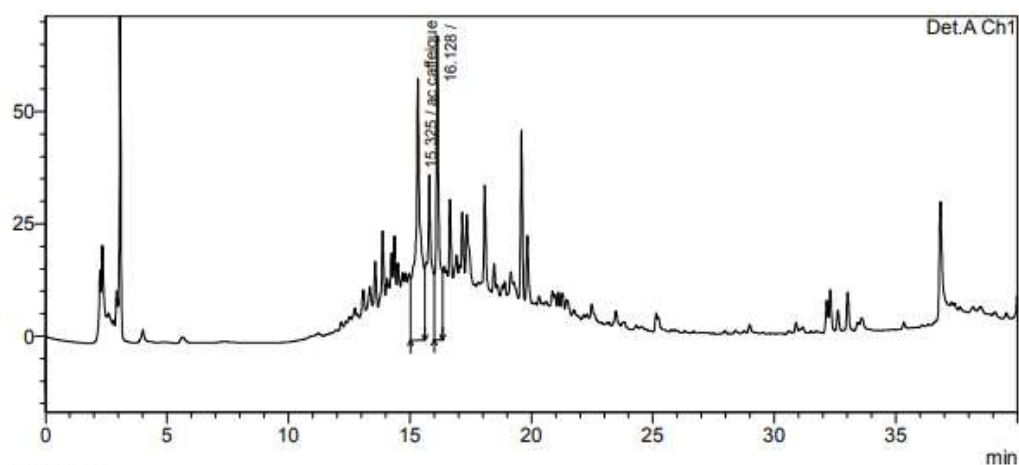


Figure 10. Chromatogramme de l'extrait optimisé S2 d'*Anabasis articulata* fraîche.

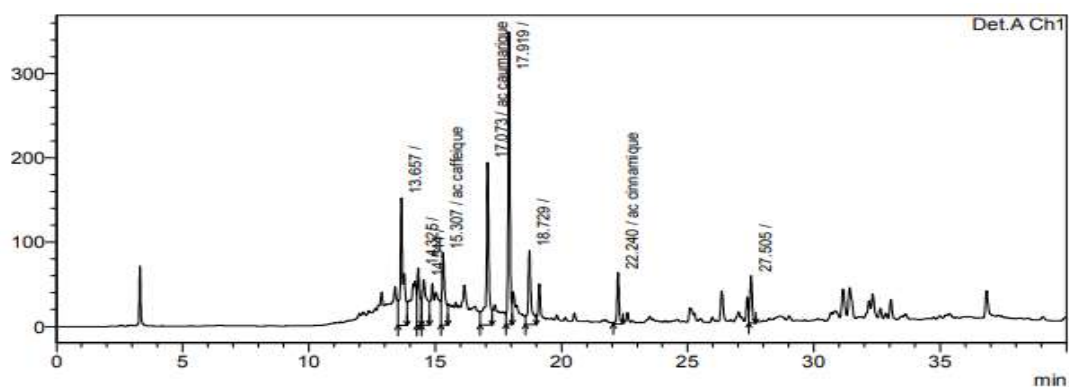


Figure 11. Chromatogramme de l'extrait optimisé S3 d'*Ephedra alata* séchée.

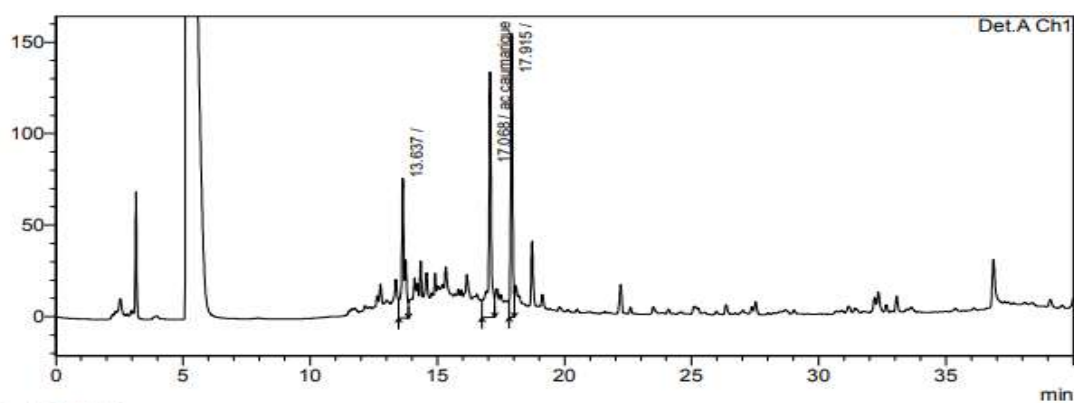


Figure 12. Chromatogramme de l'extrait optimisé S4 d'*Ephedra alata* fraîche.

**Tableau 7.** Les molécules de composés phénoliques et leurs concentrations dans les extraits S1, S2, S3 et S4.

Composés phénolique (standard)	Plantes <i>A. articulata</i>		Plantes d' <i>E. alata</i>	
	Extrait de l'optimum S1	Extrait de l'optimum S2	Extrait de l'optimum S3	Extrait de l'optimum S4
<b>Acide gallique</b>	-	-	-	-
<b>Acide caféique</b>	-	0,07 mg/mL	0,06 mg/mL	-
<b>Acide coumarique</b>	-	-	0,07 mg/mL	0,04 mg/mL
<b>Quercitine</b>	-	-	-	-
<b>Acide cinnamique</b>	-	-	0,013mg/mL	-

La figure 9, représente le profil chromatographique de l'optimum d'*A. articulata* séchée, un pic important a été détecté après 5 min d'injection, ceci ne correspond à aucun des standards utilisés. Dans l'extrait de la plante d'*A. articulata* fraîche (figure 10), un seul pic a été détecté après 15min d'injection et qui correspond à l'acide caféique avec une concentration de 0,07 mg/mL (tableau 7). Les molécules détectées dans le profil chromatographique de l'optimum d'*E. alata* séchée (figure 11) sont l'acide coumarique, l'acide cinnamique et l'acide caféique, qui ont été détecté après 17,073 ; 15,307 et 22,24 min d'injection, avec des concentrations de 0,07 ; 0,06 et 0,013 mg/mL (tableau 7) respectivement. Le profil chromatographique de l'optimum d'*E. alata* fraîche est représenté dans la figure 12, et comme est indiqué dans cette figure, l'acide coumarique a été détecté après 17,068 min d'injection avec une concentration de 0,04 mg/mL (tableau 7).

D'une manière intéressante, les molécules identifiées (acide cinnamique, caféique, et coumarique) possèdent des propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et antiproliférative remarquables (Marzena *et al.*, 2017 Fazleen *et al.*, 2018 ; Kheiry *et al.*, 2019).

### III.5. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques des extraits acétonique, éthanolique, aqueux et des optimums des plantes étudiées a été déterminé avec le test au DPPH. L'IC<sub>50</sub> des extraits testés sont inversement proportionnelles au pouvoir antiradicalaire.

#### III.5.1. *Ephedra alata* séchée

Les résultats de l'activité antiradicalaire des extraits d'*E. alata* séchée sont rapportés dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits d'*Ephedra alata* séchée

<i>E. alata</i> séchée				
Extrait	Acétonique mg/mL	Ethanolique = Optimum mg/mL	Aqueux mg/mL	Acide ascorbique mg/mL
IC <sub>50</sub> (mg/mL)	1,093 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,55 ± 0,005 <sup>b</sup>	3,57 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,0005 <sup>a</sup>

Les résultats rapportés dans le tableau 6 révèlent que l'extrait éthanolique (optimum) d'*E. alata* séchée donne la valeur IC<sub>50</sub> la plus faible (0,55 ± 0,005 mg/mL) et donc une activité antioxydante la plus importante. L'étude statistique montre une absence de différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les IC<sub>50</sub> des extraits acétonique et éthanolique, alors qu'une différence significative ( $p < 0,05$ ) est enregistrée entre ces extraits et l'extrait aqueux, ces différences sont indiquées par les lettres minuscules (a, b, c). Ceci pourrait être dû à sa richesse en composés phénoliques (19,07 ± 0,38 mg EAG/g MS) notamment l'acide caféique, de l'acide coumarique et de l'acide cinnamique, qui possèdent un pouvoir antioxydant important. (Marzena *et al.*, 2017., Fazleen *et al.*, 2018., Kheiry *et al.*, 2019).

De plus, l'extrait éthanolique d'*E. alata* récoltée en Palestine étudié par Al-Rimawi *et al.*, (2017), a donné un pourcentage d'inhibition inférieur à celui enregistré dans l'extrait éthanolique obtenu dans la présente étude.

### III.5.2. *Ephedra alata* fraîche

Les résultats de l'activité antiradicalaire des différents extraits sont montrés dans le tableau 9.

**Tableau 9.** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits d'*Ephedra alata* fraîche.

<i>E. alata</i> fraîche					
Extrait	Acétonique mg/mL	Ethanolique mg/mL	Aqueux mg/mL	Optimum mg/mL	Acide ascorbique mg/mL
IC <sub>50</sub> (mg/mL)	2,02 ± 0,97 <sup>a c</sup>	0,96 ± 0,07 <sup>a c</sup>	6,27 ± 0,29 <sup>b</sup>	0,30 ± 0,002 <sup>ac</sup>	0,06 ± 0,0005 <sup>c</sup>

D'après le tableau 9, l'optimum présente la valeur la plus faible en IC<sub>50</sub> de 0,30 ± 0,002 mg/mL et par conséquent une forte activité antiradicalaire, ce qui pourrait être expliqué par sa richesse en composés phénoliques (20,01 ± 0,18 mg EAG/g MS) notamment en acide coumarique. Néanmoins, le pouvoir antioxydant des extraits acétonique, éthanolique et de l'optimum sont identiques (p > 0,05) alors qu'ils présentent une différence significative avec l'extrait aqueux (p < 0,05), ces différences sont indiquées par les lettres minuscules (a, b, c).

### III.5.3. *Anabasis articulata* séchée

Les résultats de l'activité antiradicalaire des différents extraits d'*A. articulata* séchée sont rapportés dans le tableau 10.

**Tableau 10.** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits d'*Anabasis articulata* séchée.

<i>A. articulata</i> séchée					
Extrait	Acétonique mg/mL	Ethanolique mg/mL	Aqueux mg/mL	Optimum mg/mL	Acide ascorbique mg/mL
IC <sub>50</sub> (mg/mL)	0.22 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.46 ± 0.006 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.007 ± 0.00007 <sup>a</sup>

D'après les résultats du tableau 10, l'activité antiradicalaire la plus importante est observée dans l'extrait acétonique avec la plus faible valeur d'IC<sub>50</sub> de 0,22 ± 0,07 mg/mL, aucune différence significative n'est observée entre les extraits acétonique et de l'optimum

( $p > 0,05$ ) même observation entre les extraits éthanolique et aqueux, ces différences sont indiquées par les lettres minuscules (a, b).

L'extrait aqueux de la tige d'*A. articulata* séchée récolté à Baghdâd (Abdulsahib *et al.*, 2016) possède un pourcentage d'inhibition inférieur à celui enregistré dans la présente étude, cette différence pourrait être expliquée par l'utilisation de deux organes différents. De même, Hamdoon *et al.* (2013), ont montré que l'extrait éthanolique de la partie aérienne d'*A. articulata* séchée récoltée en Lybie inhibe le radical DPPH avec un pourcentage inférieur à celui trouvé dans la présente étude, cette différence est peut-être due aux conditions d'extraction et à la richesse en composés phénoliques de nos extraits. De ce fait, *A. articulata* d'Algérie est pourvu d'un important pouvoir antioxydant.

#### III.5.4. *Anabasis articulata* fraîche

Les résultats de l'activité antiradicalaire des différents extraits d'*A. articulata* fraîche sont représentés dans le tableau 11.

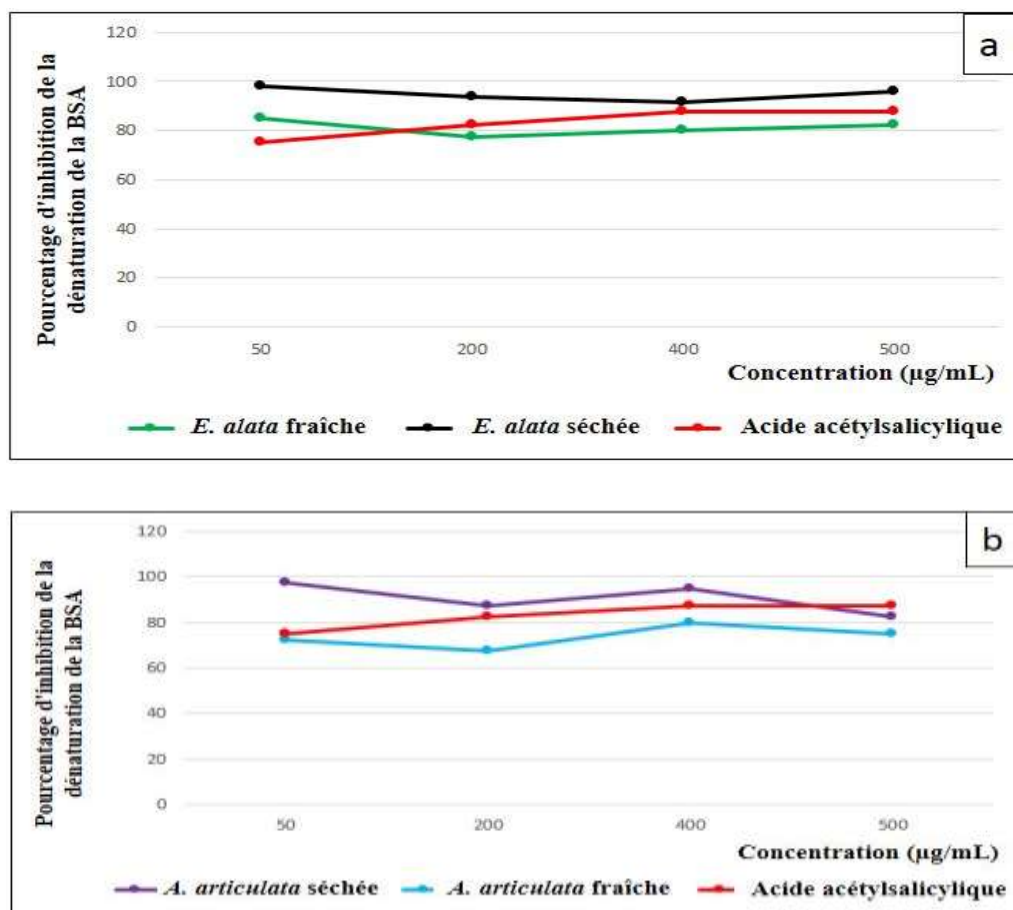
**Tableau 11.** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits d'*Anabasis articulata* fraîche.

<i>A. articulata</i> fraîche					
Extrait	Acétonique mg/mL	Ethanolique mg/mL	Aqueux mg/mL	Optimum mg/mL	Acide ascorbique mg/mL
IC <sub>50</sub> (mg/mL)	0.28 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.007 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.007 ± 0.00007 <sup>e</sup>

A la lumière des résultats rapportés dans le tableau 11, l'extrait aqueux possède une forte activité antiradicalaire avec un IC<sub>50</sub> le plus faible (0,16 mg/mL ± 0,004). L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ), ces différences sont indiquées par les lettres minuscules (a, b, c, d, e). Ce qui pourrait être dû à la richesse de cet extrait en flavonoïdes par rapport aux autres extraits.

### III.6 Activité anti-inflammatoire

Les résultats du test de l'activité anti-inflammatoire des extraits optimisés sont présentés dans la figure 13.



**Figure 13.** Effet des extraits optimisés d'*Ephedra alata* (a) et d'*Anabasis articulata* (b) sur l'inhibition de la dénaturation de la BSA.

Comme indique la figure 13a, le maximum d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA dans les extraits optimisés d'*E. alata* fraîche a atteint 85% à une concentration de 50 µg/mL. Cependant, dans *E. alata* séchée le maximum d'inhibition a été atteint à 97.82% à une concentration de 50 µg/mL. D'une manière intéressante, nous avons trouvé que le meilleur extrait *A. articulata* séchée a atteint son maximum d'inhibition à 97.5% à une concentration de 50 µg/mL, tandis que la plante fraîche présente un maximum d'inhibition de 80% à concentrations de 400 µg/mL (Figure 13b).

D'autre part, et d'une manière très intéressante, le pouvoir anti-inflammatoire d'*E. alata* et d'*A. articulata* est plus important que celui de l'acide acétylsalicylique (contrôle positif) qui possède un pourcentage d'inhibition de la dénaturation thermique de la BSA de 87.5%.

La richesse de ces plantes en flavonoïdes dotés de propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires serait à l'origine de ce potentiel anti-inflammatoire (Karthik et *al.*, 2013 ; Lafuente A et *al.*, 2009 ; Pan MH et *al.*, 2009).

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Les plantes médicinales sont une source majeure de substances naturelles bioactives qui sont exploitées dans le domaine médical et pharmaceutique par rapport à leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, antiproliférative, etc.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressé à l'étude phytochimique, à l'évaluation du potentiel antioxydant et anti-inflammatoire des feuilles des plantes sahariennes *Ephedra alata* et *Anabasis articulata* sélectionnées suite à l'étude ethnobotanique basée sur un questionnaire distribué auprès des populations de Tizi-Ouzou, de Hassi Messaoud et d'Oued-Souf.

L'optimisation des conditions de l'extraction des composés phénoliques des deux plantes a permis de déduire le meilleur temps d'extraction qui est de 3h. Cependant, le meilleur solvant d'extraction dépend aussi de l'état de la plante (frais ou séché) : un mélange de 43 % ED, 33% Eth et 24 % Ac pour *E. alata* fraîche, 100% Eth pour *E. alata* sèche, un mélange de 48 % ED et 52% Eth pour *A. articulata* fraîche et enfin un mélange de 36 % ED, de 26% Eth et de 38% Ac pour *A. articulata* séchée. Nous concluons que le protocole optimisé peut être appliqué sur un échantillon séché ou frais.

Par ailleurs, l'analyse chromatographique des extraits optimisés a révélé la présence de molécules bioactives (l'acide coumarique, l'acide cinnamique et l'acide caféique) connues pour leur importants potentiels antiradicalaire et anti-inflammatoire.

Les résultats obtenus renforcent notre hypothèse selon laquelle *E. alata* et *A. articulata* consommées par les populations de Tizi-Ouzou, de Hassi Messaoud et d'Oued-Souf pourraient avoir des pouvoirs antioxydant et anti-inflammatoire et s'avérer bénéfiques pour la santé notamment dans le traitement des maladies inflammatoires et en particulier le cancer.

En perspectives, il serait intéressant de compléter cette étude avec une analyse phytochimique plus approfondie, d'évaluer l'activité anti-inflammatoire avec d'autres tests et enfin d'examiner *in vitro* l'activité antiproliférative sur un modèle de cellules cancéreuses.

# **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- A -

- Abdallah, H. M., Abdel-Naim, A. B., Ashour, OM., Shehata, I. A., Abdel-Sattar, E. A., (2014). Anti-inflammatory activity of selected plants from Saudi Arabia.
- Abderrazak, M. et Joël, R., (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
- Abdulsahib, W. K., Abdulkareem, H. A., Ban Jumaa, Q., Hayder, B., Sahib., (2016). Antiangiogenesis and Antioxidant Effect of *Anabasis articulata* Stems Extracts. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 41(2), Article No. 20, Pages: 88-94.
- Ainsworth, E. A, Gillespie, K. M., (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nat Protoc ; 2(4):8757.
- Ali-Rachedi, F., Meranghni, S., Touaibia, N., M. Sabrina., (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. Maritima L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 87, articles, p. 13 -21.
- Al-Rimawi, F., Abbadi, J., Saleh-Lafi., Alamarneh, A. A., Sawahreh, R. A., Odeh, I., (2017). Analysis of phenolic and flavanoids of wild *Ephedra alata* plant extracts by LC/PDA and LC/MS their antioxydant activity. Afr J Tradit Complement Altern Med. 14(2):130-141.
- Al-Qarawi, A. A., Abd-Allah, E. F., Abeer, H., (2011). *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. African Journal of Microbiology Research Vol. 5(16), pp. 2297-2303.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., Trinajstić, N., (2003). Structure-Radical scavenging activity relationships of flavonoids. Croatica Chemica Acta CCACAA., 76 (1): 55-61.
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S, Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., Kumar, S. S., (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. Oxid Med Cell Longev.:5276130.

Azza, M. M., Mohga, S. A., Maha, Z. R., El-Sayed, M. E., Mahdy., Abdel-Razik, H. F., El-Sharabasy F. S., Hanan, F. A., Mohamed, R. M., (2014). Alleviation of Dimethylnitrosamine-Induced Liver Injury and Fibrosis by Supplementation of *Anabasis articulata* Extract in Rats. *Ind J Clin Biochem.* 29(4):418–429.

## - B -

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*, 46. (11), 1086-1089.

Benhammou, N., Ghambaza, N., Benabdelkader, S., Atik- Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T., (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabasis articulata*. *International Food Research Journal* 20 (5) : 2057-2063.

Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I., (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7, 35-45.

Bourkhiss, M., Hnsch, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., Satrani, B., (2010). Propriétés antioxydantes et anti- inflammatoire des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 79, p. 141 – 154.

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed* Techniques et documentations. Paris. P : 227-310-312-313-314.494.

## - C -

Crozier, A., Clifford, M. N., Ashihara, H., (2006). *Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.* ISBN-13: 978-1-4051-2509-3.

## - D -

Danciu, C., Muntean, D., Ersilia, A., Farcas, C., Oprean, C., Zupko, I., Bor, A., Minda, D., Proks, M., Buda, V., Hancianu, M., Cioanca, O., Soica, C., Popescu, S., Dehelean, C.A., (2018). *Phytochemical Characterization and Evaluation of the Antimicrobial,*

Antiproliferative and Pro-Apoptotic Potential of *Ephedra alata* Decne. Hydroalcoholic Extract against the MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Journal molecules*, V. 24 (1) : 13.

Defraigne, J.O., Pincemail, J., (2008). Stress antioxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège*; 63: Synthèse 2008: 10-19.

Drużyńska, B., Stępniewska, A., Wołosiak, R., (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 6(1), 27-36.

Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., Perry, N. B., (2007). Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. *Food Chemistry*, Vol. 101, Issue 4, P. 1417-1424.

## - F -

Favier, Alain, (2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ; mécanisme biochimique, p : 108-114.

Fazleen, I. A. B., Mohd Fadzelly, A. B., Norazlin, A., Susi, E., Rahmat, A., (2018). A Review of Malaysian Medicinal Plants with Potential Anti- Inflammatory Activity. *Advances in Pharmacological Sciences*, Article ID 8603602, 13 pages.

Feng-Lin, S., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L., Hua-Bin, Li., (2010). Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medicinal Plants. *Int J Mol Sci.*; 11(6): 2362–2372.

## - G -

Georgea, S., Brat, P., Alter, P., AMIOT, M. J., (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1370–1373.

Ghanem, P. D., Usama, I. A., El-Magly, P. D., (2008). Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal *Ephedra alata* Male plant. *J. Taibah. Univ. Med. Sci.* 3, 7–15.

Ghasemzadeh, A. and Ghasemzadeh, N., (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(31), pp. 6697-6703.

Ghembaza, N., Belyagoubi-Benhammou, N., Atik Bekkara, F., (2016). Separation and identification of bioactive compounds in *Anabasis articulata* (Forsk) Moq. Roots. Vol. 30, No. 7, 857-859.

Gunathilake, K. D. P. P. K. D. S., Ranaweera, H. P. V. Rupasinghe., (2018). Influence of Boiling, Steaming and Frying of Selected Leafy Vegetables on the in vitro Anti-inflammation Associated Biological Activities. *Plants (Basel)* v.7(1).

## - H -

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P., (2007). Le stress oxidant. *Rev Med Liege*; 62: 10: 628-638628.

Hamdoon, A. M., Alshalmani. S. K, Abdellatif, A. G., (2013). Antioxidant and Quantitative Estimation of Phenolic and Flavonoids of Three Halophytic Plants Growing in Libya. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (3): 8994.

Hamliche, V., Maiza, K., (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J Ethnopharmacol*, 105 (3).

Harisaranraj, R., Suresh, K., Saravanababu, S., (2009). Evaluation of the Chemical Composition *Rauwolfia serpentina* and *Ephedra vulgaris*. *Advances in Biological Research* 3 (5-6): 174-178.

## - I -

Ibragic, S., and Sofić, E., (2015). Chemical composition of various *Ephedra* species. *Bosn J Basic Med Sciv*.15(3).

## - J -

Jaradat, N. A., Shawahna, R., Eid, A. M., Al-Ramahi, R., Asma, M. K., Zaid, A. N., (2016). Herbal remedies use by breast cancer patients in the West Bank of Palestine. *J Ethnopharmacol*. 178 :1-8. Doi : 10.1016.

Jaradat, N. A., Al-Ramahi, R., Zaid, A. N., Ayesh, O. I., Eid, A. M., (2016). Ethnopharmacological survey of herbal remedies used for treatment of various types of cancer and their methods of preparations in the West Bank-Palestine. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 16:93.

**- K -**

Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A., Bellahouel, S., Bouayed, J., Dicko, A., Younos, C., Soulimani, R., (2009). Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Anabasis articulata* (Forssk) Moq (Chenopodiaceae), an Algerian medicinal plant. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (20), pp. 5589-5594.

Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A., Bellahouel, S., Younos, C., Soulimani, R., (2011). Activité antihyperglycémiant d'un stérol  $\beta$ -sitoglucoside isolé de la plante *Anabasis articulata* (Forssk) Moq. *Phytothérapie* 9: 2–6.

Kanti, B. P., and Syed, I. R., (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2:5, 270-278.

Karthik, K., Bharath, R. K. P., Venu, P. R., Sunil, K. K., Ranjith, S. B., Rathore., (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in- vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*. ISSN: 2321-5674(Print) ISSN: 2320 – 3471.

Khalfallah, A., Berrehal, D., Bensouici, C., Kabouche, A., Semra, Z., Voutquenne-Nazabadioko, L., Alabdul-Magid, A., Kabouche, Z., (2017). Flavonoids, cytotoxic, antioxidant and antibacterial activities of *Evax pygmaea*. *Pharm Biol.*; 55(1): 2292–2296.

Kheiry, M., Mahin, D., Badavi, M., Seyyed, A. M., Bayati, V., (2019). p-Coumaric Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation in Rats by Scavenging ROS Production: An *in vivo* and *in vitro* Study. *Inflammation*. pp 1–12.

Kittana, N., Abu-Rass, H., Sabra, R., Manasra, L., Hanany, H., Jaradat, N., Hussein, F., Zaid, A. Z., (2017). Topical aqueous extract of *Ephedra alata* can improve wound healing in an animal model. *Chinese Journal of Traumatology*. 20, 2, 108-113.

Koehler-Ramonatxo, C., (2006). Oxygen, oxidative stress and anti-oxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme* 20.165–177.

### - L -

Lafuente, G., Guillamón, A. E., Villares, A., Rostagno, M. A., Martínez, J. A., (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflamm Res.* 58(9) :537-52.

Li, C., Miao, X., Li, F., Kumar, B., Yucheng, A., Jian L., Rong, S., Cai, L., Liu, Q., Wang, Y., (2019). Curcuminoids: Implication for inflammation and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Phytotherapy Research.*; 33: 1302– 1317.

### - M -

Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N., (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, n° 09.

Malešev, D. et Kuntić, V., (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemical society.*, 72 (10): 921-939.

Magne Nde, C. H., Zingue, S., Winter, E., Creczynski-Pasa, T. B., Michel, T., Fernandez, X., Njamen, D., Hudson, C. C., (2015). Flavonoids, Breast Cancer Chemopreventive and/or Chemotherapeutic Agents. *Journal of Current Medicinal Chemistry*. Vol 22, Issue 30.

Marzena, M., Renata, S., Monika, K., Grzegorz, S., Włodzimierz, L., Agata, J., Stanisław, J., (2017). *In vitro* evaluation of biological activity of cinnamic, caffeic, ferulic and chlorogenic acid with use of *Escherichia coli* K-12 RECA: GFP biosensor strain. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, Vol. 74 No. 3 pp. 801-808.

Mata, R., Figueroa, M., Navarrete, A., Rivero-Cruz, I., (2019). Chemistry and Biology of Selected Mexican Medicinal Plants. *Prog Chem Org Nat Prod*; 108:1-142.

Migdal, C., Serres, M., (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris)*. 27 (4): 405-12.

Mohammedi, Z., Atik, F., (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter J Pharma Bio Sci* 2:609- 615.

Mpondo, E. M., Yinyang, J., Dibong, S. D., (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85(1), 7804-7823.

## - O -

Ould el Hadj, M. D., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H., (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional Est). *Courrier du Savoir – N°03*, Janvier 2003, pp. 47-51.

Oussaid, S., Chibane, M., Madani, K., Amrouche, T., Achat, S., Dahmoune, F., Houali, K., Rendueles, M., Diaz, M., (2017). Optimization of the extraction of phenolic compounds from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxidant and antibacterial applications, *LWT-Food Science and Technology*, doi: 10.1016/j.lwt.2017.08.064.

Ozenda Paul., (2004). Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3<sup>ème</sup> Ed.). 122-235p.

Ozlem Coskun., (2016). Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*.3 (2): 156-160.

## - P -

Pan, M. H., C. S. L. S., Dushenkov, C. T. H., (2009). Modulation of inflammatory genes by natural dietary bioactive compounds. *J. Agric Food Chem*. 57(11):4467-77.

Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., Andrade, B. P., (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules* 14, 2202-2211.

- S -

Shirwaikar, A., Shirwaikar, A., Rajendran, K., Punitha, I. S. R., (2006). *In vitro* Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloid Berberine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29 (9), 1906-1910.

- T -

Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A. J. M., (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Environ. Sci.* 6 (4) 1111.

Togliatto, G., Lombardo, G., Felice Brizzi, M., (2017). The Future Challenge of Reactive Oxygen Species (ROS) in Hypertension: From Bench to Bed Side. *Int J Mol Sci.* 18(9) : 1988.

Trabelsi, N. A., Megdiche, W. A., Ksouri, R. A., Falleh, H. A., Oueslati, S. A., Soumaya, B. B., Hajlaoui, H. C., Abdelly. C., (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Science and Technology* 43, 632–639.

- V -

Villagómez, R. A., Ramos, J. P., Campos, Pérez-González, A. L. E., Pérez-Gutiérrez, C. C. A. S. P. S., (2019). Anti-inflammatory activity of *Jefea gnaphalioides* (a. gray), *Astereaceae*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* vol 19, Article number: 263.

- Z -

Zhang, B. M., Wang, Z. B., Xin, P., Wang, Q. H., Bu, I., Kuang, H. X., (2018). Phytochemistry and pharmacology of genus *Ephedra*. *Chinese Journal of Natural Medicines* Vol 16, Issue 11, P 811-828.

Zuo, L., Prather, ER., Stetskiv, M., Garrison, DE., Meade, JR., Peace, TI., Zhou, T., (2019). Inflammaging and Oxidative Stress in Human Diseases: From Molecular Mechanisms to Novel Treatments. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(18)

# ANNEXE

**Annexe 1.** Fiche questionnaire.

**Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales**

**Guérisseur traditionnel : Plante médicinale**

➤ **Objectif de l'enquête :**

Connaitre quelles sont les plantes médicinales qui guérissent ou ont été utilisées pour traiter le cancer.

**I-Informateurs :**

\* Sexe :           **Homme**   
                          **Femme**

\* Âge :

\* Profession : .....

\* Connaissez-vous des plantes qui guérissent ou ont été utilisées pour traiter le cancer ?

**Oui**

**Non**

\* Si oui, quelle sont ces plantes ?

.....  
.....

\* Quelle est la bonne période de récolte ?

.....  
.....

\* Quelle sont les parties de cette plante qui ont été utilisées ?

.....  
.....

\* La plante est-elle utilisée :

**Sèche**

**Fraîche**

\* Quel est le mode de préparation de cette plante ?

**Infusion**

**Décoction**

**Broyat**

**Macération**

**Suc**

\* Quelle quantité faut-elle utiliser ?

.....  
.....

\* Mode d'administration :

- Voie digestive                       - Voie cutanée                       - voie respiratoire

\* La plante est-elle toxique ?                      Oui                       Non

\* En cas de toxicité, quels sont les additifs associés pour réduire la toxicité ?

.....  
.....

\* Quelle est la durée du traitement ?

.....  
.....

\* L'efficacité du traitement est obtenue à base de la plante seule ou avec le traitement conventionnel ?

.....  
.....

**II- Caractéristique de la plante utilisée :**

\* Nom commun :    - En anglais : .....

                          - En français : .....

                          - En kabyle : .....

                          - En arabe : .....

\* Nom scientifique : .....

\* Type biologique de l'espèce :                       Vivace                       Annuelle

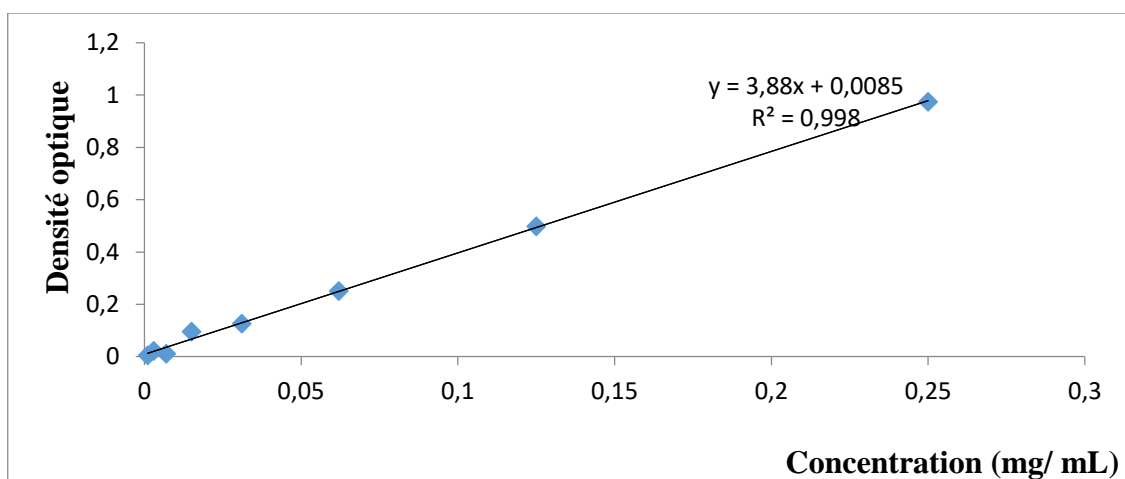
\* Origine de la plante :                       Spontanée                       Cultivée                       Importée

\* Milieu écologique : .....

## Annexe 2. Plan du mélange des solvants

Combinaisons	Acétone	Ethanol	Eau distillée
<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>4</b>	<b>1/2</b>	<b>0</b>	<b>1/2</b>
<b>5</b>	<b>1/2</b>	<b>1/2</b>	<b>0</b>
<b>6</b>	<b>0</b>	<b>1/2</b>	<b>1/2</b>
<b>7</b>	<b>1/3</b>	<b>1/3</b>	<b>1/3</b>
<b>8</b>	<b>4/6</b>	<b>1/6</b>	<b>1/6</b>
<b>9</b>	<b>1/6</b>	<b>1/6</b>	<b>4/6</b>
<b>10</b>	<b>1/6</b>	<b>4/6</b>	<b>1/6</b>

## Annexe 3. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .



**Annexe 4.** Courbe d'étalonnage de la quercitine.

