



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

Investigation phytochimique d'une plante médicinale Algérienne de la famille des Zygophyllaceae

Présenté et soutenu par : FAKRAOUI Linda

Le : 26 /06 /2016

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BERREHAL Djemaa (MCA - UFM Constantine)

Rapporteur : Mme BOUTAGHANE Naima (MCB - UFM Constantine)

Examineur : Mme KHALFALLAH Assia (MCB - UFM Constantine)

Année universitaire

2015-2016

REMERCIEMENTS

Ce mémoire a été réalisé au laboratoire d'Obtention de Substance Thérapeutique, Faculté des Sciences Exactes de l'Université de Constantine 1, sous la direction du Docteur Naïma BOUTAGHANE, maître de conférences «B» au département de Biologie Faculté des Sciences de la nature et de la vie.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent à mon encadreur de mémoire Dr. BOUTAGHANE Naïma, qui m'a accepté de diriger ce travail, je lui exprime mes sentiments de reconnaissances les plus sincères pour sa précieuse aide, et pour ses conseils et surtout pour ses qualités humaines et scientifique.

Merci de tout cœur.

Je remercie Madame le Professeur « Zahia Kabouche » pour m'avoir accueillies au sien du Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutique, Faculté des sciences Exactes de l'Université de Constantine 1 et pour m'avoir permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions que soient .

Je remercie aussi, Mme «BERREHAL Djemaa » Maître de conférences classe A à la faculté des sciences exactes, Université Constantine 1, je suis honoré par sa présence comme président du jury.

Je remercie également Mme «KHALFALLAH Assia » Maître de conférences Classe B à la faculté des sciences exactes, Université Constantine 1, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

*Je remercie aussi tous les membres de laboratoire d'obtention
de substance thérapeutique.*

*Je remercie également tout le Personnel du Département de
Biochimie Faculté des Sciences de la Nature et de la vie,
Université Constantine I, pour les moyens qu'ils ont mis à
notre disposition pour nous permettre de progresser tout au
long de nos années d'étude.*

*Un grand merci pour tous mes enseignants qui fournissent un
très grand effort pour nous enrichir de leur science et leur
connaissance.*

*Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'autre ont contribué à
la réalisation de ce travail, et que je ne peux citer
individuellement.*

*Dans la vie il y a trois facteurs : le talent, la chance, le travail
Avec deux ces facteurs, on peut réussir
Mais l'idéal est disposé les trois.*

(De Bernard Werber)

Dédicaces

*Ma première gratitude va au tout-puissant
ALLAH (الله), le créateur du tout, pour me
donner la vie, le bénédicité et la force pour
accomplir ce travail.*

*A mes très chers parents Abd el hafid et Fatima
qui nous guident, aident, protègent, sacrifié
pour nous, et qui nous a permis atteindre
le bout de chemin, si je suis arrivée
là ces grâce à vous.*

*Que dieu doit satisfait de vous et vous donne
longue et heureuse vie.*

A mes frères

A mes sœurs

A tout ma famille

Tous mes proches

Mes amies

Mes camarades de promotion

Linda

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------------	----------

CHAPITRE I: Etude bibliographique

I. Introduction	4
------------------------------	----------

I.1.La famille de zygophyllaceae	4
---	----------

I.1.1 Classification et Répartition géographique	5
--	---

I.1.2 Intérêt biologique de la famille zygophyllaceae	6
---	---

I.2 Le genre <i>Fagonia</i>	9
--	----------

I.2.1 Principaux métabolites secondaires du genre <i>Fagonia</i>	9
--	---

I.2.2 Utilisation en médecine traditionnelle	9
--	---

I.3 <i>Fagonia microphylla</i>	10
---	-----------

I.3.1 Description botanique	10
-----------------------------------	----

I.3.2 Classification et place dans la systématique botanique	11
--	----

I.3.3 Utilisation en médecine traditionnelle	12
--	----

I.3.4 Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Fagonia microphylla</i>	12
--	----

CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES

II. 1 Définition	14
-------------------------------	-----------

II.1.2 Les Flavonoïdes	14
-------------------------------------	-----------

II.1.2.1 Structures chimiques et classification	15
---	----

II.1.2.2 Biosynthèse des flavonoïdes	16
--	----

II.1.2.3 Propriétés et intérêt thérapeutiques des Flavonoïdes	18
---	----

1. Effets antioxydants	18
------------------------------	----

2. Activité antimicrobienne des flavonoïdes	19
---	----

3. Activité antibactérienne des flavonoïdes	19
---	----

4. Activité antifongique des flavonoïdes	20
--	----

5. Activité antivirale des flavonoïdes	21
--	----

II.2 Les Saponosides	22
II.2.1 Définition	22
II.2.2 Structure chimique des saponosides	23
1. Saponosides à génines stéroïdiques	23
2. Saponosides à génines triterpéniques	23
3. Les sucres	24
II.2.3 Biosynthèse des saponosides	25
II.2.4 Propriétés biologiques des saponosides	26
1. Hémostatique.....	26
2. Molluscicide.....	26
3. Anti-inflammatoire.....	26
4. Cytotoxique et antitumorale.....	26
5. Anti-oxydante	27

CHAPITRE III : ACTIVITE ANTIOXYDANTE

III.1 Introduction	29
III.2 Radicaux libres biologiques	30
III.3 L'activité anti-radicalaire	31
III.3.1 Antioxydants enzymatiques	32
III.3.2 Antioxydants non enzymatiques (naturels)	32
III.5 Le teste antioxydant par la méthode DPPH	33

CHAPITRE IV : PARTIE EXPERIMENTALE

IV.1 Matériel végétale	35
IV.1.1 Procédé d'extraction	35
IV.2. Méthode d'analyse phytochimique	38
IV.2.1 Methodes chromatographiques	38

IV.2.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)	38
IV.2.1.2 Chromatographie liquide sous vide (VLC)	38
IV.2.1.3 Chromatographie liquide haute performance (HPLC)	40
IV.4 Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées	41
IV.4 Dosage des Polyphénols	44
IV.5 Criblage pharmacologique par CCM	45

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Rendements d'extraction	47
V.2. Criblage phytochimique par CCM et CLHP et VLC	47
V.2.1 Criblage phytochimique par CCM et CLHP	47
V.2.2 Fractionnement de l'extrait butanolique	49
V.3 Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées	51
V.4 Dosage des polyphénols totaux	56
V.5 Criblage pharmacologique par CCM	58
CONCLUSION GENERALE	61
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	63

LISTE DES FIGURES

Figure I.1: plante de la famille de zygothylaceae	5
Figure I.2: Répartition géographique de l'espèce <i>Zygothylaceae</i>	24
Figure I.3: plante du genre <i>Fagonia microphylla</i> (Album Sahara nature plante)	10
Figure I.4 : fleurs de la plante <i>Fagonia microphylla</i> (Album Sahara nature plante)	11
Figure II.1 : Structures de base des flavonoïdes	14
Figure II.2: Principaux types de flavonoïdes.....	15
Figure II.3: Formation de la chalcone	16
Figure II.4: Schéma conduisant aux différentes classes de flavonoïdes	17
Figure II.5: Eléments essentiels pour l'activité anti-oxydante des flavonoïdes	18
Figure II.6: composition des saponines	22
Figure II.7: Principaux squelettes stéroïdiques	23
Figure II.8 : Différents squelettes des oses	25
Figure II. 9: Structure de la dioscine	27
Figure II.10 : Schéma de l'hédérasaponine C et l'hédéracolchisides E et F	27
Figure III .1 : Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées(ROS) et les antioxydants	29

Figure III.2 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	31
Figure III.3 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants	32
Figure III.4 : La forme libre et réduite du DPPH	33
Figure IV. 1 : Macération à froid dans un mélange MeOH/H ₂ O (80 :20 ; v/v) (3×24 h)	35
Figure IV. 2 : Évaporation des solutions hydroalcooliques	36
Figure IV.3 : Préparation de l'extrait <i>Fagonia microphylla</i>	36
Figure IV. 4 : Différente étapes de l'extraction des parties aériennes du <i>Fagonia microphylla</i>	37
Figure IV.5 : chromatographie liquide sous vide (VLC)	39
Figure IV.6 : Evaporation des fractions obtenues par VLC	39
Figure IV.7 : Phases récupérées du <i>Fagonia microphylla</i>	40
Figure V. 1 : Les chromatogrammes des 4 extraites après révélation par une solution acide	48
Figure V.2 : Chromatogramme HPLC analytique de l'extrait butanolique des parties aériennes de <i>F.microphylla</i> à 205nm (gradient de 10-80% pendant 30min, 80-100% pendant 8min acétonitril/ H ₂ O)	49
Figure V.3 : Plaques CCM récapitulatives des fractions de la VLC.....	50
Figure V.4 : Le résultat des polyphénols.....	52
Figure V.5 : le résultat des flavonoïdes	53
Figure V.6 : le résultat des saponosides.....	54
Figure V.7 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique	56
Figure V. 8 : Teneur en polyphénols totaux en (mg/g d'extrait)	57

Figure V.9 : Chromatogramme sur couches minces des extraits de *Fagonia microphylla* après la révélation par le DPPH 0,2 %58

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Quelques propriétés biologique et métabolites secondaires de quelques espèces de la de Zygothylaceae	8
Tableau II.1: Principaux squelettes triterpéniques	24
Tableau IV.1 : Gamme de dilutions décroissante de l'extrait butanolique pour la mesure de l'indice de mous	42
Tableau V.1 : Les Rendements des différents extraits	47
Tableau V.2: VLC sur C ₁₈ de l'extrait butanolique de <i>F. microphylla</i>	50
Tableau V.3: Résultats de recherche des polyphénols	51
Tableau V.4: Résultats de recherche des flavonoïdes	52
Tableau V.5: Résultats de recherche des tanins condensés	53
Tableau V.6: Résultats de recherche des saponosides	54
Tableau V.7: Résultats de recherches des triterpènes.....	54
Tableau V.8: Tableau récapitulatif des résultats	55
Tableau V.9 : la DO de l'extrait butanolique.....	56
Tableau V.10: les pourcentages des polyphénols calculés de l'extrait méthanolique <i>Fagonia microphylla</i>	57

Liste d'abréviations

Solvants et réactifs

H₂O	Eau distillée
AcOEt	Acétate d'ethyle
BuOH	n-Butanol
CHCl₃	Chloroforme
MeOH	Méthanol
FeCl₃	Chlorure de fer
Mg	Magnésium
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
H₂SO₄	Acide sulfurique
C₂H₄O₂	Acide acétique
CH₃CN	Acetonitril
HCl	Chlorure d'hydrogène
HgCl₂	Chlorure de mercure

Activité biologique

AAR	Activité anti radicalaire
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
ROS	Reactive oxygen species
DPPH:	1, 1-Diphényl -2-picryl-hydrazyl

Technique chromatographique

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
VLC	Chromatographie Liquide sous Vide

C18	Silice greffée
SiO2	Silice normale
RP	Phase inverse (<i>Reversed Phase</i> , phases stationnaires en chromatographie)

Unités utilisées

EAG	Equivalents d'acide gallique
F	Fraction
g	Gramme
Kg	Kilogramme
mg	Milligramme
ml	Millilitre
ug	Microgramme
µl	Microlitre
nm	Nanomètre
MS	Solution Mère
[C]	Concentration
Im	Indice de Mousse
DO	La densité optique
R%	Rendement
%	Pourcentage
v/v	Rapport volume /volume
UV	Ultra-Violet

Introduction générale

Introduction Générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Lhuillier., 2007**)

En Afrique, l'utilisation des plantes médicinales est restée depuis des siècles le système de santé le moins cher et par conséquent le plus accessible. Ces plantes contribuent de façon significative à la vie des populations rurales et à l'équilibre sociétal en Afrique, particulièrement parmi les franges de la société les plus démunies (**Baker et al 1995, Mohmoodally., 2013**). Il est à signaler que certaines plantes médicinales sont extrêmement efficaces, mais si dangereuses qu'elles ne doivent être administrées que par des connaisseurs de la médecine traditionnelle. D'autre part, la perte des savoirs autochtones autour des plantes médicinales s'accélère du fait des transformations socio-culturelles des sociétés, ainsi que de la disparition progressive des personnes âgées qui traditionnellement sont les gardiens de ces connaissances. Cette situation rend nécessaire de valoriser les savoirs traditionnels des guérisseurs concernant l'usage des plantes médicinales et d'explorer davantage la possibilité de les intégrer dans les systèmes médicaux modernes.

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Ferrari., 2002**).

Dans ce contexte et dans le souci d'apporter des solutions concrètes à l'utilisation des plantes dans la pharmacopée traditionnelle, les études de fractionnement bioguidées consacrées à la détermination des principes actifs des plantes médicinales ont deux intérêts principaux.

Le premier concerne la mise en évidence de nouveaux principes actifs pour le développement de l'industrie de médicaments.

Le second objectif est lié à la validation des médecines traditionnelles auxquelles 80% de la population africaine ont recours et ce, malgré les progrès spectaculaires accomplis récemment par la médecine moderne (**Baker et al 1995, Mohmoodally., 2013**).

Introduction Générale

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Ozenda., 1991). Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (Ozenda., 1991), ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

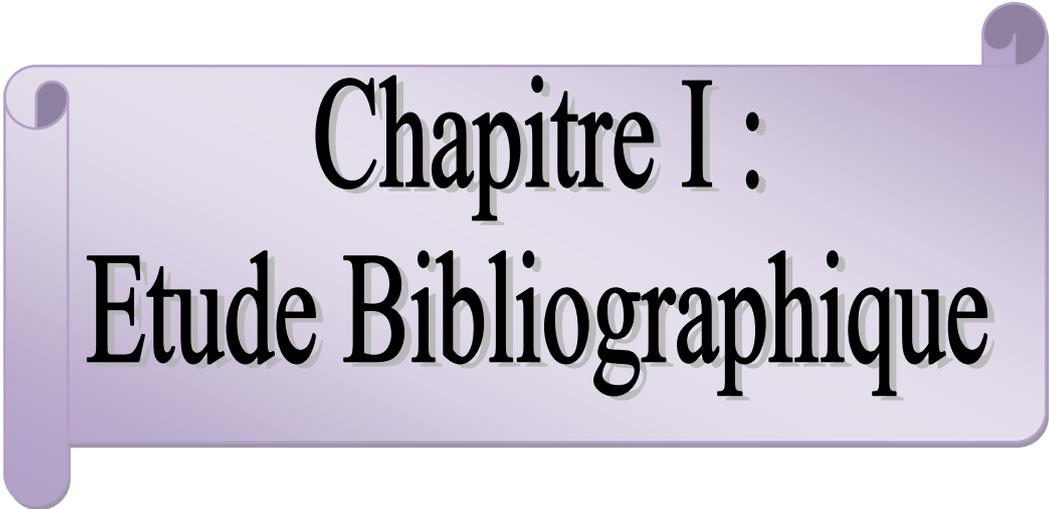
Dans cette perspective, ce travail de recherche est centré sur la recherche de substances naturelles issues de la famille des Zygophylaceae. Cette dernière est connue par sa richesse en divers métabolites secondaires tels que les triterpénoïdes, les saponosides et les flavonoïdes. L'objectif principal de ce travail est l'extraction, et le fractionnement de des extraits organiques de l'espèce *Fagonia microphylla* Pomel

Le présent travail a donc pour but d'adopter l'approche scientifique pour l'investigation chimique de l'extrait butanolique des parties aériennes de l'espèce *Fagonia microphylla* Pomel. Cette étude chimique sera complétée par une évaluation de l'activité antiradicalaire.

Ce travail sera présenté comme suit :

- ❖ le premier chapitre traite des généralités sur la famille des Zygophylaceae et du genre *Fagonia*
- ❖ Le deuxième chapitre sera dédié à une synthèse bibliographique qui permettra de décrire les métabolites secondaires principaux dans ce genre : les flavonoïdes et les saponosides.
- ❖ Le troisième est un aperçu sur les antioxydants.
- ❖ Le quatrième chapitre évoquera nos travaux personnels.
- ❖ Le dernier chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude et à leur discussion.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.



Chapitre I : Etude Bibliographique

I. Introduction

Il est généralement estimé qu'il ya environ 300.000 espèces de plantes supérieures (**Laurence et al; 1951**), cependant certaines rapportent le nombre à 250.000.

D'autre estiment que le nombre est aussi élevé que 500.000, cette disparité du nombre est particulièrement liée à la différence de philosophie systématique chez les botanistes et la grande diversité des environnements et les forêts tropicales ou on peut rencontrer des espèces nouvelles de plante, continuellement.

Parmi ces 300.000 espèces de plantes, environ 1% ; soit 3000 ont été utilisées pour nourriture, dont environ 150 ont été commercialement cultivées.

D'autre part, à peu près 10.000 de ces plantes ont été documentées pour l'usage médicinales ; elles sont beaucoup plus que celles utilisées dans l'alimentation, mais il est encore un très faible pourcentage de toutes les plantes supérieures (**James et al; 2007**).

Ces espèces sont décrites et nommées suivant la nomenclature introduite en 1753 par **Karl Von Linné**, elles sont regroupées dans 300 familles différentes (**Roland; 2005**).

La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques (**Quezel et al; 1963**), reste très peu explorée sur le plan phytochimique ainsi que pharmacologique.

I.1. La famille de zygophyllaceae

Les plantes appartenant à cette famille, sont très reconnaissables à l'aspect de ses herbes, arbustes, ou arbres, elles ont des feuilles stipulées, très polymorphes.

Les fleurs de 4 à 5 mères, isolées ou inflorescences, la corolle, est également de 4 à 5 mères, et parfois nulle.

Généralement, ces plantes renferment 10 étamines, le plus souvent, à stipules unies, un ovaire de 4 à 5 carpelles, à un ou plusieurs ovules par loge.

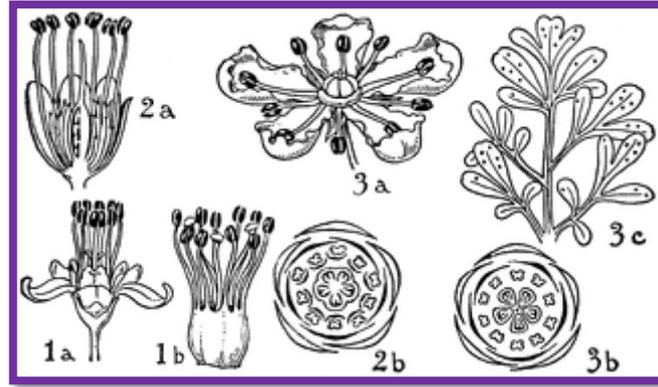


Figure I.1: plante de la famille de zygophyllaceae

Ses fruits sont en général, capsules, loculicides, ou septicides, se dissociant en coque, parfois bacciforme, ou drupacés (Quezel et al; 1963).

I.1.1 Classification et Répartition géographique

Les Zygophyllaceae, dans la classification de Sheahan et Chase, constituent une famille avec environ 285 espèces, qui se subdivisent en cinq sous-familles et 27 genres (Sheahan et al; 1996; Sheahan et al; 2000).

Les Zygophyllodeae, constituent la sous famille la plus large avec 180 espèces, regroupées en quatre genres :

Fagonia (30 espèces), Augea (monotypique), Tetraena (monotypique), et Zygophyllum (150 espèces) (Sheahan et al; 1996 ; Takhtajan; 1996).

Elles sont largement distribuées dans les régions arides, semi-arides, les terrains salés, et les pâturages désertiques (Quezel et al; 1963; Sheahan et al; 2000), elle constitue plus de 3% de la flore du désert dont plus du tiers est endémique (Smati, et al ; 2004).

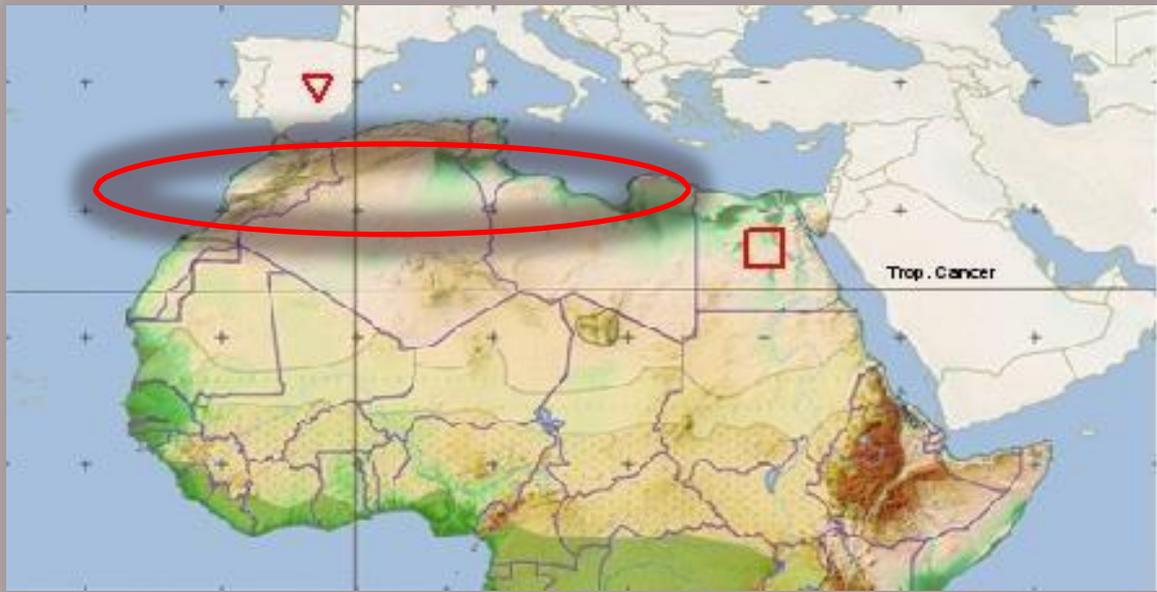
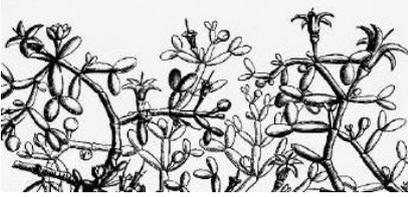


Figure I.2: Répartition géographique de l'espèce *Zygothylaceae* (Betina-Bencharif., 2014).

I.1.2 Intérêt biologique de la famille zygothylaceae

Les espèces de cette famille ont des propriétés thérapeutiques remarquables, nous allons citer quelques espèces de très grandes importances thérapeutiques dans le **Tableau I.1.**

Tableau I.1 : Quelques propriétés biologique et métabolites secondaires de quelques espèces de la de Zygophyllaceae.

La plante	propriétés	Métabolites secondaires
 <p>Zygophyllum cornutum</p>	<p>Traitement de diabète (Jaouhari et al., 2000)</p>	<p>Quercetin 3-O-rutinoside Isorhamnetin 3-O-rutinoside Isorhamnetin 3-O-glucoside Isorhamnetin 3-O-galactoside (Poey et al., 1977).</p>
 <p>Fagonia cretica</p>	<p>Propriété anti bactérienne Anti cancéreuse Activité cytotoxique Activité Anti- inflammatoire (Abdelkhalika et al 2000).</p>	<p>Alcaloïdes, saponines, terpènes, flavonoïdes, glycosides (Abdelkhalika, et al 2000).</p>
 <p>Peganum harmala</p>	<p>Traitement, de diabète et l'hypertension artérielle (Tahraoui et al., 2007)</p>	<p>Alcaloïdes : Harmaline Harmine Flavonoïdes : acacetine-7-rhamnoside (Berrougi et al., 2006).</p>

 <p>Larrea tridentata</p>	<p>Soigner l'acné et les psoriasis et en même temps ont des effets cicatrisante, antifongique et antiviral (Whitford et al., 2001; Brent., 1999), elle a aussi des activités analgésique, anti-inflammatoires et anti-oxydantes (Kay., 1996; Abdou-Gazar et al., 2004).</p>	<p>Flavonoïdes : Apigenine Isokaempferide (Abdou-Gazar et al., 2004). Lignane : 4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxylignane 3', 4'-dihydroxy-3,4'-dimethoxylignane (Lambert et al., 2005).</p>
 <p>Zygophyllum album</p>	<p>Traitement des diarrhées (Maiza et al., 1993) et du diabète (Meng et al., 2002). ils sont carminatifs, anti-septique, et stimulants (Atta et al., 2004).</p>	<p>Harmine Stigmasterol β-sitostérol acide decanoïque acide palmitique carvone α-terpéneol</p>
 <p>Balanites aegyptiaca</p>	<p>Anti-inflammatoire, antioxydants, anti-nociceptives (Speroni et al., 2005), anti-fongique (Bishnu et al.; 2007), anti-septique, anti-malaria, anti-syphilitiques et anti-virales (Duke., 1983; Kokwano., 1976).</p>	<p>Flavonoïdes : Quercétine-3-O-glucoside Quercétine 3-O-rutinoside Isorhamnetin 3-O-glucoside Isorhamnetin 3,7-diglucoside Isorhamnetin 3-O-rutinoside Isorhamnetine-3-O-rhamnogalactoside (Maksoud et al., 1988) Riche en saponines (Liu et al., 1982; Pettit et al 1991).</p>
 <p>Bulnesia sarmientoi</p>	<p>Propriétés calmantes, Activité antifongique (Rodilla et al., 2011).</p>	<p>Triterpènes, stérols, tanins</p>

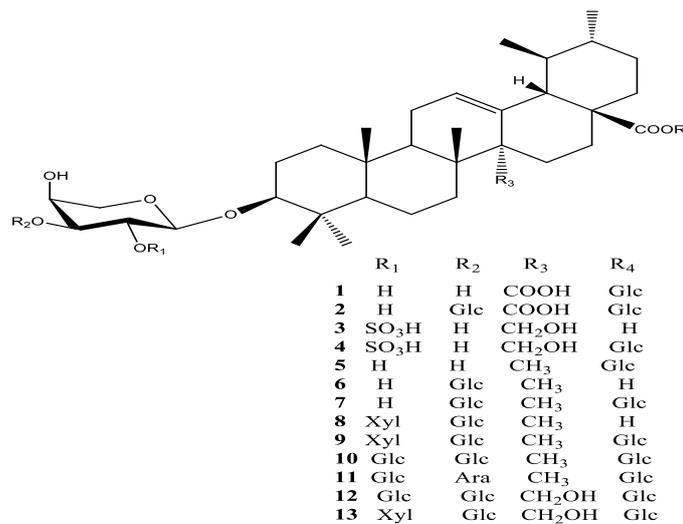
I.2 Le genre *Fagonia*

Fagonia est l'un des principaux genres de la famille Zygophyllaceae avec 34 espèces de plantes du désert (Beier., 2003 ; Beier et al., 2004), est représenté par 17 espèces dans la flore de Algérie (Quezel et al., 1963).

I.2.1 Principaux métabolites secondaires du genre *Fagonia*

Une recherche bibliographique réalisée sur les espèces du genre *Fagonia*, montre qu'elles ont fait l'objet de nombreuses investigations phytochimiques. Celles-ci ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires. Les substances dominantes sont les flavonoides, alcaloïdes et saponines.

A titre d'exemple L'espèce *Fagonia arabica* s'est révélée extrêmement riche en saponoside. En effet, l'investigation chimique de l'extrait méthanolique des parties aérienne de l'espèce citée, a permis d'isoler 13 saponosides triterpénique (El-Wakil., 2007 ; Miyase et al., 1996 ; Shoeb et al., 1994 ; Perrone et al., 2007).



I.2.2 Utilisation en médecine traditionnelle

La phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes - ou la seule "partie active"- ayant des propriétés thérapeutiques. Elles sont regroupées dans la catégorie des plantes médicinales. L'utilisation thérapeutique des plantes et surtout leur choix ne se trouvent pas dans leur origine systématique, mais bien dans les découvertes fortuites de leurs propriétés thérapeutiques de façon empirique au cours des siècles. Ce qui a permis à l'humanité d'accumuler d'importantes

connaissances sur les plantes médicinales et de transmettre leurs vertus de génération à génération.

Beaucoup d'espèces du genre *Fagonia* ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisés dans la médecine traditionnelle, pour leur activité anti - inflammatoire, analgésique et effets anti- pyrétiques, des effets thrombolytiques et activité antioxydante (**Chopra et al, 1982; Saeed Asif et al., 2003 ; Kasture et al. 2014**). Ils sont également utilisés comme remèdes populaires pour le traitement de diverses lésions cutanées et les troubles digestifs (**Chopra et al., 1982**).

Fagonia microphylla

I.3.1 Description botanique

D'après Quezel et Santa *Fagonia microphylla* est une Espèce endémique saharienne du Sahara septentrional se trouve beaucoup plus dans : Touggourt, Mzab, Sud-tunisien, Sud-marocain. De 20 à 40 cm de hauteur. Cette espèce est frêle à port dressé et Toute la plante agglutine le sable.

Il existe deux variétés : la forme typique a des rameaux étalés, la variété fruticans a des rameaux nombreux et dressés, les feuilles ont des pétioles très longs. Plante à stipule plus courtes que les pétioles, feuilles avec un long pétiole au bout duquel se trouvent trois folioles très petit terminés par une pointe. Le pétiole et ses folioles forment une croix et leurs fleurs sont voilettes (**Album Sahara nature plante**).

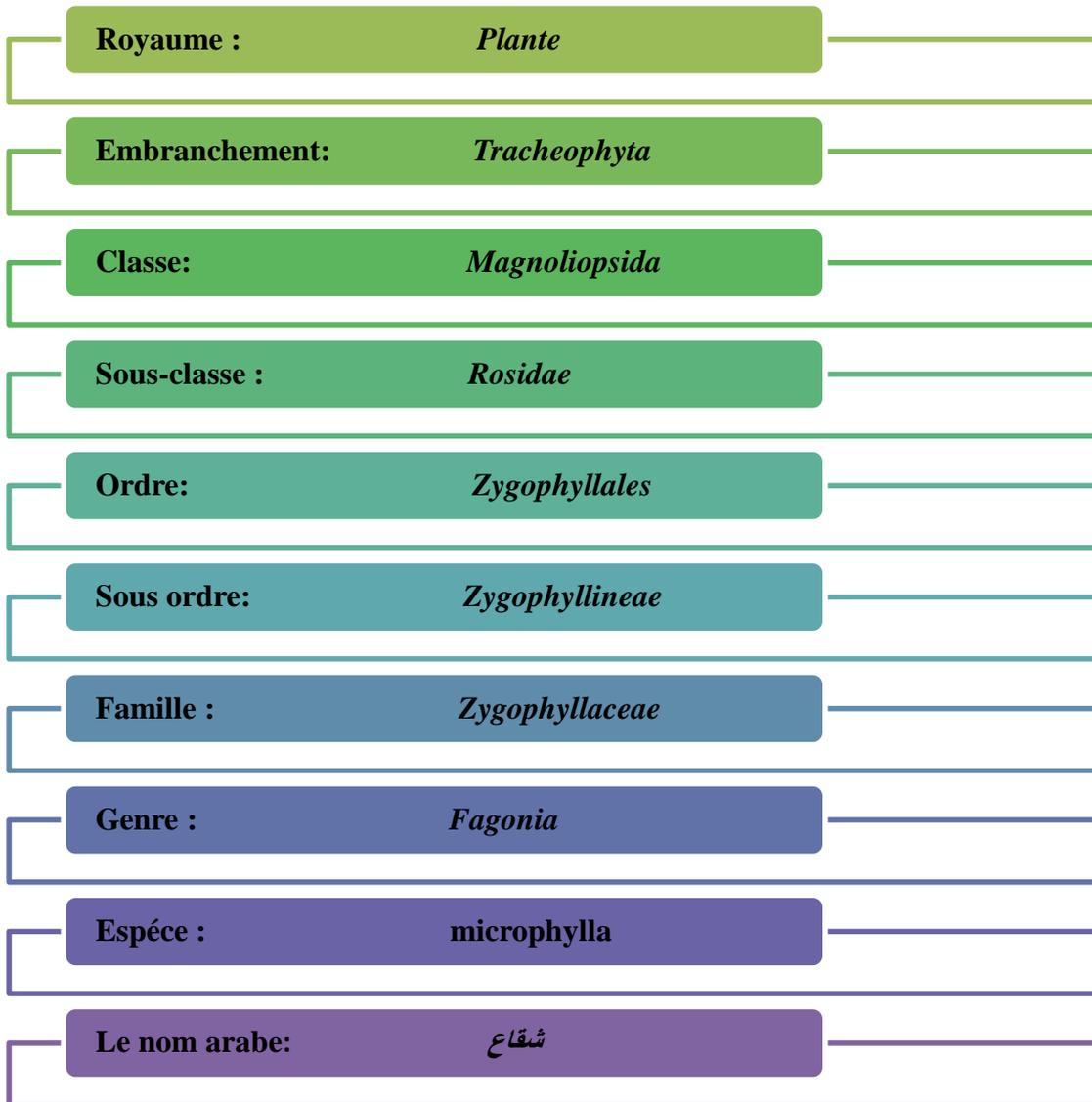


Figure I.3: plante du genre *Fagonia microphylla* (**Album Sahara nature plante**)



Figure I.4 : fleurs de la plante *Fagonia microphylla* (Album Sahara nature plante)

I.3.2 Classification et place dans la systématique botanique (Pareek, A et al, 2012):



I.3.3 Utilisation en médecine traditionnelle

On ne connaît pas d'usage en médecine traditionnelle de *Fagonia microphylla*.

I.3.4 Travaux antérieurs sur l'espèce *Fagonia microphylla*

Fagonia microphylla n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique ni biologique, à notre connaissance.



Chapitre II :

les métabolite secondaires

II. 1 Définition

Les polyphénols, également dénommés composés phénoliques, forment un très vaste ensemble de substances naturelles aux structures extrêmement variées. L'élément structural de base qui les caractérise est la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, ester ou encore hétéroside) (Bruneton., 2009).

A l'heure actuelle, plus de 10000 composés naturels satisfaisant à ces critères ont été isolés et identifiés (Mompon et al., 1998). Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en différentes familles : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tanins, quinones, acides phénoliques, xanthones, stilbènes..... etc (Hennebelle et al., 2004). Ces structures sont des monomères, des polymères ou des composés complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 uma (Harbone., 1993). Ces métabolites secondaires sont synthétisés par les plantes pendant leur développement, mais aussi comme réponse aux conditions de stress tels que les infections, les blessures, les radiations UVetc (Bruneton., 2009 ; Scapagnini et al., 2004).

II.1.2 Les Flavonoïdes

Le terme « flavonoïde » désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. La classe des flavonoïdes est l'une des plus abondantes, et à ce jour, plus de 6500 structures naturelles ont été isolées et caractérisées, répartie en 12 squelettes de base. Ce groupe de composés est défini par une structure générale en C15 caractérisée par un enchaînement C6-C3-C6 (1,3-diphénylpropane); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques

Notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (Figure II.1) (Rijke et al., 2006).

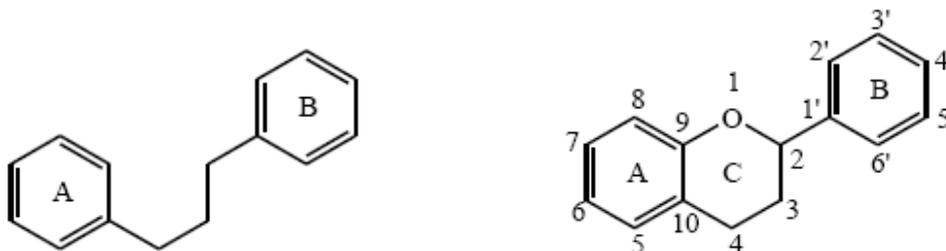


Figure II.1 : Structures de base des flavonoïdes.

II.1.2.1 Structures chimiques et classification

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité structurale selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central lequel peut être ouvert et recyclisé en un motif furanique (dihydrofuranone). Les plus importants sont donnés ci-après (**Figure II. 2**) (**Luthar, Z ; 1992**): flavones , flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, Anthocyane, chalcones, aures, isoflavones, ptérocarpanes, coumestanes, roténoïdes,... etc.

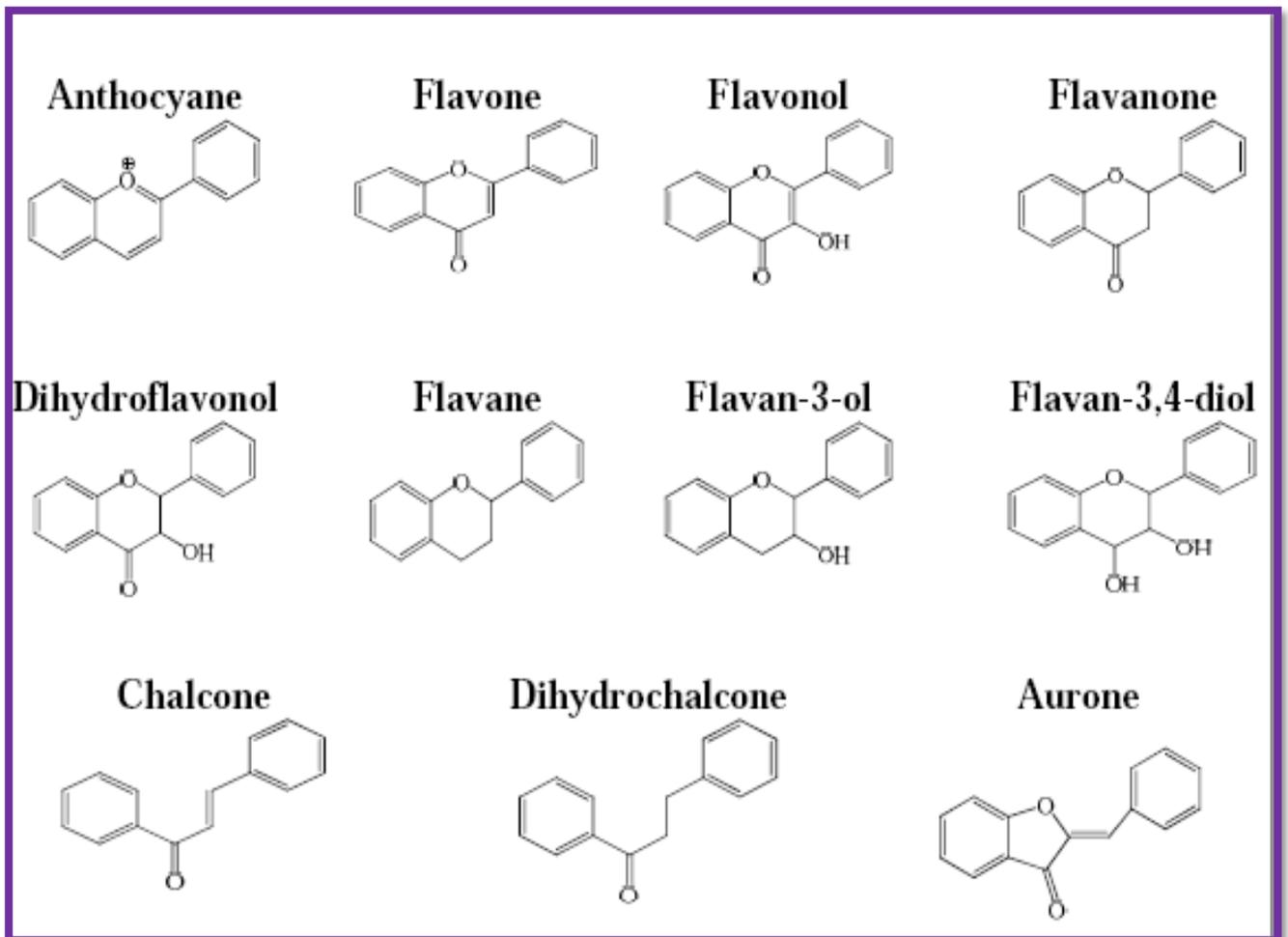


Figure II.2 : Principaux types de flavonoïdes

II.1.2.2 Biosynthèse des flavonoïdes

Au plan biosynthétique, les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune, ils résultent de la condensation de 3 unités de malonyl-CoA en formant le noyau A, et d'un acide cinnamique activé qui sera à l'origine du noyau B et de la chaîne propanique. Cette condensation est catalysée par la chalcone synthétase (CHS), enzyme-clé dans la formation des flavonoïdes, qui conduit à un précurseur appelé la chalcone (**Figure II.3**).

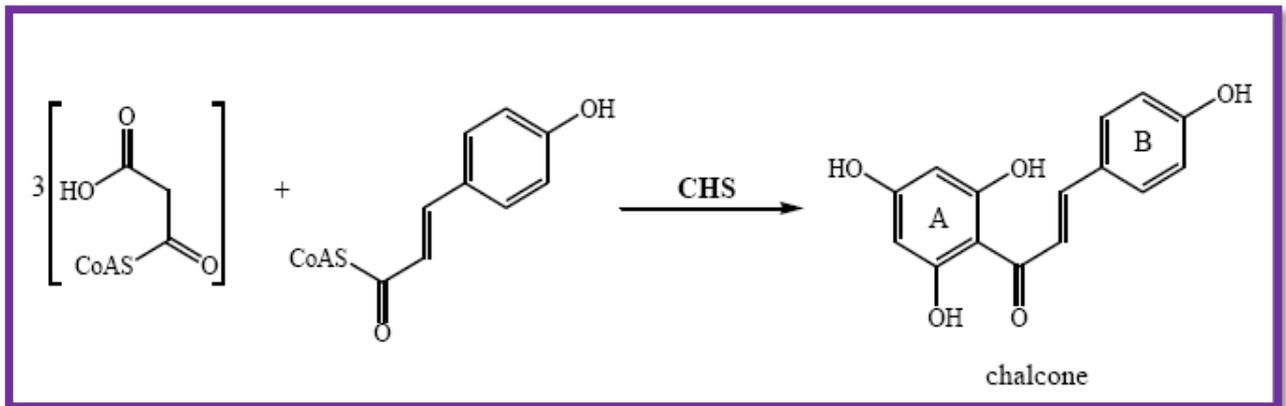


Figure II.3: Formation de la chalcone

La chalcone néoformée donne une 2*S*-flavanone (la naringénine), par une transformation stéréospécifique catalysée par une chalcone isomérase (CHI). La naringénine est au centre de la synthèse de différentes classes de flavonoïdes par l'action d'enzymes diverses (**Figure II.4**). Les flavones synthases (FSI) introduisent une double liaison en 2,3 pour donner une flavone. La flavanone-3-hydroxylase (F3H) catalyse l'hydroxylation en position 3 d'une 2*S*-flavanone pour donner un (2*R*, 3*R*)-dihydroflavonol. Le dihydroflavonol peut ensuite être transformé en flavonol par la flavonol-synthase (FLS), ou bien en leucoanthocyanidine par le dihydroflavonol réductase (DFR). L'anthocyanidine synthase (ANS) conduit ensuite à l'anthocyanidine qui va, à son tour, être glycosylée par la glycosyltransferase (GT) formant une anthocyane, la pélargonidine-3-*O*-glucoside. La catéchine est formée par action de DFR sur la leucoanthocyanidine (**Winkel-Shirley, B ; 2001**).

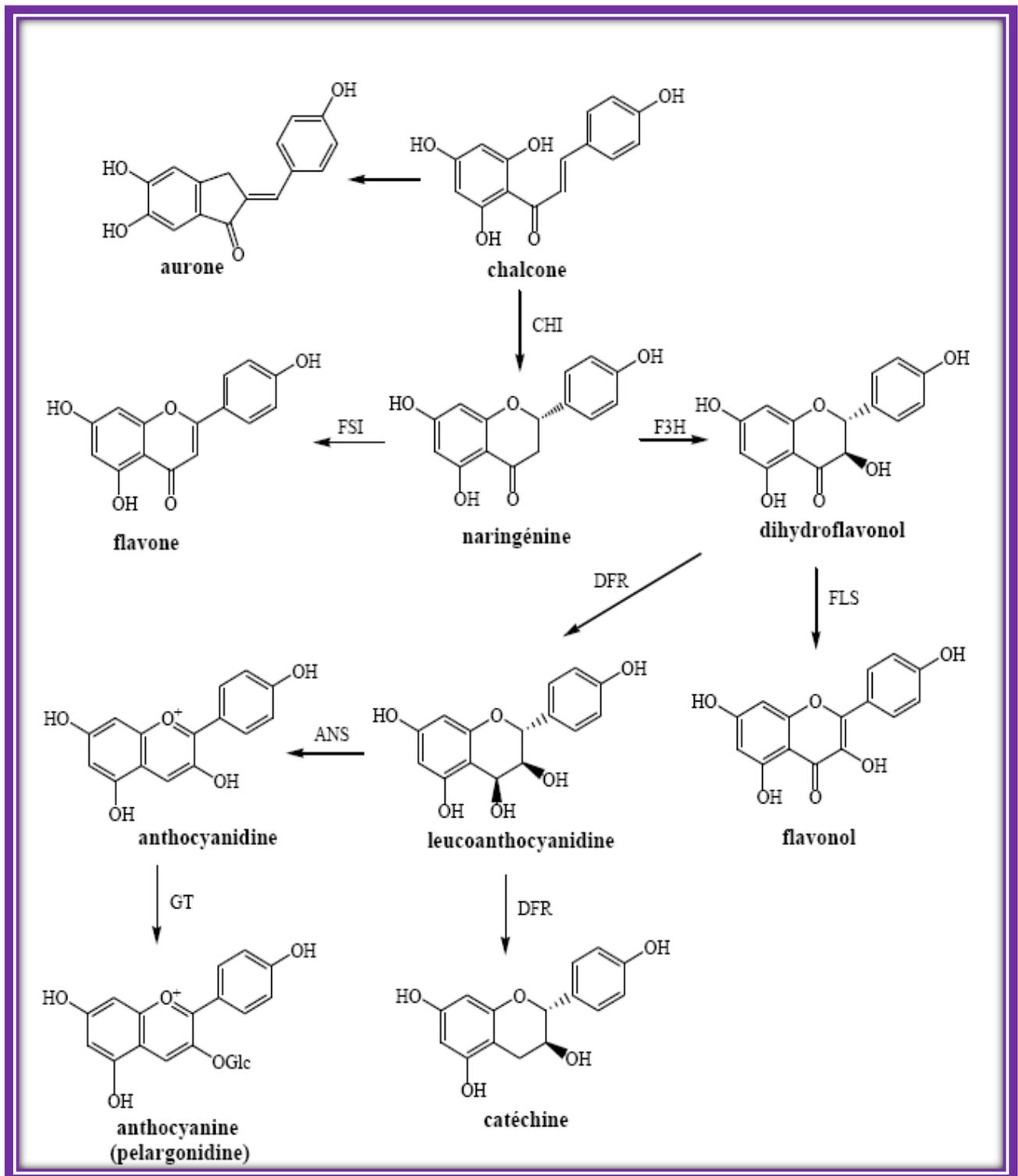


Figure II.4: Schéma conduisant aux différentes classes de flavonoïdes.

II.1.2.3 Propriétés et intérêt thérapeutiques des Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composants naturels hautement actifs. Plusieurs études ont démontré une large gamme des effets biochimiques et pharmacologiques de ces molécules. (Milane., 2004)

▪ Effets antioxydants

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique importante et donc une bonne stabilisation de leurs formes radicalaires. C'est pourquoi les propriétés antioxydants des flavonoïdes sont très souvent exprimées en termes de potentiel anti radicalaire. (Hadj Salem., 2009) sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus pro oxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. (Puppo., 1992) L'activité du piégeage des radicaux libres est l'un des mécanismes importants de l'activité antioxydant, ce mécanisme est lié à leur structure et de l'arrangement des groupements hydroxyles. (Sokol-Letowska., et al., 2007)

Des études faites sur la capacité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres ont montré que les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères suivants :

- La structure ortho dihydroxy sur le cycle B (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo
- La présence du groupe 3OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

Atitre d'exemple, la quercétine satisfait à tous ces critères et par conséquent, elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (Figure II.5) (Marfak., 2003)

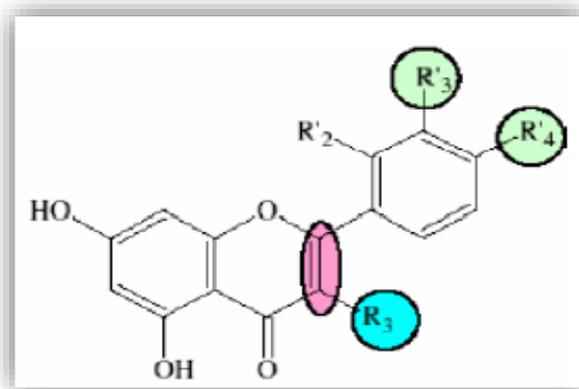


Figure II.5: Eléments essentiels pour l'activité anti-oxydante des flavonoïdes.

La propriété anti radicalaire des flavonoïdes (Flav-OH) est dirigée principalement vers le radical hydroxyle (HO•) et l'anion superoxyde (O₂•-) aussi les radicaux peroxy et alkoxy par transfert d'hydrogène. (Saija et al., 1995)

De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que cuivre et fer, qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres par les réactions de Fenton d'Haber-Weiss. (Puppo., 1992)

Les flavonoïdes sont aussi capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du O₂•- et d'autres espèces réactives oxygénées, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipooxygénase, monooxygénase microsomal, et la glutathion S- Transferase. Les flavonoïdes ayant une moitié catéchol sur le cycle B inhibent la succinoxidase mitochondriale et la NADH oxydase. (Pietta., 2000; Densiov et al., 2005)

▪ **Activité antimicrobienne des flavonoïdes**

L'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska et al; 2006).

▪ **Activité antibactérienne des flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* (Babayi et al ; 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska et al; 2006) *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* ... (Didrak., 1999, Modak., 2001; Okigbo et al., 2005).

Chaque composé agit spécifiquement sur un ou plusieurs germes. Exemple : sur plusieurs bactéries testées l'apigénine n'a montré une faible activité que contre *Staphylococcus aureus*, toutes les autres ont été fort sensibles à ce flavonoïde. Au contraire, la galangine n'a donné une activité que sur *Staphylococcus aureus* ; les autres microorganismes se sont avérés résistants contre cette molécule (Basile et al., 1999 ; Cushnie et al., 2003 ; Martini et al., 2004).

Aussi dans certains travaux, il a été cité que les flavonoïdes extraits avec du méthanol 95 % étaient actifs sur certaines bactéries, alors que ceux extraits avec du méthanol 60 % de la même plante ne l'étaient pas, comme c'était le cas des flavonoïdes de *Linum capitatum* contre *Staphylococcus aureus* (Slavica et al., 2004).

La diffusion radiale souvent demeure utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne in vitro, même si la mesure par le biais de cette méthode est parfois difficile à cause des zones diffusionnelles (Ilic et al., 2004). Bien que le mécanisme d'action des flavonoïdes sur les microorganismes demeure encore imprécis, certaines études ont commencé à donner un début d'explication de leur activité antibactérienne en citant des exemples bien explicites ; comme celui de la quercétine censée agir sur l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (Dadi et al., 2009).

En effet, selon les travaux de Dadi et ses collaborateurs, la quercétine serait capable d'inhiber la gyrase bactérienne par deux mécanismes :

- Elle se fixe sur l'ADN au niveau des sites d'insertion de l'enzyme bloquant ainsi son activité.
- Elle bloque le site de fixation de l'ATP se trouvant sur l'ADN gyrase. Dans les deux cas l'action du flavonoïde se manifeste par le clivage de l'ADN bactérien, désormais incapable de subir les modifications topologiques nécessaires à son bon fonctionnement.

▪ **Activité antifongique des flavonoïdes**

Aussi, comme la majorité des polyphénols, les flavonoïdes ont une activité antifongique très puissante. L'une des études les plus importantes sur cette activité était celle de Ortuno et ses collaborateurs (2006), qui ont démontré l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones extraites de *Cirtus parasidi* et de *Cirtus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. En effet, la naringinine, l'héspéridine, la nobilétine, la simensetine et la tangerétine extraites de ces deux espèces de *Cirtus* servent à protéger ces dernières contre les attaques de *Penicillium digitatum* (Ortuno et al., 2006).

Batawita et ses collaborateurs (2002), dans leur étude sur les flavonoïdes de *Conyza aegyptica* L., ont aussi démontré que ces molécules avaient une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton*

mentagrophytes et *Candida zeylanoïdes*. D'autres flavonoïdes extraits de *Tibouchina grandifolia* ont montré une forte activité antifongique contre différents types de moisissures (**Kuster et al., 2009**).

Néanmoins, les études portées sur l'activité antifongique des flavonoïdes restent encore insuffisantes du fait de la grande hétérogénéité des moisissures et des levures.

▪ **Activité antivirale des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, le virus de l'herpes (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A (A/WS/33) (**Spedding et al., 1989 ; Choi et al., 2009**).

Certains chercheurs (**Spedding et al., 1989**). Ont d'abord suggéré que ces polyphénols agissaient comme inhibiteurs de la transcriptase et/ou la transcriptase reverse de l'agent viral et de l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte ; bloquant ainsi tout le processus infectieux. D'autres travaux plus récents ont ensuite démontré que les flavonoïdes inhibaient plus exactement la synthèse de l'ARNm viral (**Choi et al., 2009**). Ceci, impliquait que les flavonoïdes n'intervenaient pas dans l'absorption des agents viraux, mais plutôt à un stade plus avancé impliqué dans la réplication virale.

II.2 Les Saponosides

II.2.1 Définition

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal (Sparg et al., 2004). Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau (Dewick., 2002) Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, qui se composent d'une partie lipophile l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique (Figure II.6). Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse.

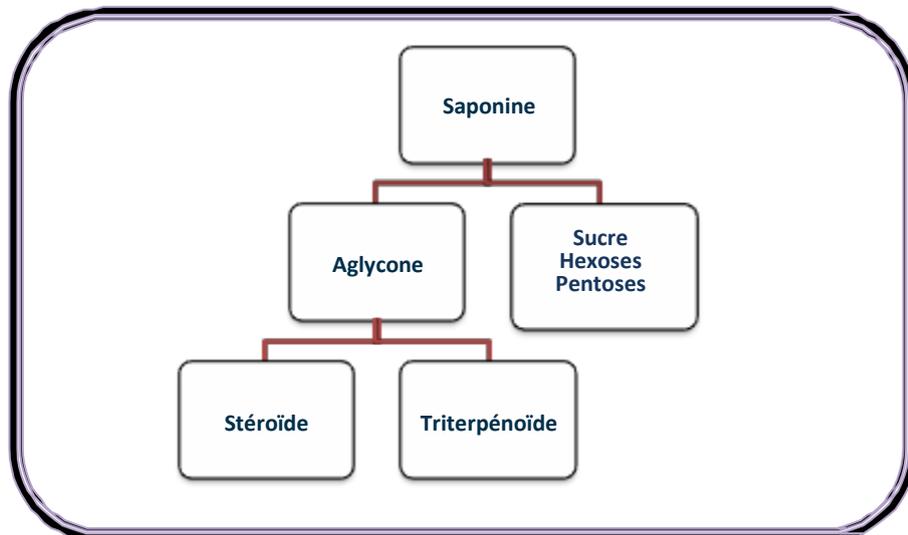


Figure II.6: composition des saponines

II.2.2 Structure chimique des saponosides

Au niveau structural, les saponines sont classées en deux groupes en fonction de la nature de leur génine pouvant être de type stéroïdique ou triterpénique (**Bruneton., 1999**).

▪ Saponosides à génines stéroïdiques

Ils sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones et possèdent un squelette de 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles. Ce sont des dérivés du noyau furostane et spirostane. Ces saponosides ont généralement un hydroxyle en position 3. Ce dernier est le plus souvent substitué par une chaîne osidique. (**Figure II.7**).

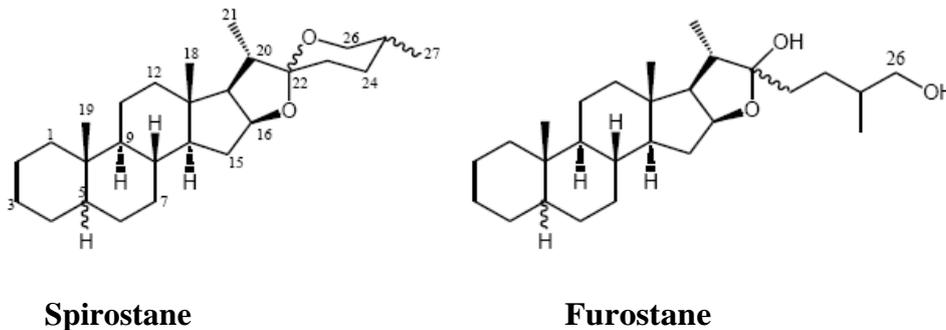
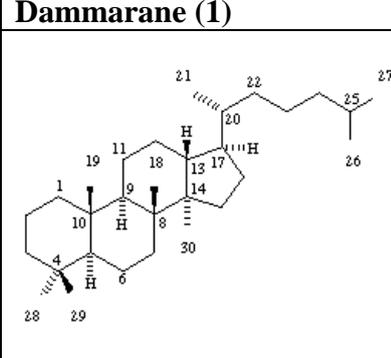
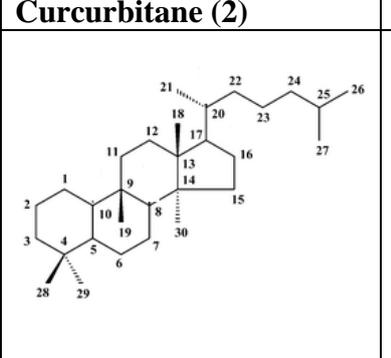
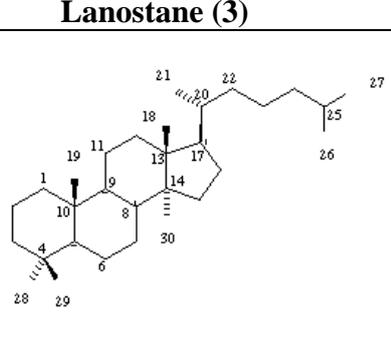
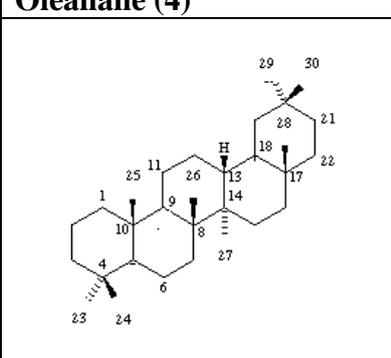
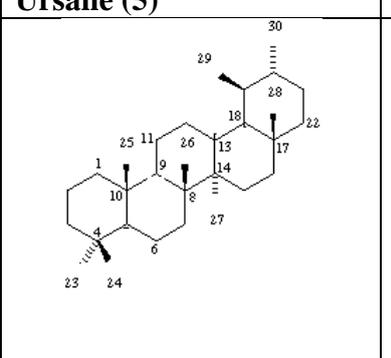
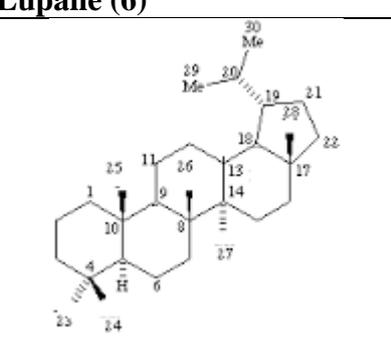
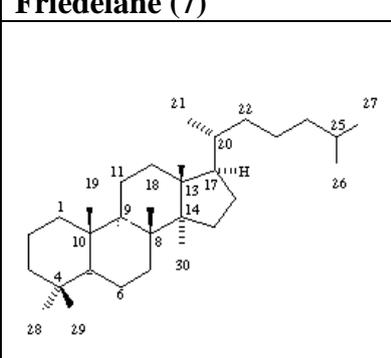
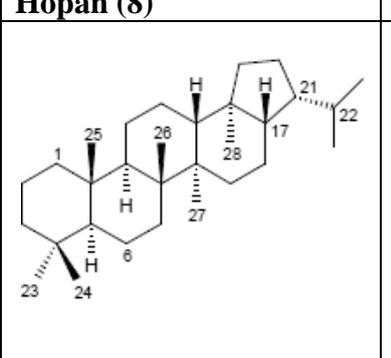
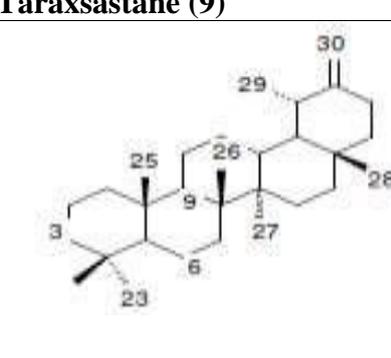


Figure II.7: Principaux squelettes stéroïdiques.

▪ Saponosides à génines triterpéniques

Ils constituent la majorité des sapogénines des angiospermes dicotylédones (**Sparg et al., 2004**), et possèdent un squelette de 30 atomes de carbone qui comporte habituellement cinq cycles (**Tableau II.1**). Ce sont des dérivés du noyau oléanane, ursane, lupane, friedelane, hopane (pentacycle), ou parfois du noyau dammarane, cucurbitane, lanostane et cycloartane (tétracycle)

Tableau II.1: Principaux squelettes triterpéniques

Dammarane (1)	Curcubitane (2)	Lanostane (3)
		
Oléanane (4)	Ursane (5)	Lupane (6)
		
Friedelane (7)	Hopan (8)	Taraxastane (9)
		

▪ Les sucres

Les unités saccharides qui constituent les saponines sont communes: D-glucose, D-galactose, L-arabinose, L-rhamnose, D-xylose, D-fucose et acide D-glucuronique (**Figure II.8**). La partie sucre de la molécule peut compter jusqu'à 11 oses liés à la génine par une liaison de type acétal. Habituellement, la liaison glycosidique s'effectue entre une seule section saccharidique et le groupement hydroxyle en position 3 de la génine, les saponosides sont dits dans ce cas monodesmosidiques (glycyrrhizine). Toutefois, lorsque la génine est substituée par deux chaînes osidiques, en positions 3 et 28 on parle de saponosides bidesmosidiques (**Bruneton., 1999**).

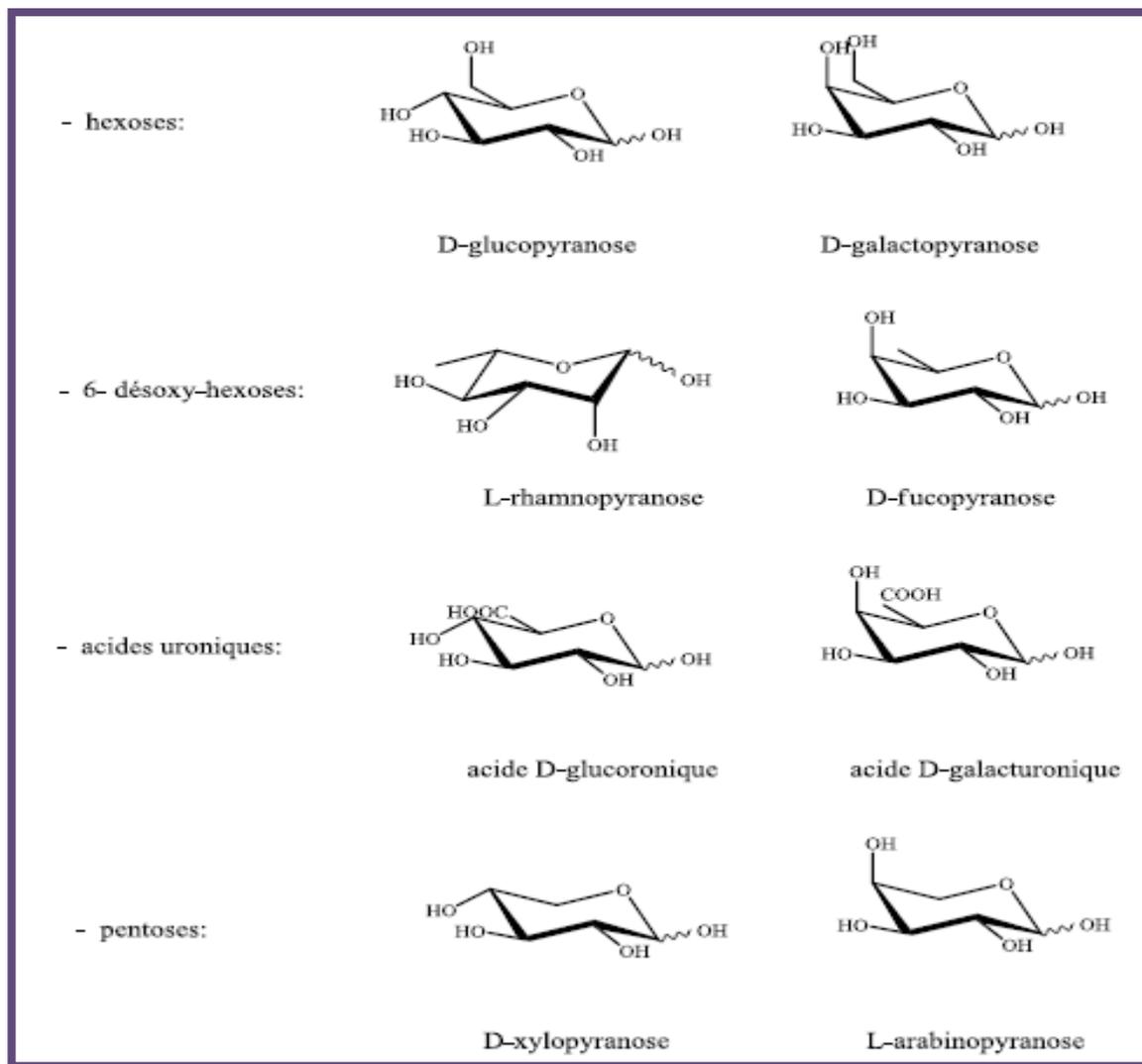


Figure II.8: Différents squelettes des oses

II.2.3 Biosynthèse des saponosides

La grande diversité structurale des saponines peut être expliquée par leurs origines biosynthétiques variées. En effet, à partir de l'oxydosqualène à 30 carbones, la biosynthèse des génines triterpéniques et stéroïdiques est effectuée selon diverses voies métaboliques suivie de l'assemblage des différentes sections osidiques par des enzymes telles que les glycosyltransférases et les glycosidases (Haralampidis et al., 2002 ; Hostettman; 1995).

Par la suite, des modifications subséquentes peuvent avoir lieu sur la saponine dont, entre autres, des oxydations, réarrangements, méthylations et estérifications, ce qui augmente d'autant plus la possibilité de variations structurales à l'intérieur de cette classe de produits naturels.

II.2.4 Propriétés biologiques des saponosides

Reconnues pour avoir un fort potentiel pharmacologique, les saponines ont été intensivement étudiées au cours des dernières années. La communauté scientifique a démontré un intérêt marqué envers cette classe de métabolites secondaires afin d'accélérer le processus lié à leur développement biopharmaceutique. En effet, les saponines à génines stéroïdiques et triterpéniques exercent des activités biologiques très variées telles que :

▪ Hémolytique

Depuis longtemps, les saponines sont réputées pour leur capacité à induire la formation de pores au travers des membranes cellulaires et ainsi entraîner l'hémolyse des globules rouges (érythrocytes). (Seeman et al., 1973, Vincken et al., 2007).

▪ Molluscicide

Depuis quelques années cette activité retient l'attention de plusieurs chercheurs vu son importance dans le domaine de l'agriculture. Les saponines triterpénoides à squelette hédéragénine isolées de *Sapindus mukorossi* Gaertn (Sapindaceae) ont des effets molluscicides contre l'escargot du pommier (*Pomacea canaliculata*) qui est devenu l'un des principaux parasites du riz et d'autres récoltes aquatiques. (Huang et al., 2003).

▪ Anti-inflammatoire

Plusieurs saponines sont reconnues pour leurs effets anti-inflammatoires. Les balanines (balanitine-1 B1, balanitine-2 B2) isolées des écorces de tronc de *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile (Zygophyllaceae) sont des exemples de saponines stéroïdiques à propriétés anti-inflammatoires et antalgiques. (Speroni et al., 2005).

▪ Cytotoxique et anti-tumorale

De nombreuses études ont mis en évidence le caractère fortement cytotoxique, voir même antitumoral, de plusieurs saponines on y trouve :

La saponine stéroïdique, la dioscine, isolée d'un grand nombre de légumes et plantes de la médecine traditionnelle orientale exerce une activité antitumorale ainsi qu'un vaste spectre d'activités biologiques (antivirale, antifongique et anti-inflammatoire) (Yu et al., 2002).

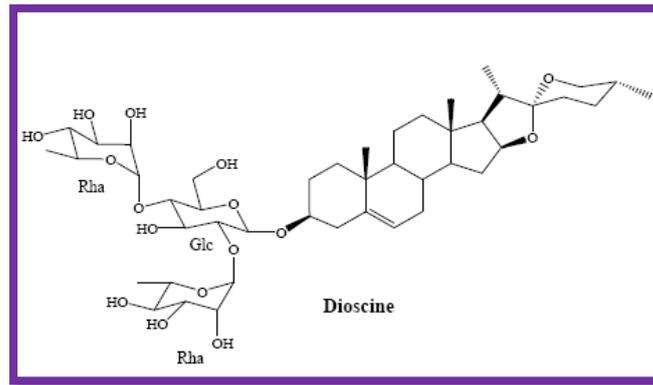


Figure II. 9: Structure de la dioscine

▪ **Anti-oxydante**

L'α-hédérine, l'hédérasaponine C, l'hédéracolchisides E et F présentent une forte activité anti-oxydante (Gulcin et al., 2004).

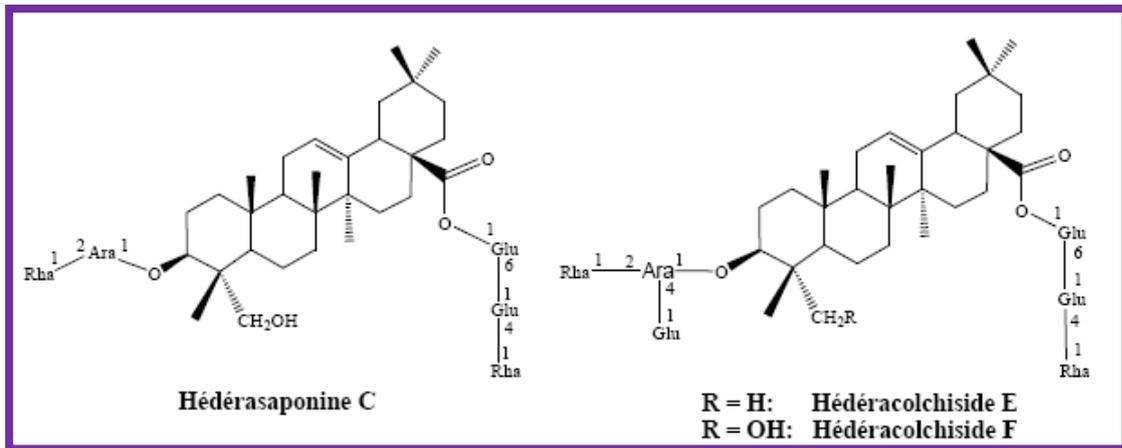


Figure II.10 : Schéma de l'hédérasaponine C et l'hédéracolchisides E et F



Chapitre III :
Activité antioxydant

III.1 Introduction :

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux (**Figure III.1**), l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier., 2003**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (**Diallo., 2005**). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (**Aruoma., 1999**).

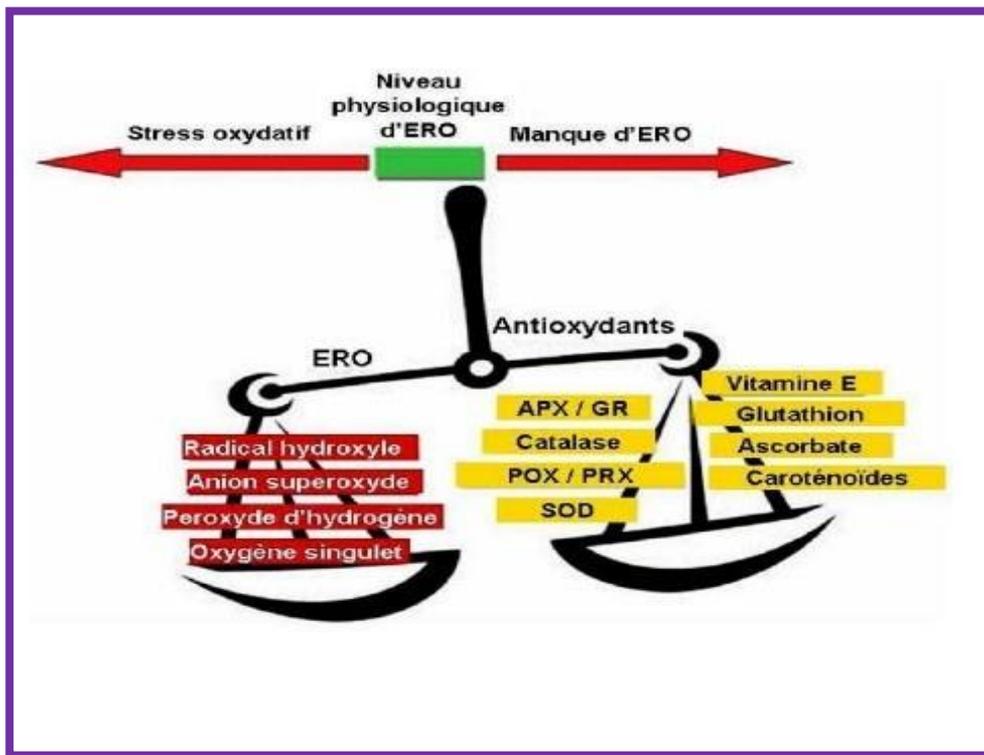


Figure III .1 : Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées(ROS) et les antioxydants (Pourrut, 2008).

III.2 Radicaux libres biologiques

Qu'ès ce qu'un radicaux libre ?

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule (**Haton., 2005**), l'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Favier., 2003**).

Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN) (**Gueye; 2007**). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) (**Gueye., 2007; Boubekri., 2014**).

Les ROS sont capables de provoquer des dommages oxydatifs à l'ADN ainsi qu'aux protéines et lipides de la cellule. Ce sont ces dommages qui sont considérés comme étant à l'origine du vieillissement et des nombreuses pathologies qui lui sont associées (**Yves Le Drean., 2012**). Les plus communs sont l'anion superoxyde (O_2°), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyles(OH) (**Yves Le Drean., 2012; Tbahriti et al ; 2014**).

L'appellation < Dérivés réactifs de l'oxygène > n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres proprement dit [radical superoxyde (O_2^-), radical hydroxyl (OH.), monoxyde d'azote (NO.),.....],, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite (ONOO-)] (**Boumaza., 2009**).

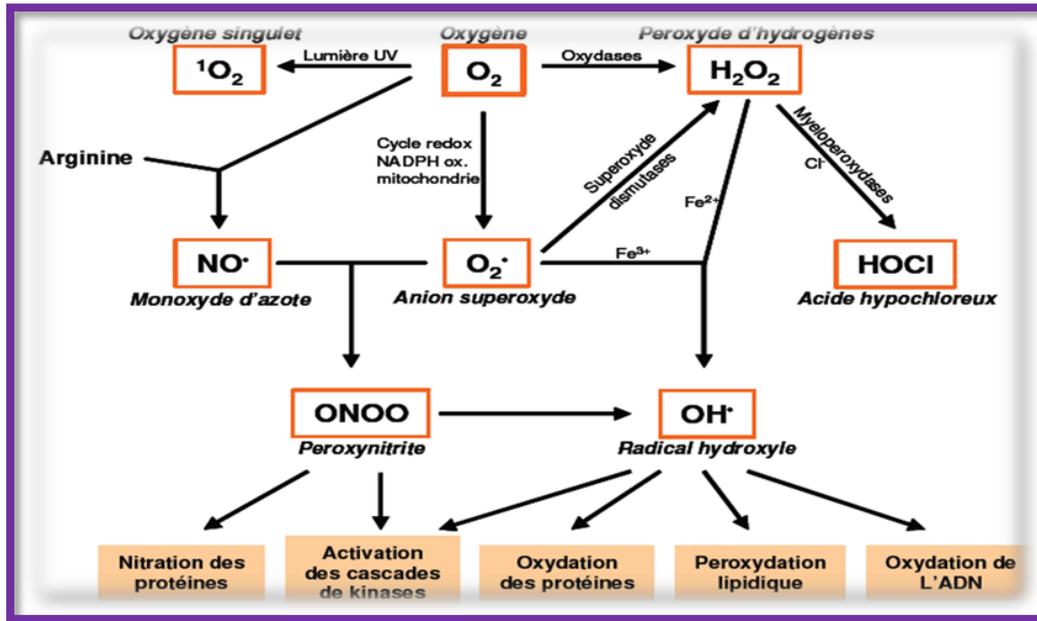


Figure III.2 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l’oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

III.3 L’activité anti-radicalaire :

Qu’est ce que qu’un antioxydant

Les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres et en inhibant ainsi leur action.

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l’oxydation d’autres substances chimiques. Il est défini par Halliwell (Halliwell., 1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d’être oxydé, prévient ou ralentit l’oxydation de ce substrat » (Pastre; 2005). C’est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l’oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l’organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres.

L’organisme est déterminé d’un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydants dans l’organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (Figure III.3) (Mates et al., 1999).

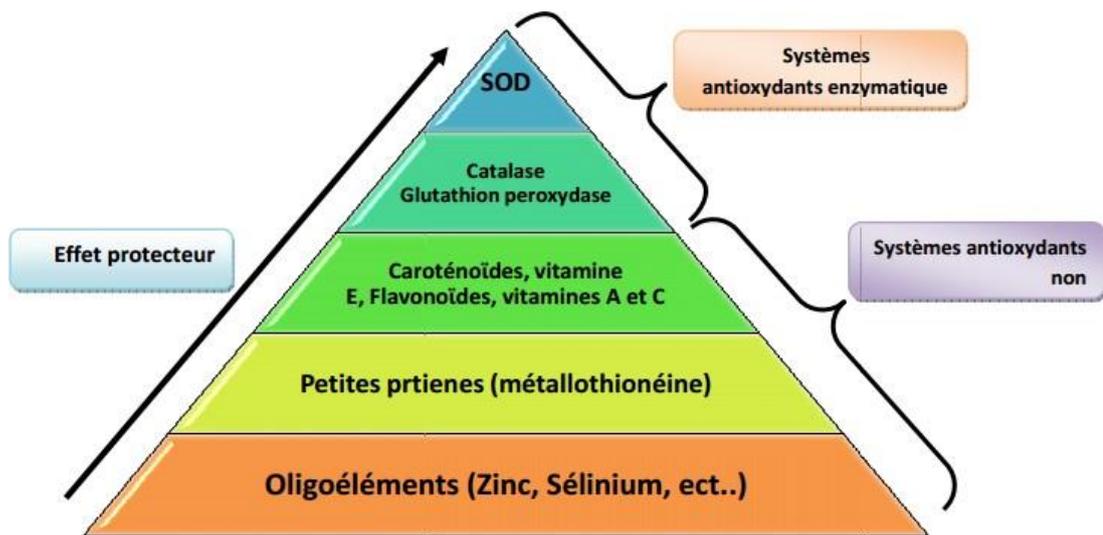


Figure III.3 : Pyramide des systèmes de défenses antioxydants.

III.3.1 Antioxydants enzymatiques

Les enzymes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et glutathion peroxydase sont à l'avant-garde dans la lutte contre les attaques oxydatives (Negre-Salvayre., 2005).

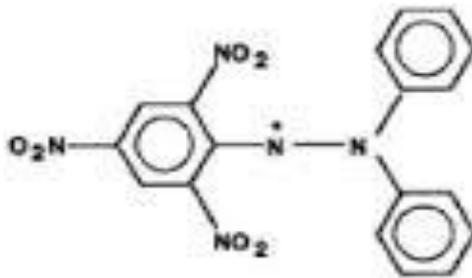
III.3.2 Antioxydants non enzymatiques (naturels)

- La vitamine E
- Acide ascorbique (vitamine C)
- Caroténoïdes
- Les catéchines
- Les composés phénoliques et l'activité antiradicalaire

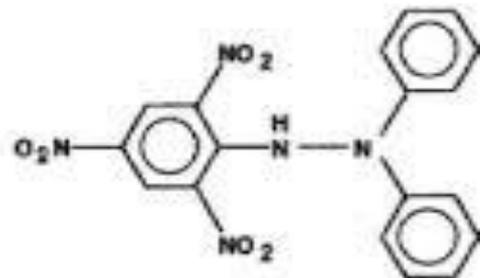
Les flavonoïdes constituent le groupe le plus important de substances naturelles polyphénoliques de notre alimentation. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (thé, raisin, cacao, blé, orge, maïs, fruits et légumes...). Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices. (Justine., 2005).

III.5 Le teste antioxydant par la méthode DPPH

Le pouvoir antioxydant de nos extrait à été testé par la méthode de blois (Zhu et al., 2002). Méthode au DPPH (Leitao et al., 2002 ; Chen et al., 2004). Avec quelque modification ce radical libre stable (Figure III.4) possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pale. Et pour avoir une solution de DPPH on prend 0.2g de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) est solubilisé dans 100 ml du méthanol absolu.



Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)



Diphenylpicrylhydrazine (nonradicalair)

Figure III.4 : La forme libre et réduite du DPPH (Molyneux., 2004).



Chapitre IV : Partie expérimentale

Matériel végétale

Les parties aériennes de *Fagonia microphylla* Pomel ont été récoltées dans une station à quelques kilomètres de Ghardaïa. L'espèce a été identifiée par le Professeur Gérard De Belair (Université d'Annaba).

Procédé d'extraction

IV.1.1.1Extraction par macération

Les parties aériennes de la plante *Fagonia microphylla*. Séchées puis broyées ont donné une quantité de 1 Kg de poudre. Cette dernière a subi une macération dans un mélange hydro-alcoolique (Méthanol/Eau : 80 : 20 : v/v) à température ambiante pendant 24 h (**Figure VI.1**). Cette opération est répétées 3 fois avec renouvellement du solvant durant 24 à 48 heures, à chaque fois les trois solutions hydroalcooliques récupérées sont réunies et concentrées.

La solution hydroalcoolique obtenue après filtration est évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (**Figure VI.2**)



Figure IV. 1: Macération à froid dans un mélange
MeOH/H₂O (80 :20 ; v/v) (3×24 h).



Figure IV. 2: Évaporation des solutions hydroalcooliques.

Extraction liquide-liquide

▪ Epuisement:

Après filtration et concentration, les extraits hydro-méhanolique ont été soumis à une extraction liquide-liquide utilisant des solvants à polarité croissante qui sont les suivants :

- ✓ Epuisement par le chloroforme.
- ✓ Epuisement par l'Acétated'éthyle.
- ✓ Epuisement par le n-butanol.

Les phases obtenus ont été évaporés à sec, ce qui a conduit à la récupération de 15 g d'extrait chloroformique, 5,4 g d'extrait acétate d'éthyle et 30 g d'extrait *n*-butanolique.

La Figure IV.4 montre les différentes étapes d'extraction de l'espèce *Fagonia microphylla*



Figure IV.3 : Préparation de l'extrait *Fagonia microphylla*.

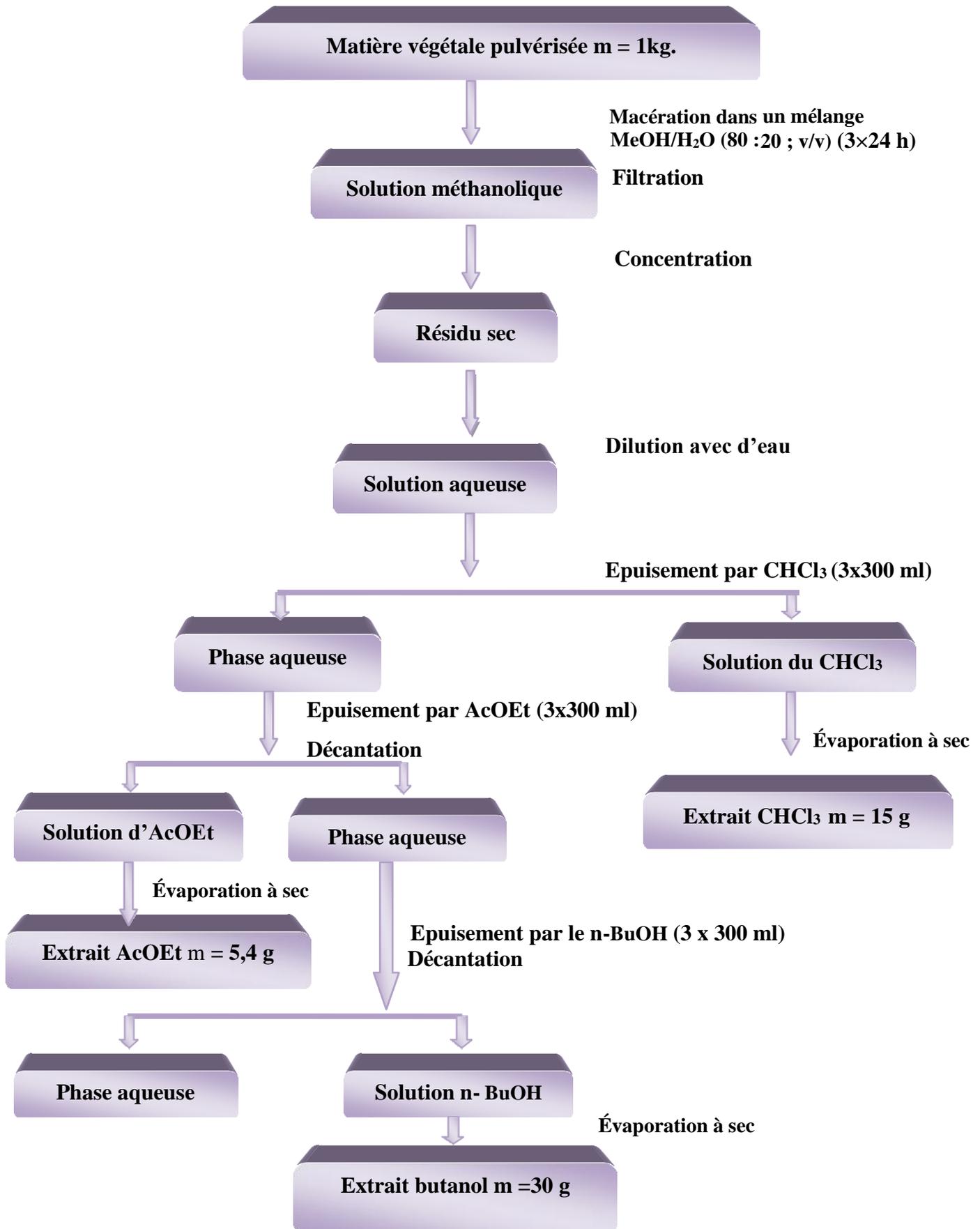


Figure IV. 4: Différente étapes de l'extraction des parties aériennes du *Fagonia microphylla*.

IV.2. Méthode d'analyse phytochimique

IV.2.1 Méthodes chromatographiques

Chromatographie sur couche mince (CCM)

Le criblage phytochimique a été réalisé sur des chromatoplaques (silica gel 60 F254, support en aluminium, Merck). Différents systèmes de solvants ont été utilisés en qualité de développants: (Héxane- d'AcOEt 80 :20 v/v) pour l'extrait chloroformique et (CHCl₃- MeOH- H₂O 70 :30 : 5 v /v/v), pour l'extrait acétate d'éthyle, butanolique et méthanolique. Les plaques sont visualisées sous lumière UV (254 et 365 nm) puis et selon le type de métabolites secondaires à identifier, deux réactifs spécifiques ont été utilisés: le réactif de Dragendorff pour les alcaloïdes et le réactif polyvalent de l'acide sulfurique et acide acétique, pour le reste des classes des métabolites secondaires.

Chromatographie liquide sous vide (VLC)

Cette technique est utilisée pour obtenir un fractionnement grossier de l'extrait brut. Elle est rapide et a l'avantage de consommer moins de solvants que les méthodes chromatographiques classiques. La rapidité de cette méthode évite les phénomènes d'isomérisations observées souvent dans le cas de la chromatographie sur colonne. La silice greffée Lichroprep RP-18 Merck (40-63 µm), est mise dans un entonnoir cylindrique filtrant sur verre fritté n° 3.

▪ Fractionnement de l'extrait butanolique

Pour faciliter l'accès aux composés purs, nous avons choisi de réaliser un fractionnement de l'extrait butanolique en utilisant une technique chromatographique particulière :

La chromatographie liquide sous vide (VLC) utilisant comme phase stationnaire le gel de silice greffé en C-18 et un mélange eau/méthanol à différents gradients (70 /30 ,60/40, 40/60, 20/80, 0/100) comme phase mobile. Des fractions de 300 ml (*3) sont recueillies pour chaque mélange séparément dans des flacons.



Figure IV.5: chromatographie liquide sous vide (VLC)

Les différentes solutions obtenues sont évaporées à l'aide d'un évaporateur rotatif qui permet d'éliminer le solvant sous vide, puis reprises par quelques gouttes de méthanol, les extraits obtenus sont ensuite stockés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation pour le diagnostic chromatographique.



Figure IV.6 : Evaporation des fractions obtenues par VLC



Figure IV.7 : Phases récupérées du *Fagonia microphylla*.

Le suivi de la VLC est analysé par chromatographie sur couche mince qui est effectuées avec des plaques de Silica gel 60 F₂₅₄ sur feuille d'aluminium (Merck) dans le système 70:30: 5 (CHCl₃ : MeOH : H₂O). Après développement dans des cuves en verre, les plaques sont observées à la lumière et sous lampe UV a 254 et 365 nm. Nous avons également utilise des plaques de silice RP-18 prêtes a l'emploi a support en aluminium (Merck). Le système de solvant utilisé est constitue de mélanges méthanol/eau.

Le révélateur utilisé est un mélange d'acides (acide sulfurique 25 % et acide acétique 25%) et de l'eau 50 %.

Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

L'analyse par chromatographie liquide haute performance (CLHP) est effectuée à l'aide d'un appareillage du laboratoire de pharmacognosie, Institut de Chimie Moléculaire de Reims ICMR (France) constituée d'une chaîne chromatographique Dionex, pilotée par le logiciel Chromeleon version 6.01. La chaîne est équipée d'une pompe P580 A quaternaire avec dégazeur intégré, d'un passeur d'échantillon ASI 100, d'un détecteur UV-visible à barrette de diodes UVD 170S/340S et d'une colonne thermostatée par un four STH 585. La colonne Interchrom employée est UP 5 ODB.25M 250 × 10 mm.

Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence de substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les terpènes, les alcaloïdes... etc.

1. Mise en évidence des polyphénols :

□ Le test de chlorure de ferrique

Dans des tubes à essai, nous avons introduit 2.5 ml de chacun des extraits puis 0.5 ml de la solution aqueuse de FeCl_3 à 1%. La présence de composés phénoliques provoque la formation de complexes de couleur bleue ou violette.

2. Mise en évidence des flavonoïdes :

▪ Réaction de la cyanidine

Un volume de 1 ml de HCl et 1 ml de l'eau distillée et puis 1 ou 2 rognure de Mg sont ajoutées à quelques ml de solution d'extrait dans un tube à essai. La présence de coloration rose orange (flavones) ou rose violacé (flavonones) ou rouge cerise (flavonols) dans la couche surnageant du mélange indique la présence d'un flavonoïde libre.

3. Mise en évidence des tanins

▪ Révélation par le réactif de Stiasny

La présence des tanins, nous avons utilisé le réactif de Stiasny (10 ml de formaldéhyde + 5 ml d'acide chlorhydrique concentré) dont le principe est le suivant :

A 10 ml de chaque extrait nous avons ajouté 5 ml de réactif de Stiasny. La présence d'un précipité rouge confirmant la présence des tanins dans le milieu.

4. Mise en évidence des saponines

□ Indice mousse

La caractérisation des saponosides est basée sur l'apparition des mousses après agitation des extraits. L'indice de mousse donc (IM) est la technique la plus abondant pour la confirmation de la présence des saponines.

Dans une série de 6 tubes à essai, sont introduits successivement 1 à 6 ml de chaque extrait, tous les tubes sont complétés à 10 ml avec de l'eau distillée selon (**Tableau IV.1**) et agités vigoureusement dans le sens de la longueur pendant une minute.

Tableau IV.1 : Gamme de dilutions décroissante de l'extrait butanolique pour la mesure de l'indice de mousse

Numéro de tube	1	2	3	4	5	6
Extrait n-BuOH 1% (ml)	1	2	3	4	5	6
Eau distillé (ml)	9	8	7	6	5	4

Après agitation pendant une minute d'un tube à essai contenant quelques millilitres d'extrait aqueux il se forme une mousse persistante en présence des saponines.

La mesure de l'hauteur de la mousse permet de calculer l'Indice de mousse (IM) :

$$IM = \text{inverse } C \times D$$

C : Concentration initiale de l'extrait

D : Dilution dans le tube ou la mousse >1

5. Mise en évidence des triterpènes :

▪ La réaction de Lieberman-Burchard

La mise en évidence des triterpènes est fondée sur la réaction de Lieberman-Burchard.

Les extraits chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique sont additionné chacun de 0.5 ml d'anhydride acétique puis de 0.5ml de chloroforme, après dissolution, les solutions sont transférées dans des tubes à essai aux quels sont ajoutés 1ml d'acide sulfurique concentré.

La réaction est effectuée à froid. La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche surnageant de vert ou de violet, traduit la présence de triterpènes.

6. Mise en évidence des alcaloïdes

▪ Révélation par le réactif de Mayer

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, le réactif de **Mayer** a été utilisé. L'ajout de quelques gouttes de ce réactif (10 g de KI et 2,70 g de HgCl₂ dissous dans 20 ml d'eau) à 2 ml de la solution d'extrait entraîne la formation d'un précipité blanc ou blanc-jaune en présence d'alcaloïde.

▪ Révélation par le réactif de Dragendorff

En présence de quelques gouttes du réactif de dragendorff (composé d'un mélange de 0,80 g de nitrate basique de bismuth, 10 ml d'acide acétique glacial et 40 ml d'eau distillée), la formation d'un précipité de coloration rouge-orangé caractérise également la présence des alcaloïdes.

IV.4 Dosage des Polyphénols

Détermination du contenu des extraits en composés phénoliques

Cette méthode de mesure va nous permettre d'évaluer la quantité de polyphénols totaux, contenus dans les extraits étudiés.

1. Principe :

Afin de déterminer la quantité de polyphénols totaux présente dans *l'extrait fagonia microphylla*, nous avons utilisé la méthode de Folin- Ciocalteu.

L'ensemble des composés phénolique de l'extrait est oxydé par le reactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{40}) et de molybdène (MO_8O_{23}). La coloration bleu produite de l'oxydation possède une absorption maximale à 760nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribereau-Gayon., 1968 ; Tanguy., 1971**). Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

2. Protocole expérimentale

Une prise d'essai de 125 μ l d'extrait butanolique est diluée dans 500 μ l de l'eau distillée, nous y ajoutons 125 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu, le mélange est soumis à une agitation puis nous le laissons reposer 3 min à température ambiante. Après agitation, 1500 μ l de carbonate de sodium 2% sont ajoutées, les solutions ainsi obtenues ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 3 heures à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à concentrations finales allant de 50, 100, 200, 300, 400, 500 μ g/ml. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

IV.5 Criblage pharmacologique par CCM

IV.5.1 Mise en évidence de l'activité anti-radicalaire sur CCM à l'aide du DPPH

Le test chimique que nous avons utilisé pour déceler la présence de composés antioxydants dans les extraits de plante repose sur le principe de la réduction des radicaux libres fournis par le 1, 1-diphényl- 2- picrylhydrazyle (DPPH). Pour réaliser ce test, nous avons déposé 10 µl d'une solution de 10 mg / ml de chaque extrait sur la plaque de silica gel 60 F254 (Merck) possédant un support en aluminium. Le développement des plaques a été réalisé dans les systèmes de solvants suivants:

(Héxane- d'AcOEt 80 :20 v/v) pour l'extrait chloroformique et (CHCl₃- MeOH- H₂O 70 :30 : 5 v /v/v), pour l'extrait acétate d'éthyle, butanolique et méthanolique

Après migration, les chromatogrammes ont été séchés à l'aide du séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution de DPPH à la concentration de 0.2 mg / ml dans le méthanol. En présence de substances antioxydantes, le DPPH est réduit et passe de la couleur pourpre au jaune. Sur les plaques CCM, les zones d'activités antiradicalaires apparaissent en jaune – clair sur fond violet après un temps optimal de 30 mn (Cuendet, M et al ;1997).



Chapitre V :

Résultats et discussions

Rendements d'extraction

Nous rappelons que le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation)

Les rendements des différents extraits obtenus à partir des parties aériennes de *Fagonia microphylla* sont présentés dans le (Tableau V.1).

Tableau V.1 : Les Rendements des différents extraits.

Matérielle végétale	Extrait	Masse(g)	Rendement%
1kg	acétate d'éthyle	5.4	0.54
	Chloroformique	15	1.5
	Butanolique	30	3
	Méthanolique	89.3	8.93

Le rendement le plus élevé (8.93) a été enregistré dans la phase méthanolique, suivi par la phase Butanolique (3), la phase Chloroformique (1.5), et le plus faible était dans la phase acétate d'éthyle (0.54).

La variation des rendements des diverses phases peuvent être attribués à la différence de polarités des composés présents dans l'espèce *Fagonia microphylla*.

Criblage phytochimique par CCM et CLHP et VLC

Criblage phytochimique par CCM et CLHP

Le criblage phytochimique a été réalisé sur les extraits obtenus par épuisement successif avec différents solvants à polarité croissante. Ainsi, nous avons obtenu 4 extraits, l'extrait chloroformique, méthanolique, acétate d'éthyle et butanolique. Tous les composés recherchés, à l'exception des tanins et des alcaloïdes donnent des fluorescences jaune, orange, verte, pourpre, violette, rouge et marron sous irradiation UV à 365 nm.

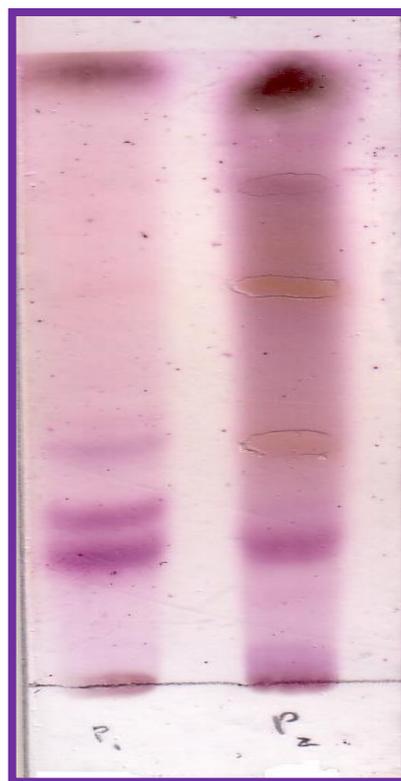
De ce fait, nous notons que les extraits de la plante *Fagonia microphylla* contiennent majoritairement des saponosides et des flavonoïdes. On remarque, la présence manifeste des saponosides dans les deux extraits méthanolique, et butanolique. Par ailleurs, les flavonoïdes se trouvent dans les extraits méthanolique et butanolique et acétate d'éthyle. Outre les stéroïdes et les triterpènes ont été décelés dans l'extrait chloroformique.



L'extrait chloroformique (S1) S1 - (Héxane- d'AcOEt 80 :20 v/v)



L'extrait méthanolique. (S2) :
(CHCl₃- MeOH- H₂O 70 :20 : 5 v /v/v)



P1 Extrait acétate d'éthyle
P2 extrait butanolique

Figure V. 1 : Les chromatogrammes des 4 extraites après révélation par une solution acide.

L'observation de profil HPLC de l'extrait butanolique des parties aériennes de *F. microphylla* (**Figure V.2**), montre bien la richesse de ce dernier en métabolites secondaires notamment les saponosides qui absorbent bien à 205 nm.

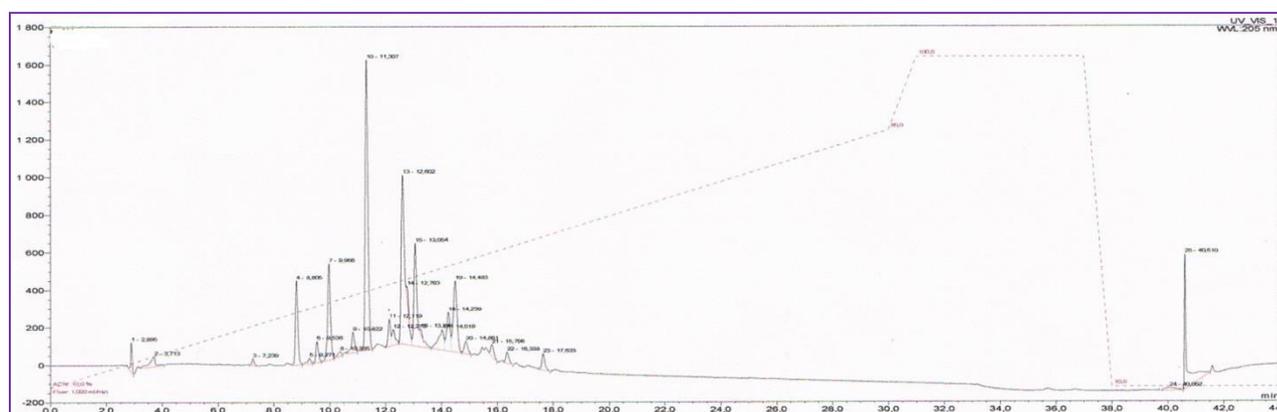


Figure V.2: Chromatogramme HPLC analytique de l'extrait butanolique des parties aériennes de *F. microphylla* à 205nm (gradient de 10-80% pendant 30min, 80-100% pendant 8min CH₃CN/ H₂O).

Fractionnement de l'extrait butanolique

L'extrait butanolique, des parties aérienne de *F. microphylla* a subi un premier fractionnement par chromatographie liquide sous vide (VLC) sur gel de silice greffé en C-18 éluée avec un gradient de MeOH – H₂O. 7 fractions (**Figure V.3**) ont été récoltées après rassemblement des fractions présentant des similitudes (**Tableau V.2**).

Le suivi par CCM révélée avec le réactif de l'acide acétique et l'acide sulfurique nous a permis de déterminer les composés phénolique plus particulièrement les flavonoides dans les premier fractions [F1- F4] et les saponosides dans les derniers [F4- F7].

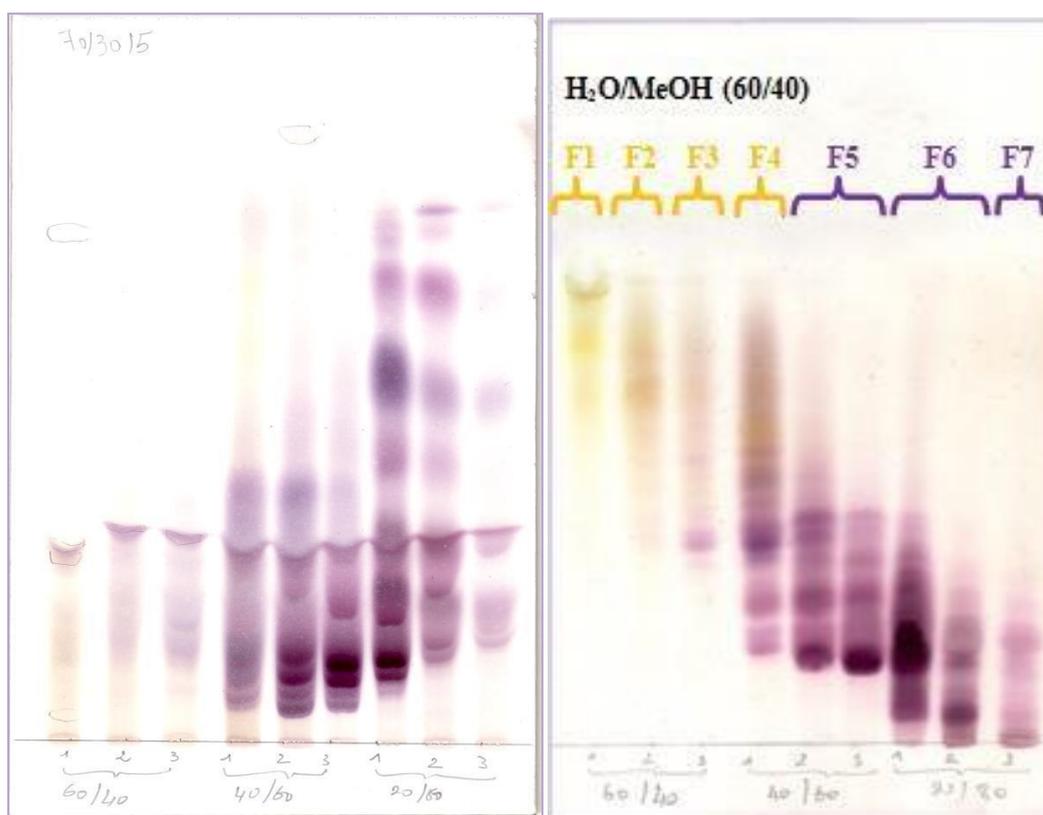


Figure V.3 : Plaques CCM récapitulatives des fractions de la VLC.

Les résultats du criblage phytochimiques et du fractionnement de l'extrait butanolique obtenus tout au long de ce travail, ne peuvent qu'encourager l'investigation phytochimique sur cette espèce afin de d'isoler et purifier les composés de cet extrait.

Tableau V.2: VLC sur C₁₈ de l'extrait butanolique de *F. microphylla*

Eluant: MeOH – H ₂ O	Fractions collectées
60:40	F1 F2 F3
40:60	F4 F5
20 :80	F6 F7

L'analyse phytochimique a montré que les principaux constituants chimiques majoritaires des extraits étaient les saponines, les titerpenoides et les flavonoides. Dans une étude phytochimique de l'extrait ethanologique *F. arabica* (Perrone et al), ont trouvé qu'il contient des saponosides et des triterpenoides. En accord avec nos résultats, ont déjà détecté la présence des saponosides et des flavonoïdes ; ils n'ont pas décelé de traces d'alcaloïdes (Abdel Khalik et al).

Criblage « screening » phytochimique par réactions colorées

L'analyse phytochimique réalisée a permis de constater la présence des grands groupes chimiques (polyphénols, tannins, flavonoïdes, saponosides et terpénoides) présents dans les trois extraits.

Les résultats du screening phytochimique sont classés en fonction des différents

Critères d'observation, entre autres :

- Réaction très positive : + + + +
- Réaction positive : + + +
- Réaction moyennement positive : + +
- Test négatif : -

1. Recherche des polyphénols

Tableau V.3: Résultats de recherche des polyphénols

Extrait	Chloroformique	Acétate d'éthyle	méthanolique	Butanolique
des polyphénols	-	+	++	++++

Les réactions caractéristiques des polyphénols ont montré une coloration verdâtre foncé avec les extraits Acétate d'éthyle, butanolique, méthanolique du genre *Fagonia microphylla* (Tableau V.3) ce qui révèle La présence importante des polyphénols dans ces extraits. Cette présence est plus marquée dans l'extrait butanolique.



Figure V.4: Le résultat des polyphénols.

2. Recherche des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été mis en évidence dans les 4 extraits par la réaction de cyanidine.

Tableau V.4: Résultats de recherche des flavonoïdes.

	Chloroformique	Acétate d'éthyle	méthanolique	Butanolique
Coloration	-	orange	orange	orange
Type de flavonoïdes	-	flavones	flavones	flavones

Les flavonoïdes sont présentes considérablement dans l'extrait acétate d'éthyle, méthanolique et butanolique

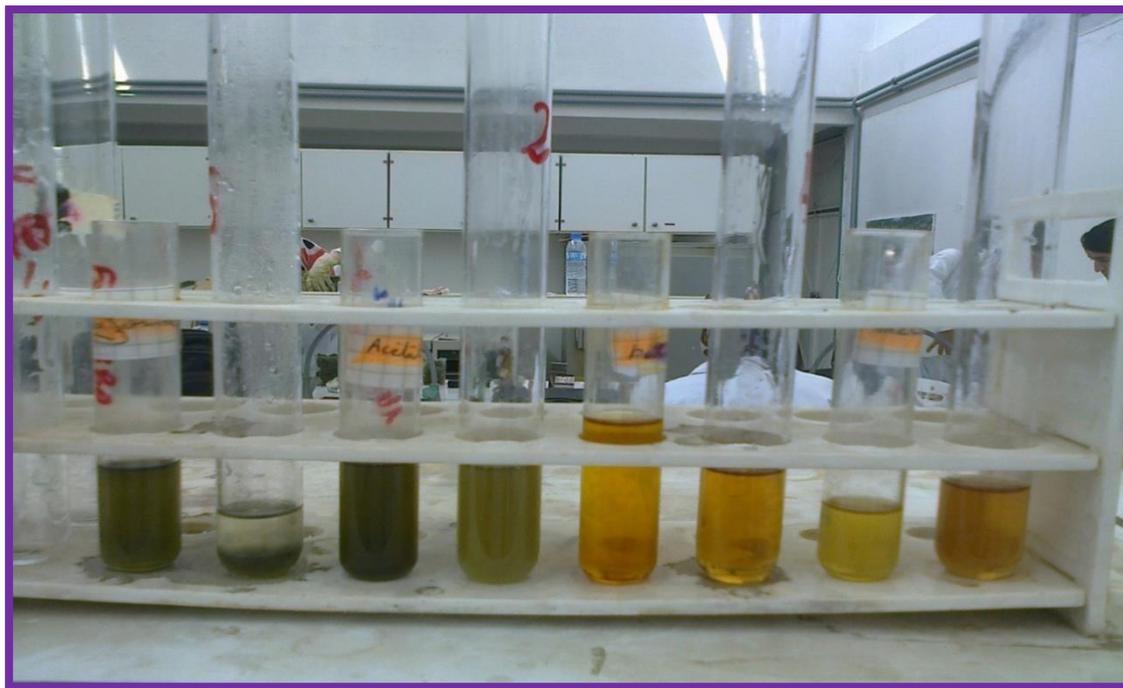


Figure V.5: le résultat des flavonoïdes.

3. Recherche des tanins condensés

Les tanins condensés ont été mis en évidence dans les extraits de *F. microphylla* par le réactif de Stiasny.

Tableau V.5: Résultats de recherche des tanins condensés.

Extrait	Chloroformique	Acétate d'éthyle	méthanolique	Butanolique
Des tanins condensés	-	-	+	++++

Le **Tableau V.5** montre que l'extrait butanolique renferme considérablement les tanins.

4. Recherche des saponines

Après agitation pendant une minute d'un tube à essai contenant quelques millilitres d'extrait aqueux il se forme une mousse persistante en présence des saponines (**Tableau V.6**).

Tableau V.6: Résultats de recherche des saponosides

Extrait	Chloroformique	Acétate d'éthyle	méthanolique	Butanolique
saponines	-	-	++	++++

Les saponines ont été mises en évidence dans les quatre extraits par le test de l'indice de mousse. Les saponines sont abondamment présentes dans l'extrait butanolique.



Figure V.6: le résultat des saponosides

5. Recherche des triterpènes

La réaction caractéristique a été mise en évidence par le réactif de Liebermann-Burchard, les résultats sont réunis dans (Tableau V.7).

Tableau V.7: Résultats de recherches des triterpènes.

Extrait	Chloroformique	Acétate d'éthyle	méthanolique	Butanolique
des triterpènes	+++	-	+++	++++

Les triterpènes sont présents dans l'extrait chloroformique, méthanolique et butanolique.

6. Recherche des alcaloïdes

Après l'utilisation des réactifs spécifiques, les réactions caractéristiques des alcaloïdes n'ont pas montré aucun résultat avec les 4 extraits.

Tableau V.8: Tableau récapitulatif des résultats.

Extrait	Polyphénols	Tanins condensés	Flavonoïdes	Terpène	Saponine	Alcaloïdes
CHCl₃	-	-	-	+++	-	-
AcOEt	+	-	++	-	-	-
MeOH	++	-	++++		-	-
n-BuOH	++++	++++	-	++++	++++	-

Dosage des polyphénols totaux

L'étude quantitative de l'extrait butanolique, préparé à partir de la plante *Fagonia Microphylla* au moyen du dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leur sont attribués. La teneur en polyphénols est enregistrée en équivalent d'acide gallique en microgramme par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait).

La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux.

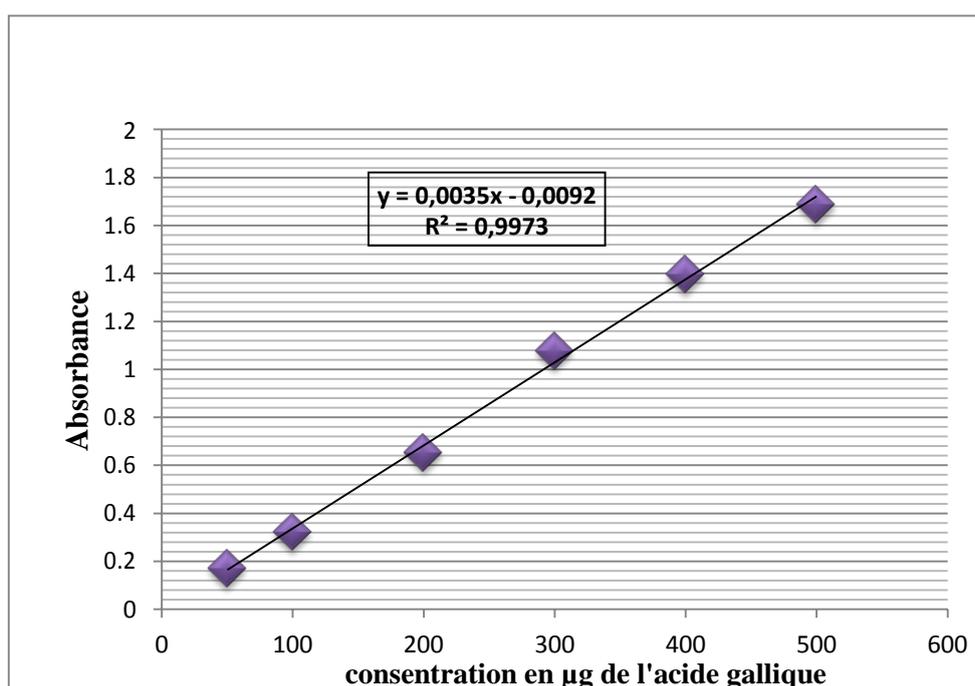


Figure V.7: Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

La valeur de la densité optique (DO) mesurée de chaque échantillon est mentionnée dans le (Tableau V.9).

Tableau V.9 : la DO de l'extrait butanolique.

Tube	Essai 1
DO (nm)	0.165

Le pourcentage des composés polyphénolique indiqué dans le **Tableau V.10** est calculé selon la relation suivante :

$$Y = 0.0035X - 0.0092$$

Tableau V.10: les pourcentages des polyphénols calculés de l'extrait méthanolique *Fagonia microphylla*.

	DOext	Quantité de polyphenols en (mg /g d'extrait)
Essai 1	0.165	49.77

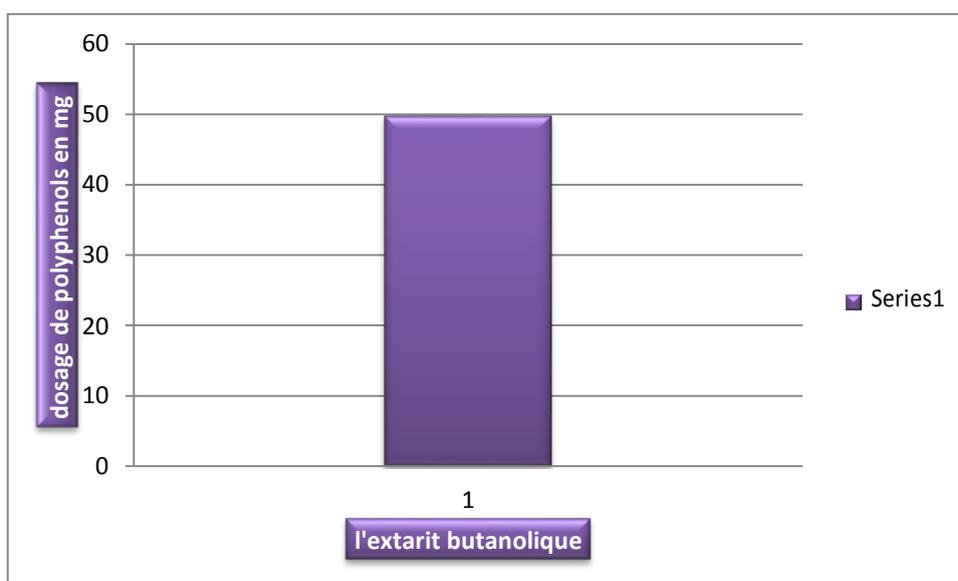
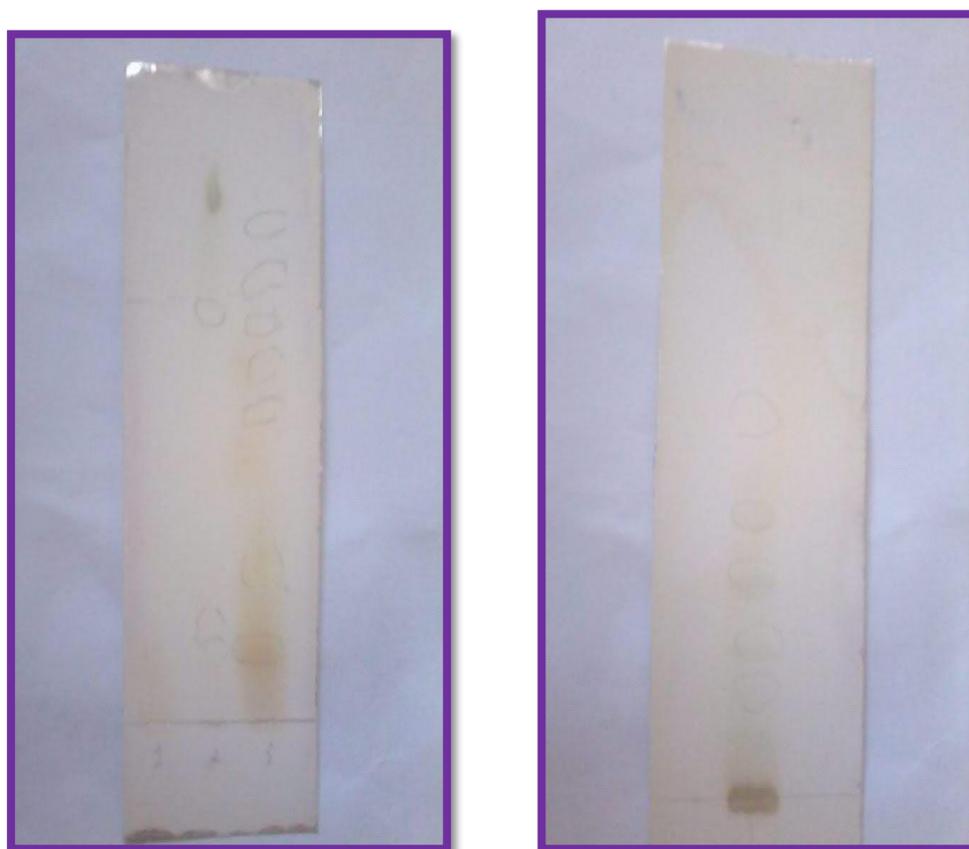


Figure V. 8: Teneur en polyphénols totaux en (mg/g d'extrait)

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que la plante étudiée a présenté une teneur en polyphénols estimée légèrement faible. Après une recherche bibliographique exhaustive, nous n'avons pas trouvé d'articles qui ont étudié le dosage des polyphénols du genre *Fagonia*.

Criblage pharmacologique par CCM

La révélation de la plaque CCM par la solution méthanolique du DPPH est une technique de criblage qui permet l'obtention de renseignements sur l'activité anti-radicalaire (AAR) des différents composants des extraits testés. Les profils chromatographiques indiquent que tous les extraits manifestent une AAR à l'égard du DPPH_ (**Figure V.9**)



- 1-L'extrait méthanolique
- 2- Extrait acétate d'éthyle
- 3-extrait BuOH

L'extrait chloroformique

Figure V.9 : Chromatogramme sur couches minces des extraits de *Fagonia microphylla* après la révélation par le DPPH 0,2 %.

Les résultats du criblage phytochimique des extraits (**Tableau V.8**) et ceux du dépistage de l'AAR (**Figure V.9**) ont permis de déterminer pour chaque zone active (jaune-pâle sur fond violet), le type de métabolite secondaire correspondant. Ainsi, les substances ayant manifesté une AAR dans l'extrait chloroformique sont majoritairement des stérols et des terpènes alors que dans les extraits méthanolique, acétate d'éthyle et butanolique les composés piègeurs du DPPH sont des flavonoïdes.

Il est donc nécessaire de inscrire que la propriété antioxydant révélée chez cette espèce est existante, étant donné leur richesse en métabolites secondaires anti-radicalaires.

Tous les métabolites secondaires bioactifs identifiés dans les différentes drogues sont suspectés d'être à l'origine de leurs nombreuses propriétés pharmacologiques (**Okwu et al.,2010 ; Hossain.,2009 ;Zirihi et al ., 2007; Tra et al., 2008 ; N'guessan et al., 2009**). En effet, les flavonoïdes sont des antioxydants par excellence reconnus (**Harborne et al., 2000 ; Husain et al., 1987 ; D'abrosca et al ., 2007**).

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Ce travail est destiné à étudier les métabolites secondaires de l'espèce endémique *Fagonia microphylla* (Zygophyllaceae), récoltée de la région de Ghardaïa, à la suite de la recherche sur les plantes d'origine Algériennes. Objectif primordial assigné par notre laboratoire, afin de découvrir l'intérêt biologique de ces dernières.

Le criblage phytochimique préliminaire par chromatographie sur CCM, CLHP et par caractérisation par réactions colorées a montré la présence de : flavonoïdes, saponosides, stérols et terpènes et tanins. A l'exception des alcaloïdes, toutes les autres familles chimiques sont présentes.

Le fractionnement de l'extrait butanolique des parties aérienne de *Fagonia microphylla* Pomel a été essentiellement fondé sur l'utilisation conjointe des techniques chromatographiques.

- chromatographie liquide sous vide sur phase inverse C₁₈ (VLC).
- chromatographie sur plaques analytique de silice normale (CCM).

Le dosage des phénols totaux de l'extrait butanolique a révélé des teneurs limitées dans *Fagonia microphylla*.

L'activité antioxydante des extraits chloroformique, méthanolique, acétate d'éthyle, butanolique des parties aériennes de *Fagonia microphylla* Pomel a été évaluée sur CCM, par le test antiradicalaire qui consiste à estimer la capacité du DPPH à piéger les radicaux libres. L'étude a révélé que nos extraits témoignent une activité anti radicalaire favorable, cela est dû au fait de leur richesses en métabolites secondaires telle que les flavonoïdes, saponosides, terpènes.

Partant de ces résultats encourageant il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur *Fagonia microphylla*, afin de mieux identifier et exploiter les métabolites secondaires en générale et les saponosides en particuliers et de déterminer de nouvelles molécules bioactives naturelles ayant la capacité de répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

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

Résumé

Le travail présenté dans ce manuscrit s'inscrit dans la continuité des recherches phytochimiques effectuées par notre groupe de phytochimie affilié au laboratoire (LOST) sur des plantes médicinales poussant dans le nord du Sahara.

À cet effet, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits préparés à partir des parties aérienne de *Fagonia microphylla* Pomel. Plante endémique Algérienne et appartenant à la famille des Zygophyllaceae.

Au moyen de la CLHP, CCM, VLC et réactions colorées, l'identification et la caractérisation de différentes familles de métabolites secondaires ainsi que le dépistage de l'activité antioxydante ont été réalisés.

Mots clés : Zygophyllaceae, *Fagonia microphylla* Pomel, criblage phytochimiques, l'activité anti-radicalaire, CLHP, VLC

Abstract

The work presented in this manuscript is a part of our ongoing program of the phytochemical researches conducted on medicinal plants growing in the regions of Sahara of Algeria by our phytochemistry group affiliated to the laboratory (LOST).

In this effect, we were interested on the phytochemical study and the evaluation of the antiradical activity of the extracts prepared from the aerial parts of *Fagonia microphylla* Pomel. Algerian endemic plant belongs to the Zygophyllaceae family.

By means of HPLC, TLC, VLC together with color reactions tests, identification and characterization of different families of secondary metabolites as well as tracking of antioxidant activity have been achieved.

Key words: Zygophyllaceae, *microphylla* Pomel, phytochemical screening, antiradical activity HPLC, VLC.

الملخص

يعتبر العمل المؤدم في هذا البحث اسمرارية للدراسات النيتوكيمياء التي أجريت من قبل مجموعة من الباحثين التابعون لمخبر التحصل علي المركبات العالجية (LOST) علي النباتات الطبية التي تنمو في شمال صحراء الجزائر.

لهذا الغرض لؤد ركزنا اهمنا للدراسة النيتوكيمياء للنبات الطبية الجزائرية *microphylla Fagonia* المنتمية لعائلة Zygophyllaceae وكذلك فحص النواعلية المضادة للجذور الحرة لمختلف مستخلصات النبتة.

باسخدام HPLC CCM, VLC و النواعالت الوزنية النوعية اسطعنا سحديد مختلف المركبات الثانوية.

ثم كذلك فحص النواعلية المضادة للجذور الحرة لمستخلصات خالت الئبل ، بوتانول و ميثانول بواسطة اختبار DPPH.

كلمات البحث : Zygophyllaceae ، *Fagonia microphylla* الفحص النيتوكيمياء، مضاد للجذور الحرة

HPLC ، VLC ، CCM.



Références Bibliographique

Références Bibliographique

A

- Abdel Khalik SM., Miyase T, El- Ashaal H, Melek FR. (2000). Triterpenoid saponins from *Fagonia cretica*. *Phytochemistry*. **54**: 853–859.
- Abou-Gazar, H., Bedir, E., Takamatsu, S., Ferreira, D., Khan, I.A. (204). Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*. **65**: 2499–2505.
- Acker, V., Van Den Berg, D., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., Van Der Vijgh, W.J.F and Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic, Biol. Med.* **3**: 331-342.
- Album Sahara nature plante/zygophyllaceae/Fagonia microphylla. www.sahara-nature.com/album/index.../index.php?/Fagonia_microphyllac. consulté le 6/4/2016.
- Aliaga, C., Lissi, A. (2004). Comparison of the free radical scavenger activities of quercetin and rutin-an experimental and theoretical study. *Can. J. Chem.* **12**: 1668-1673.
- Aruoma OI., PhD., DSc., MBA., FRSC. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition, *Asia Pacific J Clin Nutr.* **1**: 53-63.
- Atta, A.H., Mouneir, S.M. (2004). Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. *J Ethnopharmacol.* **92**: 303–309.

B

- Babayi, H., Kolo, I and Okogum, J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistry.* **2**: 102-5.

Références Bibliographique

- Baker, J.T., Borris, R.P., Carte, B., Cordell, G.A., Soejarto, D.D., Cragg, G.M., Gupta, M.P., Iwu, M.W., Madulid, D.R., Tyler, V.E. (1995). Natural products drugs discovery and development new perspectives on international collaboration. *Journal of Natural Products*. **58**: 1325-1357

- Basile., S, Giordano., J, Lopez Saez and B, Cobianchi. (1999). Antibacterial activity of pure flavonoïds isolated from mosses. *Phytochem*. **8**: 1419-82.

- Beier, B.A. (2003). Phylogeny and taxonomy of subfamily Zygophylloideae (Zygophyllaceae) with special reference to the genus *Fagonia*. Acta Univ. Ups; Uppsala: 2.

- Beier, B.A., Nylander, J.A.A., Chase, M.W., Thulin, M. (2004). Phylogenetic relationships and biogeography of the desert plant genus *Fagonia* (Zygophyllaceae), inferred by parsimony and Bayesian model averaging. *Mol. Phylogenet. Evol.* **33**: 91–108.

- Berrougi,H.,MartinCordero,C.,Khalil,A.,Hmamouchi,M.,Ettaib,A.,Marhuenda,E.,Dolores, H.M.(2006). Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extrated from *Peganum Harmala* L. seed's isolated rat. *Pharmacol Res Commun*. **54**: 150-157.

- Betina-Bencharif .S. (2014) isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire, thèse de doctorat en Biotechnologie végétale université de Constantine.

- Bishnu ,P.C., Zeev,W., Leah,T. (Lahkim).(2007). In vitro study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Ind Crops Prod*. **26**: 109–115.

- Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. thèse pour le doctorat chimi, Université Mohamed Khider – Biskra.

Références Bibliographique

- Boumaza, A. (2009). Effet de l'extratmethanolique de zygophyllum cornutumcoss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie cellulaire et moléculaire Option: Toxicologie cellulaire et moléculaire. Université Constantine.
- Brent, J. (1999). Three new herbal hepatotoxic syndromes. *J Toxicol & Clin Toxicol.* **37**: 715–719.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition. Editions médicales internationales, éditions Tec et Doc.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4 ème édition, Lavoisier, Paris, France.

C

- Chen, C-N ; Weng, M.S , WU ,C-L; Lin ,J-K.(2004). Comparison of radical scavenging Activity, Cytotoxic Effectes and Apoptosis Introduction in Human Melanom Cells by Tawanse Propolis from Different Sources. *Ecam.* **2**:175-185.
- Choi, H., Song, J and Park, K. (2009). Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur. J. Pharm. Sci.* **37**: 329-33.
- Chopra, RM., Handa, K.L., Kapur, L.D., Chopra, I.C. (1982). *Indigenous Drugs of India*, 2ème edition. Academic Press, New Delhi, India, 507.
- Chrebil, L. 2006. Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle. Thèse de Doctorat : Institut national polytechnique de LORRAINE.

Références Bibliographique

- Cuendet, M ; Hostettman,K ;Potterat,O. (1997). iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fragarea blumei*. *Helv. Chim. Acta.* **80**: 1144-1151.
- Cushnie,T., Hamilthoh,V and Lamb, A. (2003)Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res.* **4**: 281-9.

D

- Dadi, P., Ahmad ,M and Z., Ahmad. (2000). Inhibition of ATPase activity of Escherichia coli ATP synthase by polyphenols. *J Biol. Macromol.* **1**: 72-9.
- D'abrosca, D., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone C. & Fiorentino, A. (2007). 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar : Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food chemistry.* **104**: 1333-1337.
- Densiov, ET., Afanas'ev IB. (2005). IN: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. *Taylor & Francis G (U.S.A).* : 703-861.
- Dewick, P. M. (2002). Medicinal natural products A biosynthetic approach. 2ème Ed. wiley.
- Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.
- Didrak, M. (1999). Antimicrobial activities of the extracts of various plants (Valex, Mimosa bark, Gallnut powders, Salvia sp and Phlomis sp). *J Biol.* **23**: 241-8.
- Duke, J.A. (1983).Medicinal Plants in the Bible. Trado-Medic Books, New York, Chapter. **28**.

E

- El-Wakil, E. (2007). Phytochemical and Molluscicidal Investigations of *Fagonia arabica*. *Z. Naturforsch.* **62**: 661–667.

F

- Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *AC.* : 108-115.
- Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.

G

- Gueye, P. M. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. thèse pour le doctorat Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur , Strasbourg.
- Gulcin, I., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R. (2004). Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Med.* **70** : 561–563.

H

- Hadj Salem, J. (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voies enzymatique. Thèse pour l'obtention de grade de Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine. Université- INPL Nancy.

- Harbone, J.B. (1993). Introduction to ecological biochemistry. 4ème édition, Academic Press, London, England.

- Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. **6**: 481-504.

- Haralampidis, K., Trojanowska, M., Osborn, A. E. (2002). Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **75**: 31–49.

- Haton, C. (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France.

- Heim, K., Tagliaferro, A.R and Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutri. Biochem.* **10**: 572-584.

- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. **1**: 3-6.

- Hossain M. M. (2009). (Bangladesh) Traditional Therapeutic Uses of Some Indigenous Orchids of Bangladesh: 100-106. In *Agriculture and forestry 24: Medicinal and Aromatic Plant V*, Ed: Y. P. S Bajaj Springer-Verlag.

Références Bibliographique

- Hostettman, K. A., Marston, A. (1995). Chemistry and pharmacology of natural products .Cambridge University, Press, Cambridge, UK.
- Huang, H. C., Liao, S. C., Chang, F. R., Kuo, Y. H., Wu, Y. C. (2003). Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of golden apple snails, *Pomacea canaliculata*. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 4916–4919.
- Husain, S. R., Cillard, J., Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry.* **26**: 2489-2492

I

- Ilic, S., Konstrantinovic, S and Z, Todorovic. (2004). Antimicrobial activity of bioactive component from flower of *Linum capitatum* Kit. *Physics Chem. Technol.* **1**: 73-7.

J

- James, D.M., Sylesh, K.V., John, T.H. (2007). Plant natural products: Back to the future or into extinction. *Phytochemistry.* **68**: 2015-2022.
- Jaouhari, J.T., Lazrek, H.B., Jana, M. (2000). The hypoglycaemic activity of *Zygophyllum gaetulum* extracts in alloxan-induced hyperglycaemic rat. *J Ethnopharmacol.* **69**:17-20.

K

- Kasture, V.S., Gosavi, S.A., Kolpe, J.B., Deshapand, S.G. (2014) *J. Pharm.Sc.* **3**: 1206.
- Lin, T.D., Kondo, N., Shoji, J. (1976). *Chem. Pharm. Bull.* **24**: 253.
- Kay, M. (1996). *Healing with Plants in the American and Mexican West*. University of Arizona Press, Tucson.
- Kokwano, J.O. (1976). *Medicinal plants of East Africa*. Literature Bureau. Dar er Salaam, Kampala, Nairobi, Chapter **34**.
- Kuster,R., Arnold, N and L. (2009). *Wessjohann, Anti-fungal flavonoids from Tibouchina grandifolia*. *Biochem. Syst. Ecol.* **1**: 63-5.

L

- Lambert,J.D., Sang,S., Dougherty,A., Caldwell,C.G., Meyers,R.O., Dorr, R.T., Timmermann, B.N.(2005). Cytotoxic lignans from *larrea tridentata*. *Phytochemistry.* **66**: 811-815.
- Laurence, G.H.M. (1951).*The taxonomy of Vascular Plants*. The Macmillan Company, New York.
- Leitao ,G.G ; Leitao,S.G ; Vilegac, W.(2002). Qiuck preparative separation of Natural Naphathopyranones with antioxidant Activity by High-Speed Counter-Current Chromatography. *Z.Natuforsch.* **57**:1051-1055.

Références Bibliographique

- Lhuillier, A. (2007) Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
- Liu, H., Nakanishi, K. (1982). The structures of balanitins, potent molluscicides isolated from *Balanites aegyptiaca*. *Tetrahedron*. 38: 513–519.
- Luthar, Z (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seed (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*. 12: 36-42.

M

- Maiza, K., Hammiche, V., Brac de la Perrière, R.A. (1993). Traditional saharian pharmacopoeia. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), *ISHS Acta Horticulturae 332: WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference*. Maastricht, Netherlands (CR-rom).
- Maksoud, S.A., El Hadidi, M.N. (1988). The flavonoids of *Balanites aegyptiaca* (Balanitaceae) from Egypt. *Plant. Syst. Evol.* 160: 153-158. *Plant Syst. Evol.*
- Marfak, A. (2003) .Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issue des Alcool : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université-Limoges, Ecole Doctorale Sciences Biologie Sante, Faculte de Pharmacie.
- Martini, D., Katerere and J, Eloff. (2004). Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. *J Ethnopharmacol.* 2: 207-12.
- Mates, J. M., Perez-Gomez, C., Nunez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *ClinBiochem.* 32: 596.
- Meng, X.L., Riordan, N.H., Casciari, J.J., Zhu, Y., Zhong, J., Gonzalez, M.J., Miranda-Massari, J.R., Riordan, H.D. (2002). Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis. *PR Health Sci J.* 21: 323–328.

Références Bibliographique

- Milane, H., La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- Miyase, T., Melek, F.R., El-Gindi, O.D., Abdel-Khalik, S.M., El-Gindi, M.R, Haggag, M.Y. (1996). Saponins from *Fagonia arabica*. *Phytochemistry*. 41: 1175.
- Modak, B. (2001). Actividad antibacteriana de flavonoïdes aïslados des exudado resinod de *Heliotropium sinnuatum* : Efecto del tipo de estructura. *Bol. Soc. Quin.* 1: 366-421.
- Mohmoodally, M.F. (2013). Traditional medicines in Africa: an appraisal of ten potent African medicinal plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* .6: 1-14.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarín J.Sci. Technol.*2: 211-219.
- Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M. (1998). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. *INRA*, Paris, France.

N

- N'guessan, K., Tiébré, M-S., Aké-Assi, E., Zirihi, G. N. (2009). Ethnobotanical Study of Plants Used to Treat Arterial Hypertension, in Traditional Medicine, by Abbey and Krobou Populations of Agboville (Côte-d'Ivoire), *Eur. J. Sci Res.* 1: 85-98.

O

- Okigbo, R., Mbajinka, C and Njoku, C. (2005). Antimicrobial potentials of (*UDA*) *Xylopiya aethopica* and *Occinum gratissimum* L. some pathogenous of man, *J Mol. Med. Adv. Sci.* **4**: 392-7.
- Okwu, D. E., Ukanwa, N. (2010). Isolation, Characterization and Antibacterial Activity Screening of Anthocyanidine Glycosides from *Alchornea Cordifolia* (Schumach. and Thonn.)Mull. Arg. Leaves. *Eur.J. Chem.* **1**: 41-48.
- Ortuno, A., Baidez, P., Gomez, M., Arcas, I., Porras, A., Garcia-Lidon and J. Del Rio. (2006). Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem.* **2**: 351-8.

P

- Pareek, A; Batra, N; Goyal, M; Nagori, B, P. (2012). Phytochemicals and biological activities of *Fagonia indica*. *I.R.J.P.* **6**: 56.
- Pastre, J. (2005). interet de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. thèse pour le doctorat vétérinaire, l'université paul-sabatier de toulouse
- Perrone, A., Masullo, M., Bassarello, C., Hamed, A., Belisario, AM., Pizza, C., Piacente, S. (2007). Sulfated Triterpene Derivatives from *Fagonia arabica*. *J. Nat.Prod.* **70**: 584.
- Pettit, G.R., Doubek, D.L., Herald, D.L., Numata, A., Takahasi, C., Fujiki, R., Miyamoto, J. (1991). Isolation and structure of cytostatic saponins from the African medicinal plant *Balanites aegyptica*. *J. Nat. Prod.* **54**: 1491–1502.

Références Bibliographique

- Poey,J., Elsair, J., Denine, R. (1977). Hypoglycemic effects of a sahara plant (*Zygophyllum cornutum*) in normal un fed rabbit. *J Physiol.* **73**: A53-A53.
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *C.N.R.S.Paris.* **1**: 588.

R

- Ribereau-Gayon, P. (1968). Notion générales sur les composés phénoliques .In «Les composés phénoliques des végétaux ». Ed : Dunod. 1-27.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* **20**: 933-956.
- Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., Brinkman, U. A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chromatogr.* **2**: 31–63.
- Rodilla, J.M., Silva , L.A., Martinez, N., Lorenzo, D., Davyt,D. (2011). Advances in the identification and agrochemical importance of sesquiterpenoids from *Bulnesia sarmientoi* essential oil. *Food and Chem Toxicol.* **33**: 497–503.
- Roland,D. (2005). Les plantes supérieures : divines et / ou diaboliques, Les débis scientifiques du 21^{eme} siècle, Conférences et débats.
- Rolo-Naranjo, A., Rebollido-Rios, R., Melchor-Rodriguez, K., Codorniu-Hernández, E. (2009). Pseudo-phase portrait applied to pattern recognition in flavonoid–protein interactions. *Appl.Math.Comput.* **215**: 156–167.

S

- Saeed MA, Sabir AW. (2003) Effects of *Fagonia cretica* L. constituents on various haematological parameters in rabbits. *J Ethnopharmacol.* **85**: 195–200.

- Saija, A., Scalese M., Lanza M., Marzullo D., Bonina F., Castelli F. (1995). Flavonoids as antioxidant agents importance of their interaction with biomembranes . *Free Radic. Biol. Med.* **19**:481-486.

- Scapagnini, G., Butterfield, D.A., Colombrita, C., Sultana, R., Pascale, A., Calabrese, V. (2004). Ethyl ferulate, a lipophilic polyphenol, induces HO-1 and protects rat neurons against oxidative stress. *Antioxid & Redox Sign.* **6**: 811-818.

- Seeman, P., Cheng, D., Iles, G. H., (1973). Structure of membrane holes in osmotic and saponin hemolysis. *J. Cell. Biol.* **56**: 519–527.

- Sheahan, M.C., Chase, M.W. (1996). A phylogenetic analysis of Zygophyllaceae based on morphological, anatomical and rbcL DNA sequence data. *Bot. J. Linn. Soc.* **122**: 279–300.

- Sheahan, M.C., Chase, M. W.(2000). Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. *Syst. Bot.* **25**: 371–384.

- Shoeb, H.A.; Sharada, M.M.; El-Sayed, L.A.R. and El-Wakeel, E. (1994). Triterpenoid and Sterol glycosides from *Fagonia arabica* L. *Al-Azhar J. Pharm. Sci.* **13**: 41-48.

- Slavica, B., Ilic, S and Zoran, B. (2004). Flavonoids from flower of *Linum capitatum* kit. *Phys. Chem. Technol.* **3**: 67-71.

Références Bibliographique

- Smati, D., A. Longeon and M, Guyot. (2004). "3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara. *J Ethnopharmacol.* **95**: 405-407.

- Sokol-Letowska A., Oszmianski J., Wojdylo A. (2007). Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn pine and skullcap. *Food chemistry.* **103**:853-859.

- Sparg, S. G., Light, M. E., Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.* **94**: 219–243.

- Spedding, G., Ratty, A and Middleton, E. (1989). Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids . *Antiviral Res.* **2**: 99-110.

- Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M.C., Dall' Acqua,S., Govoni, P. (2005). Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *J Ethnopharmacol.* **98**: 117–125.

T

- Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H.,Lyoussi, B.(2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *J Ethnopharmacol.* **110**:105–117.

- Takhtajan, A. (1996). Diversity and classification of flowering plants. Columbi University Press. New York.

Références Bibliographique

- Tanguy, J. (1971). Quelques aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les *Nicotina hypersensible* au virus de la mosaïque du tabac souche commune (V.M.T). *Physiol.vég.* **2**:169-187.
- Tbahriti, H.F ; Messaoudi, A ; Kaddous, A ; Bouchenak, M ; Mekki, K.(2014). Le degré de l'insuffisance rénale chronique est associé aux taux de cytokines pro-inflammatoires, à l'hyperhomocystéinémie et au stress oxydant. *Ann. Cardiol .Angéiol.* **63**: 135–139.
- Tra Bi, F. H., Irié, G. M., N'gaman, K. C. C., Mohou C. H. B. (2008). Études de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire, *Sci & Nat.* **1** : 39-48.

U

- Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G and, Wegrzym,G. (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* **5**: 271-8.

V

- Vincken, J. P., Heng, L., De Groot, A., Gruppen, H. (2007). Review Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry.* **68**: 275–297.

W

- Whitford, W.G., Nielson, R., De Soyza, A. (2001). Establishment and effects of creosote bush, *Larrea tridentata*, on a Chihuahuan Desert watershed. *J Arid Environ.* **47**: 1–10.
- Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol.* **126** : 485–493.

Y

- Yu, B., Tao, H., (2002). Glycosyl trifluoroacetimidates. 2. Synthesis of dioscin and Xiebai saponin. I. *J. Org. Chem.* **67**: 9099–9102.
- Yves Le Drean M. (2012). Relation entre métabolisme énergétique, cancer, et vieillissement. Master Biologie Gestion, Université de Rennes 1

Z

- Zirih G. N., Datté J. Y., Kra-Adou K. M., Grellier P. (2007). Phytochemical and pharmacological studies of alcoholic extract of *Fagara macrophylla* (Oliv) Engl (Rutaceae): chemical structure of active compounds inducing antipaludic activity, *J. Chin. Clin. Med.* **4**: 205-210.

Investigation phytochimique d'une plante médicinale Algérienne de la famille des Zygophylaceae

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et santé

Résumé

Le travail présenté dans ce manuscrit s'inscrit dans la continuité des recherches phytochimiques effectuées par notre groupe de phytochimie affilié au laboratoire (LOST) sur des plantes médicinales poussant dans le nord du Sahara.

À cet effet, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des extraits préparés à partir des parties aérienne de *Fagonia microphylla* Pomel. Plante endémique Algérienne et appartenant à la famille des Zygophylaceae.

Au moyen de la CLHP, CCM, VLC et réactions colorées, l'identification et la caractérisation de différentes familles de métabolites secondaires ainsi que le dépistage de l'activité antioxydante ont été réalisés.

Mots clés : Zygophylaceae, *Fagonia microphylla* Pomel, criblage phytochimiques, l'activité anti-radicalaire, CLHP, VLC.

Laboratoire de recherche : laboratoire d'Obtention de Substance Thérapeutique

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BERREHAL Djemaa (MCA - UFM Constantine),

Rapporteur : Mme BOUTAGHANE Naima (MCB - UFM Constantine),

Examineur : Mme KHALFALLAH Assia (MCB - UFM Constantine).

Date de soutenance : 26/06/2016