



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Etres vivants

MEMOIRE présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Option: Biotechnologie des plantes médicinales

Thème

**Comparaison des teneurs phénoliques et leurs pouvoirs
antioxydants chez deux populations de *Thymelaea hirsuta* Endl.
de la région de Tébessa**

Présenté par

CHAIB Faouzi

HAFFAD Ammar

Devant le jury

M ^{me} . SEGHEIR Hanen	MAA	Université de Tébessa	Présidente
M ^{me} HIOUN Soraya	MAA	Université de Tébessa	Promotrice
Mr. DEKAK Ahmed	MAA	Université de Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 31/05/2017

Note :Mention :

Remerciements

En premier lieu et avant tout, louange à Dieu le tout puissant qui nous a aidé à réaliser ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à M^{me} HIOUN.S, qui a accepté de diriger ce travail, pour ses conseils et son aide à plusieurs reprises.

Nos sincères remerciements vont également à tous les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre reconnaissance et remerciements à toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Résumé

Cette étude est une comparaison des composés phénoliques de *Thymelaea hirsuta* de deux régions semi-arides, Bekkaria et Bir El Ater de la wilaya de Tebessa ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante. La région de Bir El ater est plus sèche en comparaison à Bekkaria.

Une analyse pédologique a été effectuée ainsi que différents dosages tels que les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les flavonoïdes aglycones, les tanins condensés et les anthocyanes.

La comparaison des deux régions fait ressortir que *T.hirsuta* de la zone de Bakkaria a des valeurs plus élevées en flavonoïdes et celle de la zone de Bir El Ater, est plus riche en anthocyanes. Cependant pas de différences significatives pour les polyphenols totaux, les Flavonoides aglycones et les tanins. Le pouvoir antioxydant par réduction de fer (FRAP) a montré un bon pouvoir anti oxydant pour *T.hirsuta* de Bir El Ater.

Mots clés : *Thymelaea hirsuta*, Composés phénoliques, biotope, activité antioxydante.

Abstract

This study is a comparison of the phenolic compounds of *Thymelaea hirsuta* from two semi-arid regions Bekkaria and Bir El Ater of the Tebessa wilaya as well as the evaluation of their antioxidant activity. The region of Bir El ater is drier in comparison with Bekkaria. A soil analysis was carried out as well as various assays such as total polyphenols, flavonoids, flavonoids aglycones, condensed tannins and anthocyanins.

The comparison of the two regions shows that *T.hirsuta* in the Bakkaria zone has higher flavonoid values and that in the Bir El Ater zone is richer in anthocyanins. However, there were no significant differences for total polyphenols, aglyconic Flavonoids and tannins. The iron reduction antioxidant power (FRAP) showed good antioxidant power for *T.hirsuta* of Bir El Ater.

Key words: *Thymelaea hirsuta*, Phenolic compounds, biotope, antioxidant activity.

ملخص

هذه الدراسة هي مقارنة بين المركبات الفينولية لـ *Thymelaea hirsuta* لمنطقتين شبه جافتين، بكارية وبئر العاتر بولاية تبسة وكذا تقييم القدرة المضادة للأكسدة. منطقة بئر العاتر أكثر جفاف مقارنة بكارية. اجرينا تحليلا للتربة وكذا تحديد الكميات لكل من: البولي فينول الاجمالي، الفلافونويدات، الفلافونويدات اقليكون، التانات المكثفة والانتوسان. المقارنة بين المنطقتين أثبتت أن *Thymelaea hirsuta* لمنطقة بكارية لها كميات أكبر من الفلافونويدات، وكذا غنية بالانتوسيان. في حين لم نلاحظ اختلاف بالنسبة للبوليفونول الاجمالي، الفلافونويدات اقليكون والتانات. القدرة على الأكسدة عن طريق انخفاض الحديد أثبت القدرة الجيدة لـ *Thymelaea hirsuta* لمنطقة بئر العاتر.

الكلمات المفتاحية: *Thymelaea hirsuta* ، المركبات الفينولية بيوتوب، نشاط مضادات الأكسدة

Table des matières

Résumé	i
Abstract	ii
ملخص	iii
Table des matières	iv
Liste des figures	v
Liste des tableaux	vi
Liste des abréviations	vii
Introduction	01
Chapitre I : Partie bibliographique	03
1. <i>Thymelaea hirsuta</i>	04
1.1. Répartition géographique	04
1.2. Position systématique et nomenclature	04
1.3. Description botanique	05
1.4. Composition chimique de genre <i>Thymelaea</i>	05
1.5. Quelques activités biologiques reconnues	07
1.6. Effet toxique des plantes de la famille Thymelaceae	07
2. Les composés phénoliques	08
2.1. Généralités	08
2.2. Classe des polyphénols	08
2.2.1. Les Flavonoïdes	09
2.2.2. Anthocyanosides	10
2.2.3. Tannins	10
2.2.3.1. Tannins hydrolysables	10
2.2.3.2. Tannins condensés	11
2.2.4. Phénols simples et les acides phénoliques	12
2.2.4.1. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque	12
2.2.4.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique	12
2.2.4.3. Phénols simples	12
2.2.5. Coumarines	12
2.2.6. Quinones	13
2.2.7. Stilbènes	13
2.2.8. Lignanes	13
2.3. Biosynthèse des composés phénoliques	13
2.4. Rôle et propriétés physiologiques des polyphénols	15
2.4.1. Localisation et rôle dans les plantes	15
2.4.2. Influence de l'environnement sur la synthèse des composés phénoliques	15
2.4.2.1. Lumière	15
2.4.2.2. Température	16
2.4.2.3. Nutrition minérale	18

3. Pouvoir antioxydant des composés phénoliques	19
3.1. Définition	19
3.2. Radicaux libres et pouvoir antioxydant	19
3.2.1. Origine de production des ERO	19
3.2.2. Dommages oxydatives des radicaux libres	20
3.3. Moyens de défense contre les radicaux libres	22
3.3.1. Prévention à plein temps	22
3.3.2. Détoxification active suite à une attaque oxydante	22
3.3.2.1. Super oxyde dismutase (SOD)	22
3.3.2.2. Catalase.....	23
3.3.2.3. Glutathion peroxydase	23
3.3.3. Détoxification passive.....	23
3.3.3.1. Vitamine E (tocophérol)	23
3.3.3.2. Vitamine C (acide ascorbique).....	23
3.3.3.3. Caroténoïdes	23
3.3.3.4. Acide lipoïque	24
3.3.3.5. Alumine	24
 Chapitre II : Matériel et méthodes	25
1. Matériel végétal	26
2. Situation géographique des stations d'étude	26
2.1. Bir el-Ater	26
2.2. Bekkaria.....	26
3. Méthodes d'analyses	28
3.1. L'enquête ethnobotanique	28
3.2. Caractéristiques pédologiques	28
3.3. Préparation de la matière végétale	28
4. Analyses physico-chimiques.....	28
4.1. Teneur en cendre et en matière organique.....	28
4.2. Le screening phytochimique.....	29
4.2.1. Recherche des flavonoïdes.....	29
4.2.2. Recherche des leucoanthocyanes.....	29
4.2.3. Recherche des quinones.....	29
4.2.4. Mise en évidence des anthocyanes.....	29
4.2.5. Recherche des tanins.....	29
4.2.6. Recherche des stéroïdes.....	30
4.2.7. Recherche des terpenoïdes.....	30
4.2.8. Recherche des coumarines.....	30
4.2.9. Recherche des alcaloïdes.....	30
5. Extraction des composés phénoliques.....	31
6. Dosages.....	31
6.1. Dosage des polyphénols totaux.....	31
6.2. Dosage des flavonoïdes.....	32
6.3. Dosage des flavonoïdes aglycones.....	32

6.4. Dosage des anthocyanes	32
6.5. Dosage des Tanins condensés.....	33
7. Activité antioxydante ; Réduction de fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)	33
7.1. Principe	33
7.2. Procédure expérimentale	33
8. Analyse statistique.....	34
Chapitre III : Résultats et discussion.....	35
1. Résultats	36
1.1. Enquête ethnobotanique.....	36
1.2. Données climatiques des deux zones d'études	37
1.2. Analyse pédologique.....	37
1.3. Analyses physico-chimiques	38
1.3.1. Taux de Cendres	38
1.3.2. Rendements des extraits bruts	39
1.4. Analyses phytochimiques qualitatives et quantitatives.....	39
1.4.1. Analyse qualitative.....	39
1.4.2-.Analyses quantitatives.....	40
1.4.2.1. Teneurs en polyphénols totaux	40
1.4.2.2. Teneur en flavonoïdes.....	41
1.4.2.3. Teneur en anthocyanes	42
1.4.2.4. Teneur en flavonoïdes aglycones.....	43
1.4.2.5. Teneur en tanins condensés.....	44
1.4.3. Test de l'activité anti oxydante Réduction de fer (FRAP).....	45
2. Discussion générale	48
Conclusion.....	52
Références bibliographiques.....	53
Annexes.....	62

Liste des figures

Figure 01 : Structure des anthocyanosides	10
Figure 02 : Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)	11
Figure 03 : Biosynthèse des composés phénoliques	14
Figure 04 : Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes	21
Figure 05 : Structure de l'acide lipoïque et l'acide dihydrolipoïque	24
Figure 06 : Différentes parties de la plante <i>Thymelaea hirsuta</i>	26
Figure 07 : Situation géographique des stations d'étude	27
Figure 08 : Pourcentages des réponses d'enquête ethnobotanique	36
Figure 09 : Le taux de Cendres des plantes des deux zones.....	38
Figure 10 : Rendements des extraits bruts des différentes parties végétales des deux zones.....	39
Figure 11 : Teneurs en polyphénols totaux des parties végétales de <i>Thymelaea hirsuta</i> des deux zones	40
Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes dans les deux zones des différentes parties végétales	41
Figure 13 : Teneurs en anthocyanes totaux dans les deux zones	42
Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes aglycones dans les deux zones et les parties végétales	43
Figure 15 : Teneurs en tanins condensés dans les deux zones et les parties végétales	44
Figure 16 : L'activité anti oxydante des différentes parties végétales dans les deux zones testée par FRAP	45

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Position systématique de <i>Thymelaea hirsuta</i>	04
Tableau 02 :	Quelques données chimiques sur le genre <i>Thymelaea</i>	06
Tableau 03 :	Propriétés thérapeutiques de quelques espèces du genre <i>Thymelaea</i>	07
Tableau 04 :	Structure des squelettes des polyphénols	09
Tableau 05 :	les caractéristiques physico-chimiques des analyses pédologiques des zones d'étude	37
Tableau 06 :	Analyse de la variance de teneurs en cendre de différentes parties de plante étudiée	38
Tableau 07 :	Analyse de la variance de rendement des extraits phénoliques	39
Tableau 08 :	Résultat de la phytochimie qualitative des différentes parties des plantes	40
Tableau 09 :	Analyse de la variance de teneurs en polyphénols totaux de différentes parties de plante étudiée	41
Tableau 10 :	Analyse de la variance de teneurs en flavonoïdes de différentes parties de plante étudiée	42
Tableau 11 :	Analyse de la variance de teneurs en anthocyane total de différentes parties de plante étudiée	43
Tableau 12 :	Analyse de la variance de teneurs en flavonoïdes aglycones de différentes parties de plante étudiée	44
Tableau 13 :	Analyse de la variance de teneurs en tanins condensés de différentes parties de plante étudiée	45
Tableau 14:	Analyse de la variance de L'activité anti oxydante des différentes parties végétales dans les deux zones testée par FRAP.....	46

Liste des abréviations

AA	Acide ascorbique
Abs	Absorbance
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
Anova	Analyse de la variance
DO	Densité optique
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
FeCl₃	Chlorure ferrique
G	Gramme
HCl	Acide chlorhydrique
H₂O	Eau distillée
H₂SO₄	Acide sulfurique
K₂CrO₃	Chrome de potassium
MeOH	Méthanol
Mg	Milligramme
Mn	Minute
MS	Matière Sèche
N	Normalité
NaOAc	Acétate de Sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Nm	Nanomètre
OMS	organisation mondiale de la santé
<i>T.hirsuta</i>	<i>Thymelaea hirsuta</i>
<i>T. microphylla</i>	<i>Thymelaea microphylla</i>
<i>T. lythroides</i>	<i>Thymelaea lythroides</i>
UV	Ultrat Violet
V/V	Volume / Volume
%	Pourcentage
‰	Pour mille
OMS	Organisation Mondiale de la santé
SOD	Super oxyde dismutase
ERO	Espèces réactives de l'oxygène

Introduction

Les substances naturelles d'origine végétale sont très recherchées en raison de leurs activités biologiques bénéfiques pour la santé. Ces activités comprennent des effets antiviraux, antibactériens, antifongiques, insecticides, antipaludiques, antioxydant et anticancéreux. Se sont des caractéristiques très demandées dans les domaines industriels, pharmaceutiques et agricoles.

Aujourd'hui, l'importance pharmacologique des métabolites végétaux augmente en raison des découvertes continues sur leur rôle et leur potentiel dans les soins de santé, de l'apparition de résistance à certaines classes d'agents anti-infectieux et du problème de sous-développement d'une grande partie de la population mondiale.

Selon l'OMS en 2001, plus de 80% de la population africaine assure les soins de santé par l'utilisation de plantes médicinales par le biais de la médecine traditionnelle, qui est la plus accessible d'un côté économique, géographique et culturel (World Health Organization, 2002).

La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle nécessite la mise au point des substances médicamenteuses végétales. Aujourd'hui, il a été estimé que les principes actifs extraits des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés provenant de 90 plantes différentes (Potterat, 1997).

En Algérie la richesse floristique est considérable. Environ 3000 espèces de plantes y sont comptées, dont 15% sont endémiques (Quezel et Santa, 1963). Ce nombre important de plantes contient des milliers d'espèces présentant divers intérêts, cependant leurs utilisations restent minimisées d'un point de vue chimique et pharmacologique. Ce domaine constitue, un point essentiel dans la recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles bioactives.

Selon bibliographique le genre *Thymelaea* a fait l'objet d'investigations phytochimiques, ce qui a montré une richesse en métabolites secondaires bioactifs notamment des flavonoïdes, des diterpènes, des stérols, des triterpénoïdes et des coumarines. Cependant, les données relatives à *Thymelaea hirsuta* sont très fragmentaires, de même qu'au niveau local.

Delà, la présente étude, réalisée dans deux zones au niveau de la Wilaya de Tébessa : Bekkaria et Bir El Ater a pour but de contribuer à la détermination les composés phénoliques et leurs pouvoirs antioxydants et l'impact du biotope sur la variation des teneurs. Et aussi, participer à réunir le maximum d'informations concernant les usages thérapeutiques pratiqués

par la population locale. En effet, il est très important de traduire ce savoir traditionnel en un savoir scientifique afin de le revaloriser, de le conserver et de l'utiliser d'une manière rationnelle. En Algérie *T. hirsuta* Endl, est recommandée par les herboristes et autres gents dans le traitement de maladies humaines (Leishmanicide, vermifuge, eczéma, hémorroïdes).

Les principales parties de ce travail, sont comme suit :

- ✓ La première partie est consacrée à une étude bibliographique portant sur les composés phénoliques, et leurs pouvoirs antioxydants et la plante d'étude.
- ✓ La deuxième partie, regroupe le matériel et méthodes.
- ✓ La dernière partie expose les résultats obtenus ainsi que la discussion.

Ce travail sera clôturé par une conclusion générale.

Chapitre I : Partie bibliographique

Chapitre I : *Thymelaea hirsuta*

1-1- Répartition géographique

Le genre *Thymelaea* fait partie de 44 genres composés de 500 espèces de la famille de thymelaeacées, il comprend 20 espèces réparties dans les zones Méditerranéennes, et jusqu'en Asie centrale et Pakistan. Son aire de distribution est essentiellement circumméditerranéenne. Elle s'étend cependant à l'ouest au littoral atlantique du sud de l'Espagne, du sud du Portugal et du Maroc nord-occidental. En Afrique du Nord, la limite sud de son aire coïncide à peu près avec la bordure du Sahara (Ozenda, 1991).

Origine : pourtour méditerranéen sur le littoral, dans les steppes semi-aride Afrique saharienne dont Maroc, Tunisie, Lybie et Egypte (ouest d'Alexandrie sur la côte), Israël (Désert du Négev), Espagne et îles Canaries, nord-est de l'Italie en Ligurie (Mohammedi, 2013).

1-2- Position systématique, nomenclature et nom commun

Thymélée hirsute, Passerine hérissée, Passerine hirsute, Passerine cotonneuse, nommée par les anglophones 'Spur flax' ou 'Gnidium', en arabe 'Mathnân', en égyptien 'Mithnan', en Espagne connue sous le nom de 'Aulaga', 'Boja marina' ou encore 'Boalaga' (Ferhat *et al.*, 2010).

La classification botanique de *Thymelaea hirsuta* donnée par Spichiger *et al.*, (2004) dans (Tab.1).

- **Nom Latin:** *Thymelaea hirsuta* (L.) Endlicher., synonymes *Passerina hirsuta* L. *Passerina metnan** Forssk., *Passerina telonensis* Gand (Ferhat *et al.*, 2010).

Tableau 1: Classification de Cronquist (Spichiger *et al.*, 2004).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Malvales
Famille	Thymelaeaceae
Genre	<i>Thymelaea</i>
Espèce	<i>Thymelaea hirsuta</i> L.

1-3-Description botanique

Thymelaea hirsuta (L.) Endl. (= *Passerina hirsuta* L.) est une Thymelaeaceae vivace arbustive susceptible d'atteindre 2-3 mètres de hauteur, est une sous-arbrisseau glycophyte, dioïque à souche ligneuse squamiforme d'un brun clair grisâtre, et une racine principale pivotante, avec un port dressé, compact, évasé, très ramifié, rameaux souples, tomenteux et blanchâtres sont retombants à feuilles persistantes, vert acide à vert franc, très petites (2 à 5 mm) densément imbriquées, coriaces ovoïdes aigues, glabres en dessous, pubescentes-laineuses en dessus ainsi que les tiges. Fleurs minuscules subsessiles (4 à 5mm) au nombre de 2-5, au sommet des rameaux à calice rapidement caduc, jaunâtre, polygame. La plante porte sur des pieds différents soit des fleurs unisexuées soit des fleurs hermaphrodites. Les fruits sont des baies glabres enchâssés dans le calice, akène à graine dure. Consommées par les animaux (dispersion zoochore). La floraison va d'octobre à avril, c'est une plante entomogame (Quezel et Santa, 1963 ; Rameau *et al.*, 2008).

- **croissance** : lente.
- **sol** : sablonneux ou rocailleux, aride et sec.
- **emplacement** : plein soleil.
- **zone** : parfaitement adaptée aux vents, au sel et à la sécheresse (Mohammedi, 2013).

1-4-Composition chimique et utilisation du genre *Thymelaea*

La recherche bibliographique menée sur l'intérêt biologique des espèces du genre *Thymelaea* montre qu'elles ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle (Mekhalfi, 2016).

Le genre *Thymelaea* contient des hétérosides flavoniques, des flavones, terpènes, stigmastérol, daphnoretine, et kaempférol, campestérol et tanins qui donnent des propriétés antihyperglycémiantes qui pourraient avoir une utilisation dans le traitement du diabète (Tab.2) (Dohou *et al.*, 2003).

Des enquêtes ethnobotaniques ont montré que *T. lythroïdes* est très utilisée dans la médecine traditionnelle marocaine pour combattre différents maux : mal de la vessie et des reins, douleurs gastriques et intestinales, rhumatismes, migraines, conjonctivites, otites, certaines mycoses dermiques, traumatismes. Il est traditionnellement utilisé en Tunisie comme antiseptique, anti-inflammatoire et pour le traitement de l'hypertension. Au Maroc, la partie aérienne de *T. hirsuta* est utilisée comme décoction dans le traitement du diabète (Djeridane *et al.*, 2006).

Par contre, en Algérie, *T. hirsuta* Endl. Il est recommandé par les herboristes dans le traitement de maladies humaines (Leishmanicide, vermifuge, eczéma) dans la région de M'Sila (Mekhalfi, 2016).

Tableau 02: Quelques données chimiques sur *Thymelaea hirsuta* (Dohou *et al.*, 2003)

Organes étudiés	Molécules extraites
Feuilles	thymélol ((C ₃ H ₂ O) _n)
Feuilles	stigmasterol, β-sitosterol, alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆
-	alcane en C ₂₇ à 31, alcanols en C ₂₂ , 24, 26 et 28, β-sitostérol et campestérol
-	daphnorine, daphnorétine, daphnine, daphnétine, daphnétine-glucoside, ombelliférone, scopolétine et esculétine (coumarines)
Feuilles	2-vicénine (C-flavone)
Feuilles	tiliroside (3- <i>p</i> -coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol)
Feuilles	lupéol, β-sitostérol, phytol, β-amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol
Feuilles et Brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy-résiniféronol
Feuilles et brindilles	gnidicine, gniditrine, genkwadaphnine, 12-Oheptadécenoyl-5-hydroxy-6,7-époxyrésiniféronol-9,13,14-orthobenzoate et 12-Obutényl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14-orthobenzoate (diterpènes daphnane)
Racines	daphnorétine (éther de dicoumaryl)
Feuilles	Tanins

1-5- Quelques activités biologiques reconnues

L'activité et l'effet biologique de quelques espèces du genre *Thymelaea* sont résumés dans le tableau 03:

Tableau 03. Quelques données chimiques sur *Thymelaea hirsuta* (Dohou *et al.*, 2003).

Organes étudiés	Molécules extraites	Références
Feuilles	thyméol ((C ₃ H ₂ O) _n)	Saleh <i>et al.</i> , 1965
Feuilles	stigmastérol, β -sitostérol, alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆	Gharbi <i>et al.</i> , 1970
-	alcane en C ₂₇ à C ₃₁ , alcanols en C ₂₂ , C ₂₄ , C ₂₆ et C ₂₈ , β -sitostérol et campestérol	Rizk <i>et al.</i> , 1984
Feuilles	2-vicénine (C-flavone)	Nawwar <i>et al.</i> , 1977
Feuilles	tiliroside (3- <i>p</i> -coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol)	Ismail, 1978
Feuilles	lupéol, β -sitostérol, phytol, β -amyrine, bétuline, erythrodiol, cholestérol et lanostérol	Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980
Feuilles et Brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy-résiniféronol	Rizk <i>et al.</i> , 1984
Feuilles et brindilles	gnidicine, gniditrine, genkwadaphnine, 12-Oheptadécenoyl-5-hydroxy-6,7-époxyrésiniféronol-9,13,14-orthoate et 12-Obutényl-5-hydroxy-6,7-époxy-résiniféronol-9,13,14-orthoate (diterpènes daphnane)	Brooks <i>et al.</i> , 1990
Racines	daphnorétine (éther de dicoumaryl)	Abou-Karam <i>et al.</i> , 1998

1-6- Effet toxique des plantes de la famille Thymelaceae

La famille des Thymelaeaceae comprend environ 500 espèces d'arbres et arbustes généralement toxiques. Elle est répartie dans toutes les régions tempérées et tropicales de la planète. Elle a été reconnue aux fleurs tubulaires essentiellement sépalaires de ses membres (Van der Bank *et al.*, 2002).

Les espèces les plus couramment associées à des intoxications font partie des genres *Daphne*, *Daphnopsis*, *Gnidia*, *Lasiosiphon*, *Pimelea* et *Wikstroemia*. Les organes les plus souvent mis en cause sont les baies, les feuilles et l'écorce, la toxicité des Thymelaeaceae est d'une importance économique considérable en dehors des dégâts qu'elle peut occasionner à l'industrie du bétail. En effet, de nombreux genres sont utilisés comme poisons de pêche en Europe, en Afrique, en Asie et dans les îles du Pacifique 45 Sud. Certains genres sont aussi d'efficaces poisons de chasse employés en Afrique et en Asie. Il est également relevé que des cas d'empoisonnements humains criminels ont été rapportés, particulièrement en Afrique (Borris *et al.*, 1988).

Chapitre II : Les composés phénoliques

2-1- Généralités

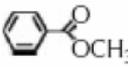
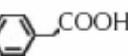
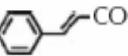
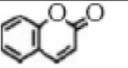
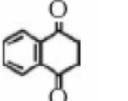
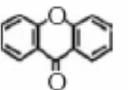
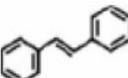
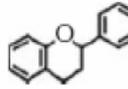
C'est un groupe important de métabolites secondaires. Jusqu'à aujourd'hui, environ 10000 composés ont été caractérisés. La plupart des composés phénoliques sont synthétisés à partir de deux acides aminés aromatiques la tyrosine et surtout de la phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de différentes façons selon les végétaux, à partir du préphénate (Guignard, 2000), le préphénate lui-même formé par la voie de l'acide shikimique (Macheix *et al.*, 2005).

Les polyphénols sont reconnus pour leurs multiples propriétés biologiques : anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antifongiques, anticancéreuses incluant l'activité antiaxydante (Ozsoy *et al.*, 2008).

2-2- Classe des polyphénols

Les polyphénols regroupent les principales sous-classes suivantes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tannins condensés, les stilbènes et les coumarines (Pokorny *et al.*, 2001), et ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Tab.04). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques (Crozier *et al.*, 2006).

Tableau 04 : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier *et al.*, 2006)

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiférine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

2-2-1- Les Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grünhage., 2003), de structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆) (Macheix *et al.*, 2005), formant 2 noyaux aromatiques (Tab 04) et un hétérocycle (C) à oxygène dont la nature définit l'appartenance du flavonoïde à un groupe déterminé (Erdman *et al.*, 2007; Ignat *et al.*, 2011). Le groupe des flavonoïdes comprend à lui seul plusieurs milliers des molécules regroupées en plus de six classes, dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique : les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones et les flavonols, de couleur crème ou jaune claire, les flavane dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupes important de tannins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (Macheix *et al.*, 2005).

2-2-2- Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (Bruneton, 1993). Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides) (Fig. 01). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) (Brouillard *et al.*, 1997).

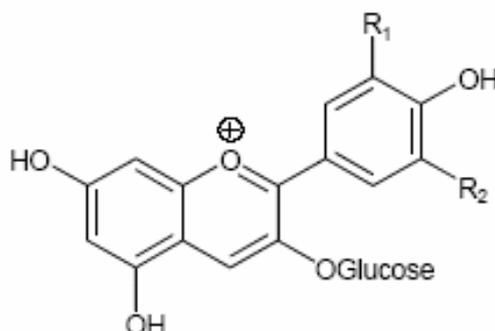


Figure 01 : Structure des anthocyanosides (Brouillard *et al.*, 1997)

2-2-3- Tannins

Les tannins sont un groupe de substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Haslam, 1996 ; Cowan, 1999). Les tannins sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (vin, thé, bière...). En première approximation, on peut considérer que les tannins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter (Macheix *et al.*, 2005).

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Macheix *et al.*, 2005).

2-2-3-1- Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Fig.2) (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).

Ils sont abondants chez les Dicotylédones et certaines arbres en sont des sources industrielles : tannins de chêne, de châtaignier, tannin de Chine ou de Turquie extraits respectivement d'un arbuste du genre *Rhus* ou *Quercus tinctoria*. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins comme le tannin de Chine, quelquefois appelé « acide tannique ») soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tannins ellagiques ou ellagitannins comme ceux du châtaignier). Une forme simple de tannins hydrolysables est le penta-galloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, par exemple la castalagine chez le châtaignier ou le chêne (Macheix *et al.*, 2005).

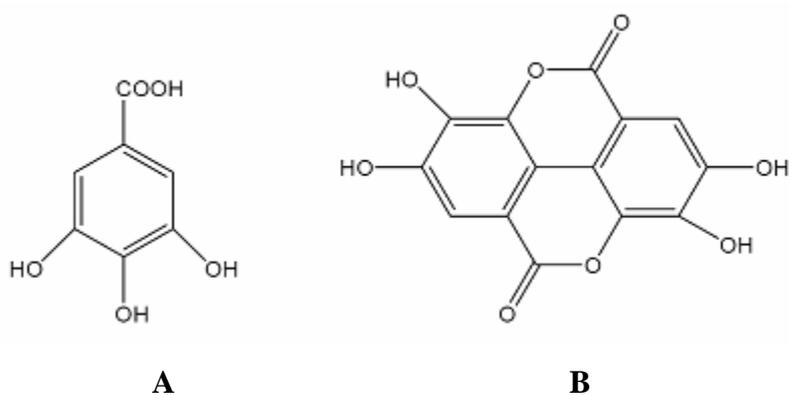


Figure 02: Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B) (Macheix *et al.*, 2005)

2-2-3-2- Tannins condensés

Dans la littérature, les tanins condensés peuvent être également nommés proanthocyanidines ou tanins catéchiques. Ces composés, qui correspondent à des polymères de flavan-3-ols, peuvent être répertoriés en différentes classes : les monomères, les dimères, les oligomères et les polymères (Prieur *et al.*, 1994).

Cette catégorie de tanins se diffère fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unité de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères (Bruneton., 1999).

2-2-4- Phénols simples et les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont principalement représentés par les acides hydroxycinnamiques ; les acides hydroxybenzoïques qui sont peu répandus. Les acides hydroxycinnamiques sont des dérivés de l'acide cinnamique, constitués d'un noyau phénolique de type C6-C3 (Cowan, 1999).

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 1993).

2-2-4-1- Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique (Bruneton, 1993).

2-2-4-2 Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C6-C3 (acides coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides-coumarique, -férulique) sont peu fréquents (Bruneton, 1993).

Les acides cinnamiques et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation (Cowan, 1999).

2-2-4-3- Phénols simples

Tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cowan, 1999).

2-2-5- Coumarines

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo-2-pyrone (O'Kennedy et Thornes., 1997) et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

2-2-6- Quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diénique (ortho-quinones) (Bruneton, 1993). Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (Cowan, 1999).

2-2-7- Stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

2-2-8- Lignanes

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante dix familles (Bruneton, 1993).

2-3- Biosynthèse des composés phénoliques

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique (Fig. 3). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïque, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines (Bruneton, 1993).

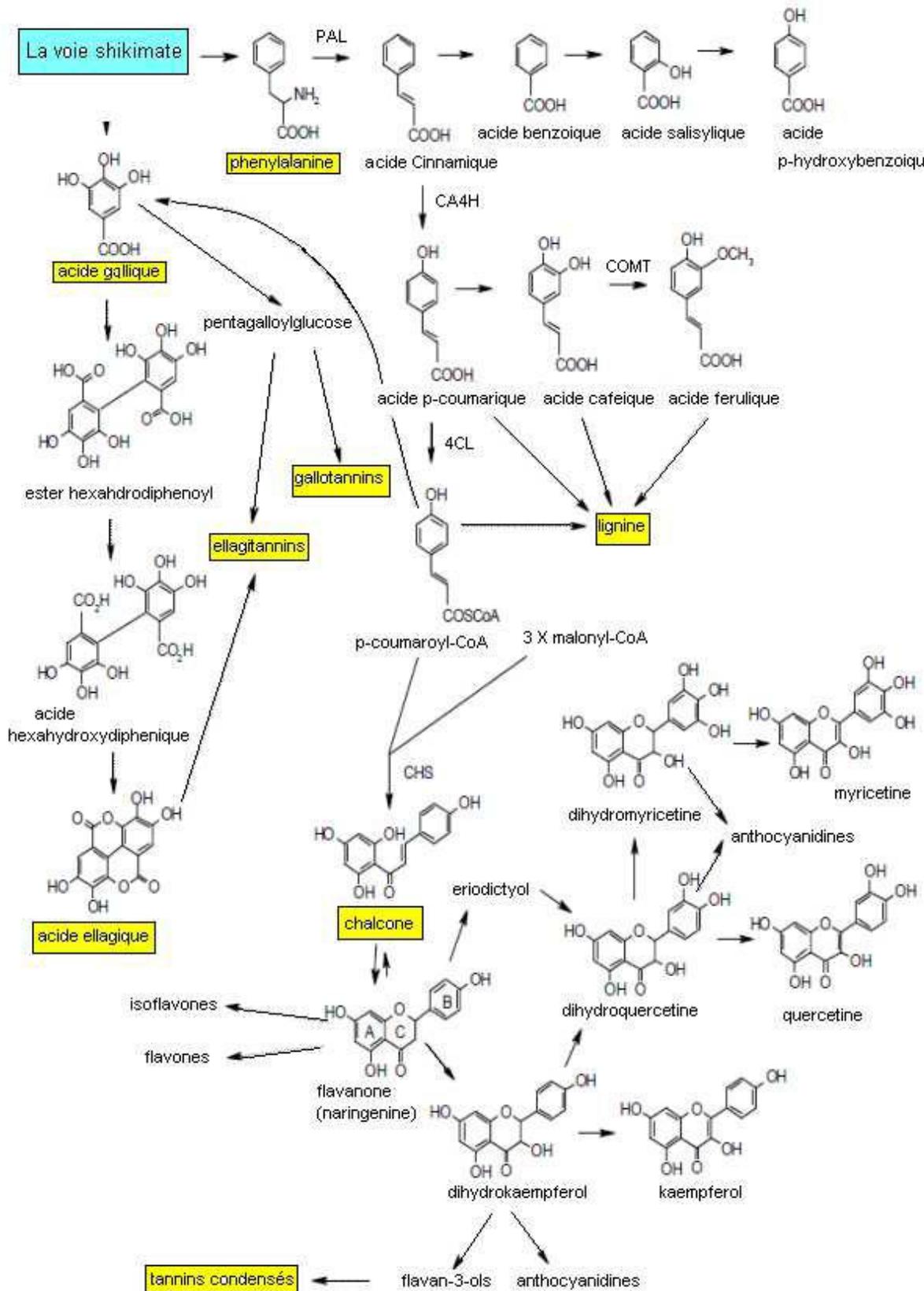


Figure 03: Biosynthèse des composés phénoliques (Mohammedi, 2013)

2-4- Rôle et propriétés physiologiques des polyphénols

2-4-1- Localisation et rôle dans les plantes

Au niveau de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (Bénard, 2009).

Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons (Winkel, 2004 ; Macheix *et al.*, 2005).

D'autres organites du cytoplasme, comme des vésicules golgiennes ou des chloroplastes, peuvent participer à la biosynthèse des composés phénoliques mais ce ne sont pas des lieux d'accumulation. Certains flavonoïdes ont même été localisés au niveau du noyau des cellules où ils pourraient directement moduler l'expression des gènes (Macheix *et al.*, 2005).

Au niveau végétal, les composés phénoliques sont un moyen de défense contre le rayonnement U.V, les agressions par les pathogènes et ils contribuent à la pigmentation des plantes (Manach *et al.*, 2004; Ignat *et al.*, 2011). Les composés phénoliques contribuent également à la croissance et au développement de la plante par des actions diverses et variées. Ils interviennent par exemple dans le métabolisme et le transport de l'auxine (Macheix *et al.*, 2005; Treutter, 2006) et dans celui de l'éthylène (Fleuriet, 1976; Vendrell, 2003). Les flavonoïdes conditionnent même la formation des grains de pollen chez le pétunia (Napoli *et al.*, 1999).

Par ailleurs les composés phénoliques peuvent avoir un rôle de signal, les flavonoïdes permettent par exemple la mise en place de la symbiose entre des Fabacées et des bactéries, ce qui permet à ces plantes de fixer directement l'azote atmosphérique (Treutter, 2006).

2-4-2- Influence de l'environnement sur la synthèse des composés phénoliques

2-4-2-1- Lumière

La lumière agit de façon quantitative et qualitative et est corrélée à une augmentation des teneurs en composés phénoliques et plus particulièrement de flavonoïdes dans les tissus (Macheix *et al.*, 2005).

L'activité de certaines enzymes de la voie de biosynthèse des polyphénols est stimulée par la lumière, c'est le cas, entre autres, de la PAL (Flores *et al.*, 2005), de la C4H (Bell-Lelong *et al.*, 1997) et de la CHS (Feinbaum et Ausubel, 1988).

2-4-2-2- Température

La température peut modifier les teneurs en polyphénols chez les fruits pendant la phase de croissance des fruits sur la plante, mais également après la récolte. Pour les plants de tomate, un stress thermique semblerait apparaître à partir de 35°C, causant l'accumulation de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides hydroxycinnamiques (Hua *et al.*, 1999).

En effet, un stress thermique provoqué par des températures froides (4°C) ou élevées entraîne une augmentation des activités PAL et CHS qui a pour conséquence d'augmenter les teneurs en composés phénoliques (Leyva *et al.*, 1995).

2-4-2-3- Nutrition minérale

Peu de travaux sont faits, qui montrent que les micros comme les macroéléments puissent modifier la composition en polyphénols. Il a été clairement démontré qu'une carence en bore induisait une augmentation des teneurs en flavonoïdes d'environ 40 à 50%, dans les feuilles et les fruits de tomate (Carpena *et al.*, 1982; Lopez-Andreu *et al.*, 1988; Ruiz *et al.*, 1998). Les effets du phosphore et du manganèse sont par contre plus variables (Zornoza et Esteban, 1984). L'équipe de Penalosa (1989) a observé qu'une déficience (0,2 et 0,5mmol/l) ou un excès (4 mmol/l) en phosphore dans la solution nutritive entraînait une diminution des teneurs en flavonoïdes dans les feuilles (Penalosa *et al.*, 1989). Par contre, Stewart *et al.* (2001) ont mis en évidence que de faibles apports en phosphore augmentaient les teneurs en flavonols dans les fruits mais ce uniquement pendant les premiers stades de maturation, les bénéfices de ce stress diminuant avec la maturation (Stewart *et al.*, 2001). La nutrition azotée modifie également les teneurs en composés phénoliques (Dumas *et al.*, 1993; Wilkens *et al.*, 1996). Stout *et al.* (1998) ont obtenu des concentrations plus de deux fois plus importantes dans les feuilles de tomates ayant poussé avec de faibles apports en N (2 mm) en comparaison des teneurs obtenues dans les feuilles du fort traitement en N (8 mm) (Carpena *et al.*, 1982).

Les composés phénoliques sont utilisés dans plusieurs domaines grâce à leur pouvoir antioxydant. Plusieurs études proposent le remplacement des antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyansol (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) par des antioxydants naturels à cause de leur toxicité impliquée dans la promotion du développement des cellules cancéreuses (Moure *et al.*, 2001).

➤ Les flavonoïdes

Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxygénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (Anderson *et al.*, 1996 ; Cowan, 1999 ; Yao *et al.*, 2004). Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs activités antioxydantes. Ils agissent par (Halliwell, 1994) :

- Piégeage direct des radicaux libres
- Inhibition de la peroxydation lipidique
- Inhibition des enzymes responsables de la production des E.O.R
- Chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R

Mais, on attribue également aux flavonoïdes des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-oestrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion.

D'autres parts, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers *Citrus*) et la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) (Hennebelle *et al.*, 2004).

➤ Les anthocyanes

Sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus* L. ; cassis, *Ribes nigrum* L.) (Hennebelle *et al.*, 2004). Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines ont montré leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines (Zhang *et al.*, 2005).

➤ Les tanins

Sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (Chung *et al.*, 1998). Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (chêne, *Quercus* spp.). Les proanthocyanidines dimères de l'aubépine (*Crataegus* spp.) seraient de bons sédatifs cardiaques (Hennebelle *et al.*, 2004). Concernant le pouvoir antioxydant des tanins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. Les tanins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate

d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres (Rahman *et al.*, 2006), ils inhibent les ions Cu^{+2} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (Yoshida *et al.*, 1999).

➤ **Les coumarines**

sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives (Hennebelle *et al.*, 2004). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (Anderson *et al.*, 1996).

➤ **Les acides phénols et ces dérivés**

Sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés (Hennebelle *et al.*, 2004). Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (Bossokpi, 2002). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Cowan, 1999). Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris *in vitro* et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (Kawada *et al.*, 2001 in Rangkadilok *et al.*, 2007). Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux (Lee *et al.*, 2005).

➤ **Certaines quinones**

Dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. Elles sont rencontrées dans la bourdaine (*Rhamnus frangula* L.), les sénés (*Cassia* spp.) et les aloès (*Aloe* spp.). D'autres activités antidépressives (hypericin), anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable. (Bruneton, 1993 ; Hennebelle *et al.*, 2004).

Chapitre III : Pouvoir antioxydant des composés phénoliques

3-1-Définition

Un antioxydant est défini comme étant une substance chimique qui présente, à des faibles concentrations par rapport à un substrat oxydant, la capacité de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce dernier (lipides ou autres molécules) (Halliwell *et al.*, 1992 ; Gutteridge., 1993 ; Pokorny *et al.*, 2001 et Magalha *et al.*, 2008). Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (Walker *et al.*, 1982).

Les radicaux libres sont omniprésents dans notre corps et sont générés par des processus physiologiques normaux y compris le métabolisme aérobie et de réponses inflammatoires, pour éliminer les microorganismes pathogènes envahisseurs. Les radicaux libres sont des espèces chimiques très réactives compte tenu de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (Govindarajan *et al.*, 2005). Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (Hussain *et al.*, 2003).

3-2- Radicaux libres et pouvoir antioxydant

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /où un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxyde (RO^{\bullet}).

Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

3-2-1- Origine de production des ERO

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation

d'oxygène (Gauche et Hausswirth, 2006). Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons :

- des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Arausseau, 2002) ;
- des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan, 2004 ; Van Antwerpen, 2006) ;
- du système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (Li *et al.*, 2002 ; Valko *et al.*, 2004 ; Valko *et al.*, 2006)
- d'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (Tamer, 2003).

3-2-2- Dommages oxydatives des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (Rahman, 2002). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés :

lipides, protéines, glucides et ADN (Arausseau, 2002 ; Valko *et al.*, 2006). Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (Aruoma, 1998). Parmi les, nous citons, les maladie d'Alzheimer (Smith *et al.*, 1996 ; Smith *et al.*, 2004), de Parkinson (Bolton *et al.*, 2000), de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites (Ali *et al.*, 2008), les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque (Jha *et al.*, 1995), les oedèmes et vieillissement prématuré de la peau (Georgetti *et al.*, 2003) et le cancer (Ali *et al.*, 2008).

Les composés phénoliques peuvent jouer le rôle d'un antioxydant de différentes manières :

. Le piégeage direct des radicaux libres

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres oxygénés (X) par transfert d'un électron ou d'un hydrogène. Le radical aryloxy formé est stabilisé par résonance. L'électron non apparié peut se délocaliser sur l'ensemble du cycle aromatique. Mais, il peut continuer à évoluer selon plusieurs processus (dimérisation, dismutation, recombinaison avec d'autres radicaux, réduction en molécule parent, oxydation en quinone) soit en réagissant avec des radicaux ou d'autres antioxydants, soit avec des biomolécules. L'activité antiradicalaire

des phénols a été corrélée avec le potentiel d'oxydation des flavonoïdes (Van Acker *et al.*, 1996).

• Chélation des ions métalliques (Fe^{+3} , Cu^{+2})

Le pouvoir antioxydant des flavonoïdes peut s'exercer par la complexation des métaux de transition. En effet, ces derniers accélèrent la formation d'espèces oxygénées réactives. Par ailleurs, la complexation des flavonoïdes par des métaux de transition peut améliorer leur pouvoir antioxydant en diminuant leur potentiel d'oxydation (Van Acker *et al.*, 1996, Afanas *et al.*, 2001).

• Inhibition d'enzyme

Les flavonoïdes sont connus par leur pouvoir d'inhibition d'enzyme dont, en particulier, les oxydo-réductases qui font intervenir au cours de leur cycle catalytique des espèces radicalaires (lipoxygénase, cyclo-oxygénase, monooxygénase, xanthine oxydase, phospholipase A2, protéine kinase...) (Van Acker *et al.*, 1996).

• Régénération des antioxydants liés aux membranes comme l' α -tocopherol

Les éléments structuraux nécessaires à l'obtention d'une activité antioxydante optimale ont été établis par plusieurs auteurs (Van Acker *et al.*, 1996, Sroka, 2005, Aliaga & Lissi, 2004) (Fig. 4).

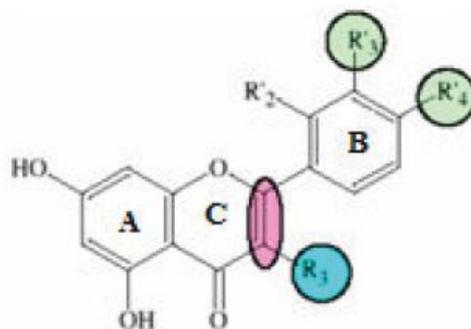


Figure 04. Eléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes (Chebil, 2006).

• La présence d'une fonction catéchol sur le cycle B

La configuration des hydroxyles du noyau B est le paramètre structural le plus significatif de l'activité antioxydante. Les radicaux phénoxy sont stabilisés par la présence d'un hydroxyle en ortho de celui qui a cédé son atome d'hydrogène. En effet, cette stabilité résulte de la délocalisation de l'électron non apparié et de la formation d'une liaison hydrogène (Valko *et al.*, 2004).

. La présence d'un motif énone dans le cycle C

La double liaison entre C2 et C3 et la fonction carbonyle en C4 permet une délocalisation électronique stabilisante du radical phénoxy (Valko *et al.*, 2004).

. la présence de groupement hydroxyle en position 3

La glycosylation ou la méthylation de l'hydroxyle en position 3 des flavonols conduit à une diminution importante de l'activité antioxydante.

Cet effet est moins marqué lorsque les autres groupements phénoliques sont substitués. La présence d'un groupement hydroxyle en position 3 renforce donc les propriétés antioxydantes dans le cas où le cycle C est insaturé (Heim *et al.*, 2002).

3-3- Moyens de défense contre les radicaux libres

D'après Halliwell (1994), un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules.

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories : la prévention à temps plein (la prévention passive), la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive (Virot, 2004).

3-3-1- Prévention à plein temps

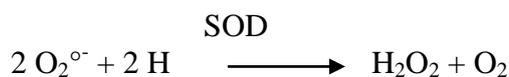
Ce type est un système qui agit en permanence pour but de prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres (Pryor, 2000).

3-3-2- Détoxification active suite à une attaque oxydante

Ce système de défense repose principalement sur 3 enzymes (Valko *et al.*, 2006).

3-3-2-1- Super oxyde dismutase (SOD)

Il catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H₂O₂) et en oxygène.



Dans l'être humain, il y a 3 isoformes des SOD à cofacteurs métallique (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) et sont localisés dans le cytoplasme et la mitochondrie (Landis et Tower., 2005).

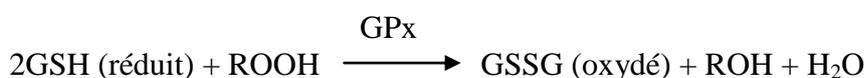
3-3-2-2- Catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes, elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂ (Valko *et al.*, 2006).



3-3-2-3- Glutathion peroxydase

Une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Valko *et al.*, 2006).



3-3-3- Détoxification passive

Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle incluse tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, etc.... (Svoboda et Hampson, 1999 ; Valko *et al.*, 2006).

3-3-3-1- Vitamine E (tocophérol)

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique. Durant la réaction antioxydante, le tocophérol est converti en radical tocophérol beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxy) (Pryor, 2000 ; Valko *et al.*, 2006).

3-3-3-2- Vitamine C (acide ascorbique)

Ses propriétés antioxydantes sont attribuées à sa capacité d'être réduit en radical ascorbyle après la perte d'un électron ou d'un proton. Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (perhydroxyles et peroxy) (Valko *et al.*, 2006 ; Van Antwerpen, 2006).

3-3-3-3- Caroténoïdes

L'activité antioxydante de ces molécules repose principalement sur la présence de nombreuses doubles liaisons conjuguées au sein de leur structure (Mortensen *et al.*, 2001).

Généralement, elles interagissent avec les radicaux libres (ROO° , R°) par 3 mécanismes, soit par l'abstraction d'hydrogène, transfert d'électron et addition du radical (El-Agamey *et al.*, 2004).

3-3-3-4- Acide lipoïque (acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque ; $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}_2$)

Cet acide est aisément absorbé et converti rapidement dans de nombreux tissus à la forme réduite dithiol, l'acide dihydrolipoïque (Fig.5) (Smith *et al.*, 2004). Il joue un rôle important dans le piégeage des ERO, la régénération des antioxydants endogènes et exogènes tels que les vitamines C et E et le glutathion, la chélation des métaux Cu^{+2} et Fe^{+2} (Valko *et al.*, 2006).

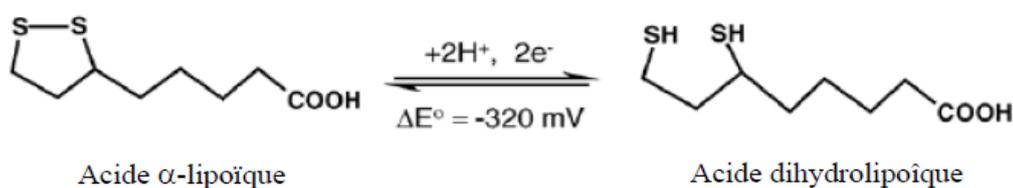


Figure 05: Structure de l'acide lipoïque et l'acide dihydrolipoïque (Valko *et al.*, 2006)

3-3-3-5- Alumine

Il se trouve en grande quantité dans le plasma possède une fonction thiol qui lui permet de jouer un antioxydant puissant à fixer les différents métaux (Cu^{2+} , Fe^{3+} ...) et de prévenir leur effets oxydants (Halliwell et Gutteridg, 1990 ; Quinla *et al.*, 1992).

Chapitre II : Matériel et méthodes

1- Matériel végétal

La passerine hérissée (*Thymelaea hirsuta*) est l'objet de notre étude. Le choix des plantes de la passerine dans les deux zones a été basé sur l'observation visuelle on choisissant des plantes adultes de même hauteur, en évitant les plantes malades (Fig.6).



Figure 06 : Différentes parties de la plante de *Thymelaea hirsuta* (photos personnelles)
A : Racine pivotante ; B : Tige fleurie et feuillée

2- Situation géographique des stations d'étude

Les plantes ont été récoltées dans deux régions de la wilaya de Tébessa, Bekaria et Bir El Ater (B'tita), d'où 3 plantes ont été prises de chaque région (Fig.7).

2-1-Bir el-Ater

Bir el-Ater est une commune de la wilaya de Tébessa, située à 87 km au sud de Tébessa, elle est connue pour ses grands pâturages et la mine de phosphate de Djebel Onk.

Notre zone d'étude est située à 34°43'44.59'' N et 8°04'03.34''E et une altitude de 849 m.

2-2-Bekkaria

Bekkaria, appartient à la daïra d'El Kouif, wilaya de Tébessa, Bekkaria est située à 12 km au sud-est de Tébessa.

Notre zone d'étude est située à 35°30'21.16'' N 8°13'07.82''E et une altitude de 1136 m.

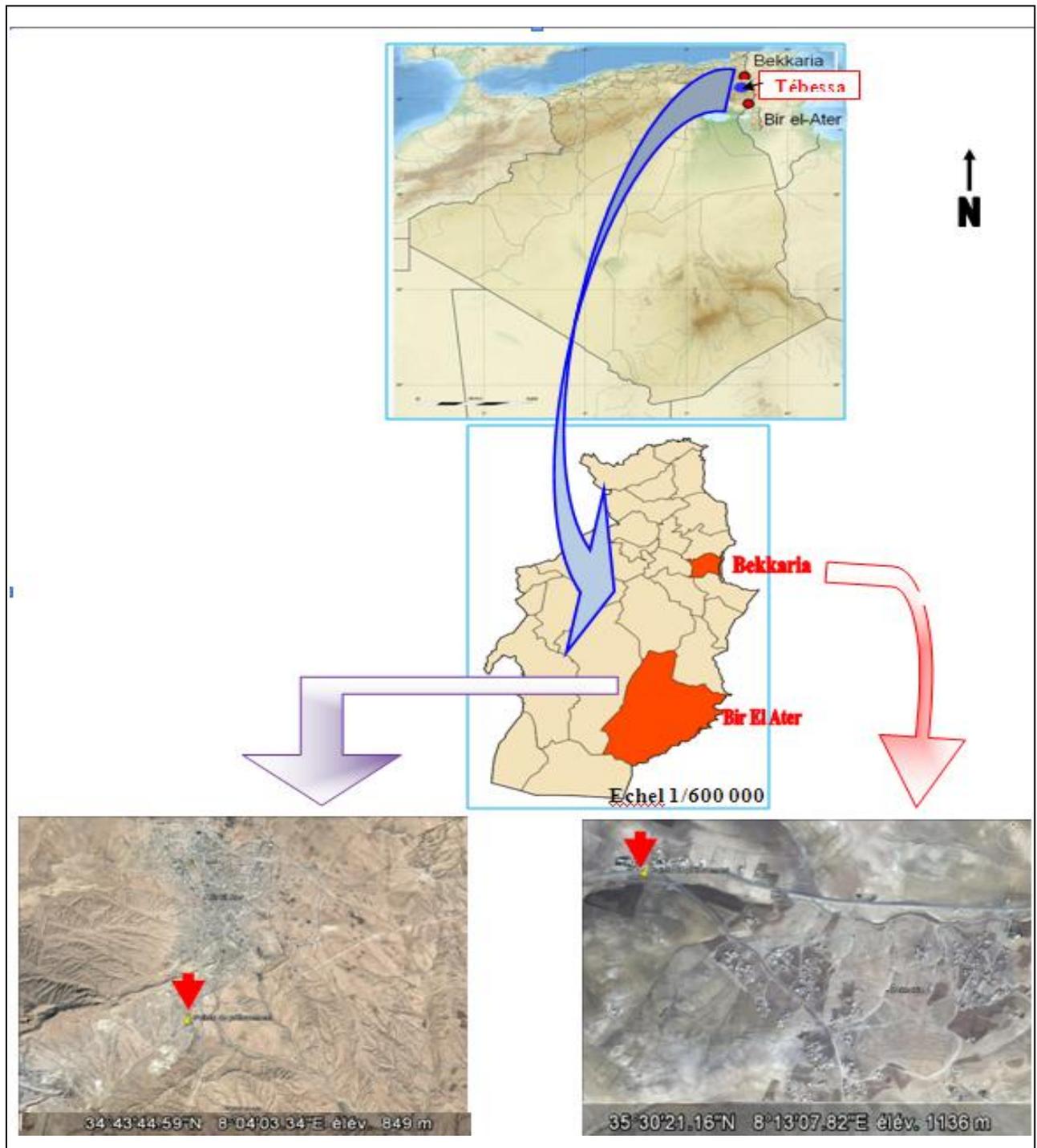


Figure 07 : Situation géographique des stations d'étude (Wikimédia, 2012)

3- Méthodes d'analyse

3-1- Etude ethnobotanique

Pour connaître les utilisations traditionnelles de la plantes une enquête ethnobotanique est effectuée auprès de la population des wilayas de Tébessa et kenchela.

Un nombre de 30 personnes âgées de 40 à 70 ans (20 hommes et 10 femmes) ont été questionnées, Les questions posées ont été claires, simples et compréhensives posées en arabes concernant l'utilisation de la plante (Annexe 01).

3-2- Caractéristiques pédologiques

L'analyse du sol a été faite au niveau de laboratoire de FERTIAL Annaba pour les paramètres physico chimiques suivants :

- Texture
- Conductivité électrique (salinité)
- pH
- Calcaire total
- Matière organique
- Azote total
- Phosphore assimilable (méthode Olsen)
- Potassium échangeable
- Magnésium échangeable
- Sodium Echangeable

3-3-Préparation de la matière végétale

Les plantes ont été triées, séparées et séchées à l'ombre dans un endroit bien aéré, ensuite les parties végétales racines, tiges et feuilles ont été bien broyées séparément des utilisations ultérieurs.

4- Analyses physico-chimiques

4-1- Teneur en cendre et en matière organique

Le but est de déterminer la teneur en matière minérale (**MM**) dans les plantes, de façon à calculer la quantité de matière organique (**MO**) Jarrige (1985). Elle représente la différence entre la matière sèche (**MS**) et la matière minérale; Donc:

$$MM = MS - MO$$

La minéralisation est faite à 550°C dans un four à moufle pendant 24 heures dans le but de réduire la matière organique. Les cendres représentent le poids des minéraux dans la plante.

Ces analyses ont été réalisées sur chaque partie (feuille, tige et racine) des 3 plantes, avec 2 répétitions par plantes.

4-2-Le screening phytochimique

Ce sont des réactions de mise en évidence pour identifier la présence des substances chimiques au niveau des parties végétales (Dohou *et al.* , 2003).

Ce screening chimique a été réalisé sur 03 échantillons pour chaque partie végétale.

4-2-1- Recherche des flavonoïdes

5 g de matériel végétal placés dans un erlenmeyer sont infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant 30 minutes, après filtration, 6 ml d'infusé sont prélevés et repartir dans 3 tubes à essai à raison de 2 ml par tube.

Additionner respectivement à l'infusé contenu dans les 3 tubes à essai, 1 ml de NaOH 1N, 1 ml d'eau distillée et 1 ml de HCl concentré puis ajouter des copeaux de magnésium.

Les flavonoïdes donnent les réactions de coloration caractéristique. Jaunâtre- rougeâtre (Dohou *et al.* , 2003)

4-2-2- Recherche des leucoanthocyanes

5 g de matériel végétal placés dans un erlenmeyer sont infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant 30 minutes, après filtration, 6 ml d'infusé sont prélevées et repartis dans 3 tubes à essai à raison de 2 ml par tube; a l'infusé on additionne, 1 ml de NaOH 1N, 1 ml d'eau distillée et 1 ml de HCl concentré. Puis les tubes sont mis au bain marie.

L'apparition de la couleur rouge confirme la présence des leucoanthocyanes (Dohou *et al.* , 2003).

4-2-3-Recherche des quinones

5 g de matériel végétal broyé sont humectés de quelques gouttes de HCl concentré. Puis mis à macérer pendant 24 heures dans un erlenmeyer fermé et contenant 10 ml d'éther de pétrole. Après filtration, 2 ml de filtrat sont agités avec 2 ml de NaOH à 10%. La coloration rouge virant au violet apparait en présence des quinones (Dohou *et al.* , 2003).

4-2-4-Mise en évidence des anthocyanes

5 g de matériel végétal sont placés dans un erlenmeyer puis infusés dans 50 ml d'eau distillé pendant 30 minutes. Après filtration, à 2 ml d'infusé on ajoute quelques gouttes d'ammoniaque sont ajoutées, la réaction donne une coloration bleu en présence d'anthocyanes (Dohou *et al.* , 2003).

4-2-5-Recherche des tanins

5 g de matériel végétal sont infusés dans 50 ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer pendant 30 minutes ; 2 ml de l'infusé sont prélevés et mis dans un tube à essai

auquel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%. L'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité indique la présence des tanins catéchiques.

2 ml de l'infusé sont placés dans un tube à essai saturé en acétate de sodium et en plus de quelques gouttes de FeCl_3 . La formation d'un précipité indique la présence des tanins galliques ou des colorations bleu-vert, bleu-sombre et vert (Dohou *et al.*, 2003).

4-2-6-Recherche des stéroïdes

1 g de matériel végétal est macéré pendant 24 heures dans l'éther de pétrole ou dans le benzène. Après filtration, le solvant est évaporé au bain de sable. Le résidu est récupéré par 1 ml de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique concentré. Il se produit une coloration violette devenant progressivement verte. La coloration verte se stabilise au bout de 30 minutes et indique la présence des stéroïdes (Dohou *et al.*, 2003).

4-2-7-Recherche des terpénoides

1 g de matériel végétal est macère pendant 24 heures dans l'éther de pétrole ou dans le benzène. Après filtration, le solvant est évaporé au bain de sable. Le résidu est récupéré par 1 ml de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique concentré, en plus l'ajout de quelques gouttes du réactif de Hirschon (acide trichloracétique) Il se produit une coloration rouge qui indique la présence des terpénoides (Dohou *et al.*, 2003).

4-2-8-Recherche des coumarines

1 g de la poudre végétale est placé dans un tube à essai en présence de 2 ml d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis on ajoute 0.5 ml de NH_4OH dilué (10%) deux tâches sur un papier filtre sont examinés sous la lumière ultraviolette à 200 nm. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (Rizk, 1982).

4-2-9-Recherche des alcaloïdes

1g de poudre végétale est mise à macérer dans 10ml de méthanol à la température ambiante pendant 24 heures, l'évaporation est faite à l'étuve à 50°C pendant 4 heures. Le résidu est recueilli deux fois par 2 ml de solution chaude d'acide chlorhydrique 1%. La solution acide est ajoutée de l'ammoniaque concentrée et 15 ml de Chloroforme le tout dans une ampoule à décanter.

On laisse évaporer à l'air libre ou au rotavapeur, au résidu obtenu on ajoute 0,5 ml de HCl 1% après agitation.

Ainsi, les alcaloïdes ayant été protonés sont supposés être passés en phases aqueuses. Six .gouttes de la phase aqueuse sont disposées sur une lame porte-objet, auxquelles on ajoute

le réactif de Wagner. En présence d'alcaloïde on obtient une coloration jaune (Dohou *et al.*, 2003).

5- Extraction des composés phénoliques

Macération et récupération de l'extrait brut

La macération est faite dans l'éthanol /eau (30/70 v/v) pour 1 g de poudre végétal, pendant 72 heures avec renouvellement du solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps.

Les macéras des 3 jours pour chaque échantillon sont réunis puis filtrés sur papier filtre, puis évaporés à sec dans l'étuve à 55°C.

Le résidu sec est repris dans 30 ml d'eau distillée bouillante, après une décantation de toute une nuit on récupère la phase limpide qui va subir des affrontements par l'éther de pétrole : pour éliminer les pigments chlorophylliens, caroténoïdes et les lipides, tous composés non phénoliques (Dohou *et al.*, 2003)..

6- Dosages

6-1- Dosage des polyphénols totaux

La méthode de dosage des polyphenols totaux est celle de folin-ciocalteu (Li *et al.*, 2007), elle consiste à prendre un volume de 200 µl de l'extrait, un volume du réactif folin-Ciocalteu (dilué dix fois : 9V eau + 1V folin) était ajouté. Après 4 mn, un volume de 800 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) (75 mg/100ml % dans l'eau distillée) à été versé sur la solution.

Les tubes ont été placés à l'obscurité, après les deux heures, les résultats étaient lu par spectrophotomètre à 765 nm, la concentration des polyphenols totaux est déduite a partir d'une gramme d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (0-180 µg /ml).

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (MS) (mg EAG/g / MS) (Li *et al.*, 2007)

La quantité des polyphénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c \cdot v / m$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g de matière sèche)

c : concentration d'acide gallique (mg/ml)

v : volume de l'extrait (ml)

m : masse de la matière sèche (g)

6-2-Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits ; 1 ml de chaque extrait (avec dilution convenable) est ajouté à 1 ml d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0-40 μg /ml). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg EQ/g /MS) (Bahorun *et al.*,1996).

La quantité des flavonoïdes est calculée par l'équation suivante :

$$C = c \cdot v / m$$

C : contenu total des flavonoïdes (mg d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche)

c : concentration d'acide gallique (mg/ml)

v : volume de l'extrait (ml)

m : masse de la matière sèche (g)

6-3-Dosage des flavonoïdes aglycones

Le dosage différentiel des flavones et des flavonols est effectué en se basant sur les propriétés chélatantes d' AlCl_3 à 1% en solution dans l'éthanol 95 1ml de l'extrait et 1 ml d' AlCl_3 . La mesure de la densité optique est effectuée au spectrophotomètre UV-visible à 380nm après 10 mn de réaction (Akinmoladun *et al.*, 1975).

6-4-Dosage des anthocyanes

Selon Ribéreau-Gayon *et al.* (1965) le dosage des anthocyanes d'un extrait végétal s'effectue en utilisant deux propriétés dues à leurs structures : la modification de leurs couleurs en fonction du pH ; la transformation en dérivés incolores sous l'action de certains réactifs comme les ions bisulfite. Ainsi, la variation de l'absorbance lue à 520 nm après addition d'ions bisulfite en excès, est proportionnelle à la teneur en anthocyanes.

Dans un tube à essai un mélange de 1 ml de l'extrait végétal et 1 ml d'éthanol à 95 % et 20 ml de la solution d'HCl 2%. La lecture se fait à 520 nm comme suite :

Cuve A : 5ml du mélange + 2ml d'eau distillée.

Cuve B: 5 ml du mélange + 2ml de bisulfate de sodium à 150g/l

On traite d'abord les cuves sans bisulfite pour éviter toute décoloration par les résidus (Ribéreau-Gayon *et al.*,1965).

Concentration en anthocyanes totales se calcule par la formule:

Concentration en anthocyanes totales = 875* (Do tube témoin - Do tube bisulfite)

6-5- Estimation quantitative des Tanins condensés

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide (Heimler *et al.*, 2006). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. 400µl de chaque extrait, est ajouté à 3ml d'une solution méthanolique à 4% de vanilline, et 1.5ml d'acide chlorhydrique concentré. Après 15 mn de réaction, l'absorbance est lue à 550 nm.

La concentration des tanins condensés est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide tannique 1g/l.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de l'acide tannique par gramme de matière sèche (mg ACT/ g MS) (Heimler *et al.*, 2006).

7- L'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été testée par la méthode réduction de fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).

7-1-Principe

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{+3} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{+2} , la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{+2}), l'intensité de cette coloration est mesuré par spectrophotométrie à 700 nm.

7-2-Procédure expérimentale

Cette méthode est déterminée en utilisant la technique de Yildirim *et al.*, (2001). Les différentes concentrations des extraits (0.5 ml) sont mélangées avec 1.25 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 1.25ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C Après 20 min, 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%) sont additionnés pour stopper la réaction. Le tout est centrifuge a 3000 tours pendant 10 min.

A la fin, 1.25ml du surnageant de chaque concentration est mélange avec 1.25 ml de l'eau distillée et 250 ml de $FeC_13, 6 H_2O$ (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

L'augmentation de l'absorbance dans le milieu réactionnel indique l'augmentation de la réduction de fer. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

La concentration IC50 qui est définie comme la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% de la concentration initiale du thiocyanate ferrique est un indice utilisé pour comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des substances bioactive (Yildirim *et al.*, 2001).

8- Analyse statistique

Chaque expérience est répétée trois fois, les valeurs sont représentées par la moyenne \pm écart type. Les résultats ont été analysés par le test ANOVA et la valeur p détermine la signification où $p < 5\%$, $p < 1 \%$ et $p < 1 \%$, sont significative, hautement significative et très hautement significative respectivement. Avec une comparaison de moyenne par le test de Tukey à $p < 0.05$; le logiciel utilisé est minitab 17.

Chapitre III : Résultats et discussion

1- Résultats

1-1-Enquête ethnobotanique

Notre enquête a ciblé 30 personnes (20 hommes et 10 femmes) âgées de 40 à 70 ans qui habitent dans les zones rurales riches en plantes médicinales dont la plante d'étude *Thymelaea hirsuta*.

Les réponses des personnes aux questions posées (Annexe 01) sont résumées dans la (Fig.08), qui montre l'importance d'utilisation des plantes médicinales. Les personnes connaissant la plante médiane sont de 30 %, dont 23% ne connaissent pas ses aires de répartition dans la nature et avec 10% seulement des personnes questionnées ont une idée sur l'utilisation de la plante ou connaissent des personnes l'ayant déjà utilisée.

Dans la région de Tébessa, la plante *Thymelaea hirsuta* est utilisée contre certaines infections microbiennes, hémorroïdes et anti-inflammatoire.

Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle par plusieurs méthodes : une pâte mélangée avec du savon pour le traitement des hémorroïdes, un mélange avec huile d'olive comme un anti- inflammatoire et aussi une boisson pour les femmes souffrant lors de la grossesse. D'après les gens de la région d'ouled hamla, la passerine herissée est utilisée chez les femmes qui perdent leurs grossesses avant terme. Le traitement consiste à boire une tisane de passerine chaque nuit avant de dormir, le traitement commence juste après les règles, est dure 15jours.

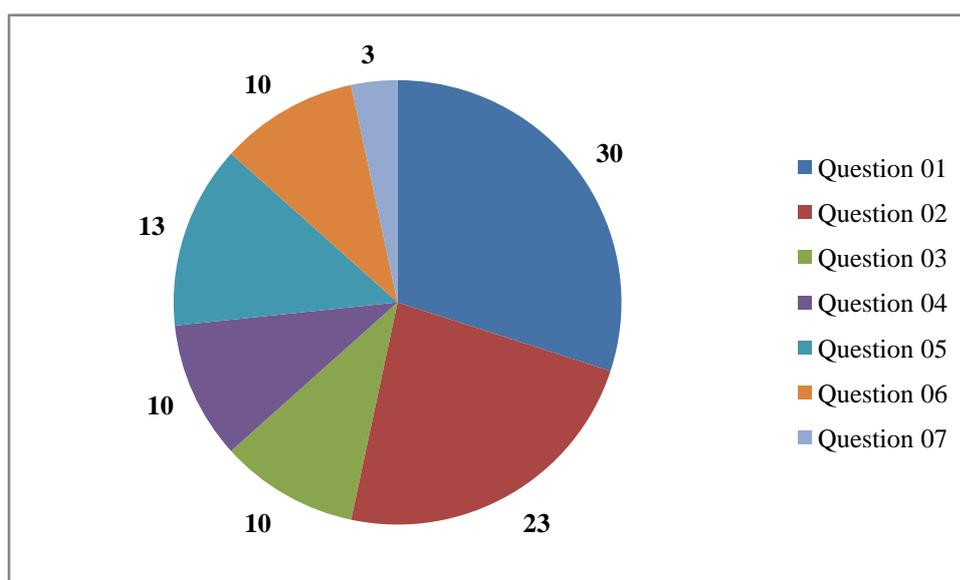


Figure 08: Pourcentages des réponses de l'enquête ethnobotanique sur *Thymelaea hirsuta*

1-2-Données climatiques de deux zones d'étude

La zone de Bekkaria est caractérisée par une température moyenne annuelle 15,7°, et une quantité moyenne de précipitations égale à 372,8 mm (1972-2015). La zone de Bir El Ater caractérisée par une température moyenne annuelle 14,66°, et une quantité moyenne de précipitations égale à 167,68 mm (1997-2001). (météo Tébessa).

1-3-Analyse pédologique

Le tableau 05 regroupe les caractéristiques physico-chimiques des analyses pédologiques des zones d'étude.

Bekkaria : le sol a une texture Sableuse composé de sable 72 %, Limon 20 % et l'argile 08 %. Selon Olsen, Olsen *et al*, (1954), la teneur en P est moyenne, Sol modérément calcaire (5 - 25%) et la matière organique est faible

Bir El Ater : Le sol a une texture limono- sableuse composé de sable 48 %, limon 40 % et argile 12 %.

Dans les deux régions le sol ne présente pas de problèmes de salinité. Le pH du sol est alcalin (9.33 et 8.42) respectivement pour Bekkaria et Bir el ater, il ce peut qu'il présente des problèmes d'assimilation de micro-éléments. En général le sol est de fertilité très faible vu la teneur en matière organique, ce qui a un effet très négatif sur les caractéristiques physico-chimiques du sol.

Le phosphore est moins disponible dans la zone de Bir El Ater, comparativement à celui de la zone de Bekkaria où sa disponibilité est normale. Dans la zone de Bakkaria la perte de l'azote (par lixiviation) est plus importante que celle de la zone de Bir El Ater

Tableau 05 : Caractéristiques physico-chimiques des analyses pédologiques des zones d'étude

Bir El Ater			Bekkaria			
Conductivité (1/5 mS/cm)	0,15	Non salé	Conductivité (1/5 mS/cm)	0,18	Non salé	mS/cm
pH eau (1/2.5)	8,42	Alcalin	pH eau (1/2.5)	9,33	Très alcalin	
C/N	6,78	Faible	C/N	7,99	Faible	
	%	p.p.m.		%	p.p.m.	
Carbonates	17,91	179100,00	Carbonates	7,13	71300,00	%
Calcaire actif	-	-	Calcaire actif	-	-	%
Matière organique	0,7	7000,0	Matière organique	0,55	5500,00	%
Azote Total	0,06	600,00	Azote Total	0,04	400,00	%
	meq/100gr	p.p.m.		meq/100gr	p.p.m.	
Phosphore (Olsen)	0,02	6,09	Phosphore (Olsen)	0,04	12,22	p.p.m.
Potassium échangeable	0,3	109,5	Potassium échangeable	0,1	50,8	meq/100gr
Magnésium échangeable	1,0	120,4	Magnésium échangeable	0,7	80,3	meq/100gr
Calcium échangeable	27,1	5434,8	Calcium échangeable	19,2	3857,7	meq/100gr
Sodium échangeable	0,1	32,2	Sodium échangeable	0,04	9,20	meq/100gr

1-4- Analyses physico-chimiques

La connaissance du taux d'humidité, ainsi que du taux de cendres, nous permet d'apprécier la qualité de la matière première mise en œuvre.

1-4-1- Le taux de Cendres

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon. Il est dans la (fig.9)

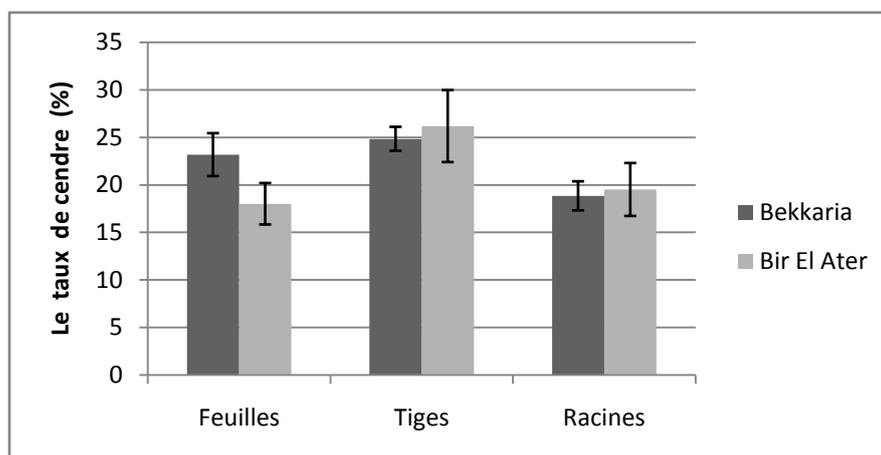


Figure 09: Le taux de Cendres des plantes des deux zones

Le taux de cendre est plus élevé chez les tiges que les autres parties avec 24,83 % et 26,16 % respectivement dans Bekkaria et Bir El Ater, par contre les deux zones ne semblent pas si différentes.

L'analyse statistique a montrée une différence hautement significative uniquement entre les parties des plantes. (Tab.6)

Le test de Tukey a affiché une différence significative entre la teneur en cendre des tiges (A) et celui des feuilles et racines (B) qui représentent les teneurs les plus faibles. (Annexe 03)

Tableau 06: Analyse de Variance statistique de teneurs en cendre de différentes parties de plante étudiée

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	5,014	5,014	0,64	0,438
partie	2	132,583	66,292	8,43	0,004**
Error	14	110,028	7,859		
Lack-of-Fit	2	38,361	19,181	3,21	0,076
Pure Error	12	71,667	5,972		
Total	17	247,625			

** : hautement significative

1-4-2- Rendements des extraits bruts

L'extraction des composés phénoliques par le mélange méthanol-eau des plantes étudiées, a permis de déterminer les rendements de leurs extraits bruts.

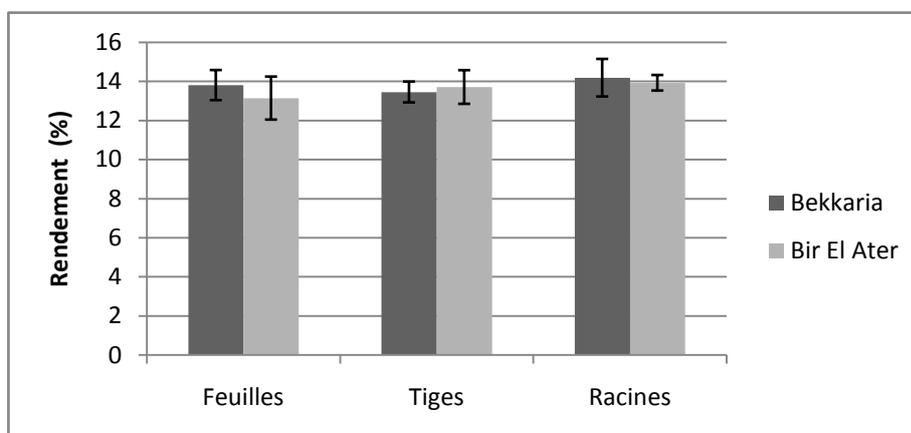


Figure 10 : Rendements des extraits bruts des différentes parties végétales des deux zones

L'analyse de la variance n'a montrée aucune différence significative ni pour le facteur zone entre les parties. (Tab.7)

Tableau 07 : Analyse de Variance statistique de rendement des extraits phénoliques

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	0,4489	0,4489	0,69	0,412
partie	2	2,2827	1,1414	1,75	0,189
Error	32	20,8244	0,6508		
Lack-of-Fit	2	1,2797	0,6399	0,98	0,386
Pure Error	30	19,5447	0,6515		
Total	35	23,5560			

1.5. Analyses phytochimiques qualitatives et quantitatives

1.5.1. Analyse qualitative

La phytochimie qualitative basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur la poudre de chaque échantillon végétal génère pour une première estimation les données préliminaires sur les constituants des extraits. Le résultat de ce criblage phytochimique est résumé dans le (Tab.10). Il révèle la présence ou l'absence d'un principe actif.

Effectivement des groupes de composés sont identifiés dans tous les extraits : Les Flavonoïdes, Les Leucoanthocyanes, les Tanins Catéchiques, Les Stéroïdes, et les Alcaloïdes. En revanche, les terpenoïdes et les quinones sont absents. Par contre les saponines ne sont présentes qu'au niveau des tiges.

Tableau 08 : Résultat de la phytochimie qualitative des différentes parties des plantes.

	Bekkaria			Bir El ater		
	F	T	R	F	T	R
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+
Leucoanthocyanes	+	+	+	+	+	+
Quinones	-	-	-	-	-	-
Tanins Catéchiques	+	+	+	+	+	+
Tanins Galliques	-	-	-	-	-	-
Stéroïdes	+	+	+	+	+	+
Terpenoïdes	-	-	-	-	-	-
Saponines	-	+	-	-	+	-
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+

+ : la présence ; - : l'absence; **F** : Feuilles; **T** : Tiges; **R** : Racines

1.5.2. Analyses quantitatives

1.5.2.1. Teneurs en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux, donne une estimation globale de la teneur des différentes classes des composés phénoliques contenus au niveau de l'extrait hydro-methanolique de la poudre de nos échantillons.

Avant de procéder à la détermination de la teneur en composés phénoliques , une courbe d'étalonnage est établi en utilisant l'acide gallique comme composé de référence (annexe 04), les teneurs en polyphenols totaux des échantillons des deux zones sont consignés dans la (fig.11)

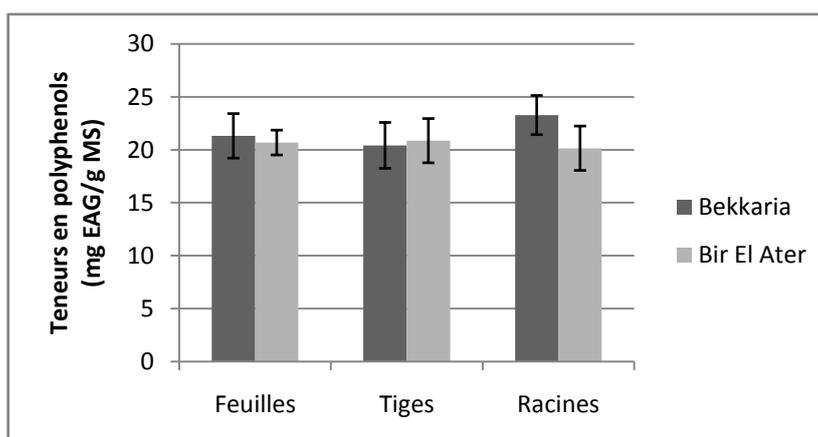


Figure11: Teneurs en polyphénols totaux des parties végétales de *Thymelaea hirsuta* des deux zones

La teneur en polyphenols totaux des différents échantillons des deux zones varie entre 20,41 ± 2,16 mg EAG/ g MS des tiges de la zone 1 et 23,27 ± 1,84 mg EAG/ g MS des

racines de la zone 1 où les tiges de la zone 01 sont les plus faibles par rapport aux autres parties, la teneur en polyphénols totaux des racine de la zone 1 est la plus élevée ($23,27 \pm 1,84$ mg EAG/ g MS).

L'analyse statistique de variance n'a montrée aucune différence significative pour les deux facteurs zones et parties. (Tab.09)

Tableau09: Analyse de Variance statistique de teneurs en polyphénols totaux de différentes parties de plante étudiée

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	10,990	10,990	2,64	0,114
partie	2	7,146	3,573	0,86	0,433
Error	32	133,154	4,161		
Lack-of-Fit	2	20,138	10,069	2,67	0,085
Pure Error	30	113,016	3,767		
Total	35	151,290			

1.5.2.2. Teneur en flavonoïdes

La quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchines (annexe 05). Les résultats obtenus exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent du catéchine, sont consignés dans la (fig.12)

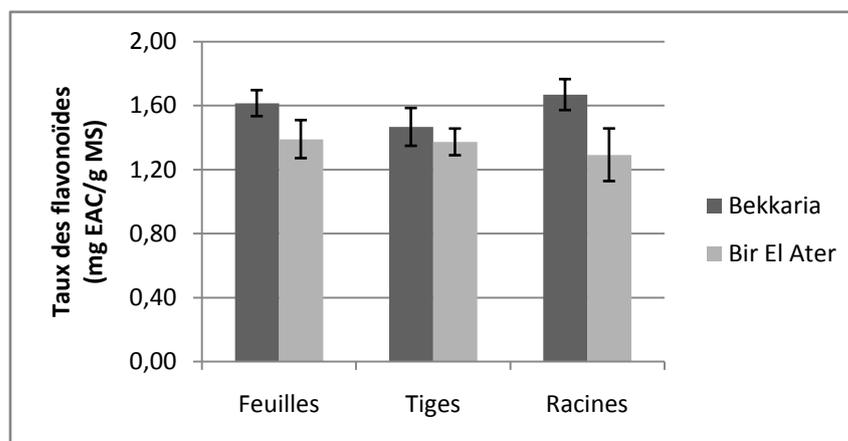


Figure 12: Le taux des flavonoïdes dans les deux zones des différentes parties végétales

La teneur des flavonoïdes varie entre $1,29 \pm 0,16$ mg EAC /g MS dans les tiges de la zone 2 qui est la plus faible et $1,66 \pm 0,09$ mg EAC /g MS, des racines de la zone 01 qui est la plus élevée, en revanche les flavonoïdes dans la zone de bekkaria sont plus élevées de bir el ater, 1,61; 1,46 et 1,66 mg EAC /g MS respectivement des feuilles, tiges et racines.

L'analyse de variance a montrée une différence très hautement significative entre les zones en revanche aucune différence significative a été affichée entre les parties. (Tab.10)

Le test de Tukey fait ressortir deux groupes différents (A et B) pour les deux zones respectivement, sachant que les valeurs les plus faibles sont celles de Bir el Ater. (Annexe 03)

Pour les parties le test affiche un seul groupe, donc aucune différence significative.

Tableau 10: Analyse de Variance statistique de teneurs en flavonoïdes de différentes parties de plante étudiée

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	0,40251	0,40251	25,39	0,000***
partie	2	0,03693	0,01846	1,16	0,328
Error	26	0,41210	0,01585		
Lack-of-Fit	2	0,09987	0,04993	3,84	0,036*
Pure Error	24	0,31223	0,01301		
Total	29	0,8515			

***: très hautement significative

*: significative

1.5.2.3. Teneur en anthocyanes

La quantité en anthocyanes dans nos extraits a été déterminée à partir de l'équation : Les résultats obtenus exprimés en milligrammes par gramme de matière sèche, le taux des anthocyanes totaux des échantillons des deux zones sont consignés dans la (fig.13)

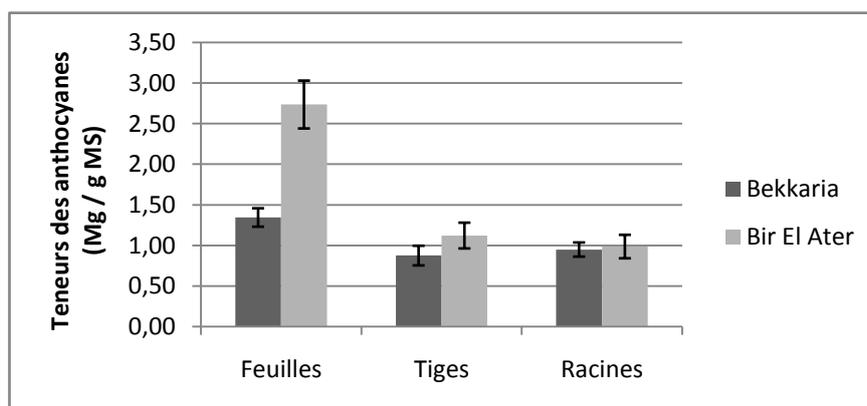


Figure 13: Teneurs des anthocyanes totaux dans les deux zones

La teneur des anthocyanes totaux varie entre $0,87 \pm 0,12$ mg/g MS dans l'extrait des tiges dans la zone 01 qui est la plus faible et $2,73 \pm 0,29$ mg/g MS dans l'extrait des feuilles des plantes de la zone 2 qui est la plus élevée.

Les teneurs en anthocyanes totaux des trois parties des plantes de la zone 2 sont élevées par rapport celles de la zone 01 où les feuilles de la zone 2 présentent une teneur importante ($2,73 \pm 0,29$ mg/g MS)

D'après l'analyse de la variance, des différences très hautement significatives entre les deux zones, ainsi que les parties. (Tab.11)

Le test de Tukey a montré l'existence de deux groupes différents l'un (A) qui représente la zone 02 qui a des valeurs plus élevées comparativement aux valeurs de la zone 01(B).

Pour le facteur partie le test montre deux groupes l'un (A) représente les feuilles qui ont la valeur la plus élevée a celle du groupe (B) (tiges et racine) (Annexe 03)

Tableau 11: Analyse de Variance statistique de teneurs en anthocyane total de différentes parties de plante étudiée

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	1168,7	1168,66	14,22	0,001***
partie	2	3723,4	1861,71	22,65	0,000***
Error	20	1643,7	82,19		
Lack-of-Fit	2	1328,6	664,30	37,94	0,000***
Pure Error	18	315,1	17,51		
Total	23	6535,8			

***: très hautement significative

1.5.2.4. Teneur en flavonoïdes aglycones

La quantité des flavonoïdes aglycones dans nos extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage du catéchines (annexe 05). Les résultats obtenus exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent du catéchine, le taux de flavonoïdes aglycones des échantillons des deux zones sont consignés dans la (fig.14)

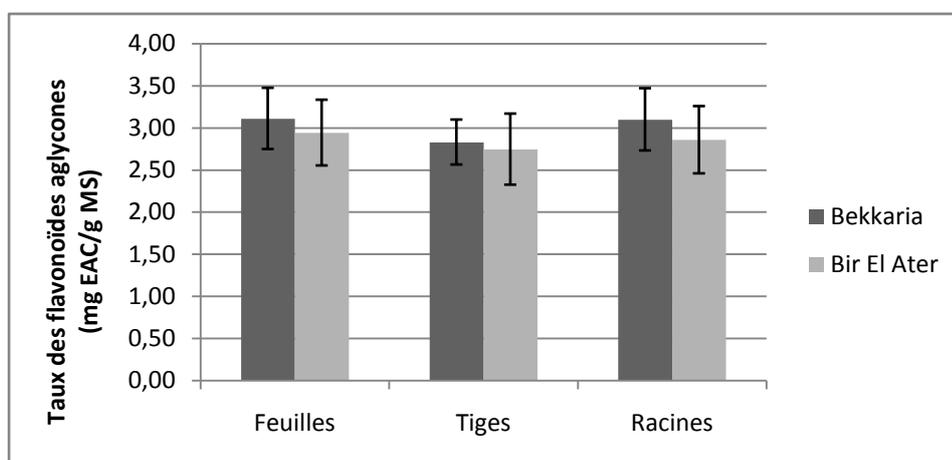


Figure 14: Teneurs des flavonoïdes aglycones dans les deux zones et les parties végétales

La teneur des flavonoïdes aglycones varie entre $2,74 \pm 0,42$ mg EAC /g MS dans les tiges de la zone 2 qui est la plus faible et $3,11 \pm 0,36$ mg EQ /g MS dans les feuilles des plantes de la zones 1 qui sont les plus élevées.

On observe que les teneurs en flavonoïdes aglycones des extraits des plantes de la zone 01 sont plus élevées que celle de la zone 02.

Selon l'analyse statistique on n'observe aucune différence significative pour tous les paramètres. (Tab.12)

Tableau 12: Analyse de Variance statistique de teneurs en flavonoïdes aglycones de différentes parties de plante étudiée

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	0,24470	0,24470	1,87	0,181
partie	2	0,38185	0,19093	1,46	0,247
Error	32	4,17871	0,13058		
Lack-of-Fit	2	0,03753	0,01877	0,14	0,873
Pure Error	30	4,14118	0,13804		
Total	35	4,80526			

1.5.2.5. Teneur en tanins condensés

La quantité des tanins condensés dans nos extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage en acide tannique (annexe 06). Les résultats obtenus exprimés en milligrammes en équivalent d'acide tannique, le taux des tanins condensés des échantillons des deux zones sont consignés dans la (fig.15)

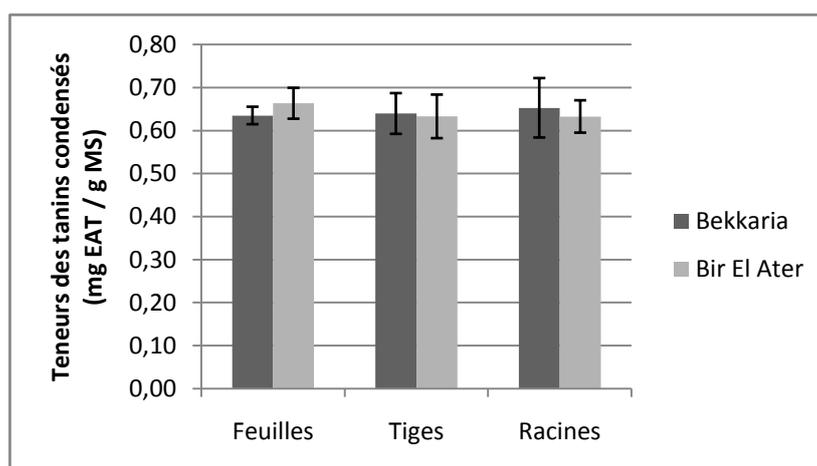


Figure 15: Teneurs des tanins condensés dans les deux zones et les parties végétales

La teneur des tanins condensés varie entre $0,63 \pm 0,03$ mg EAT / g MS des racines de la zone 2 qui est la plus faible, et $0,66 \pm 0,03$ mg EAT / g MS dans l'extrait des feuilles de la zone 02 qui est la plus élevées.

L'analyse de la variance a montrée aucune différence significative ni pour les zone ni les parties. (Tab.13)

Tableau 13: Analyse de Variance statistique de teneurs en tanins condensés de différentes parties de plante étudiée

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	0,000707	0,000707	0,32	0,579
partie	2	0,001970	0,000985	0,44	0,649
Error	26	0,058203	0,002239		
Lack-of-Fit	1	0,001840	0,001840	0,82	0,375
Pure Error	25	0,056363	0,002255		
Total	29	0,060405			

1.5.3. Test de l'activité anti oxydante : Réduction de fer (FRAP)

L'activité anti oxydante des deux extraits a été évaluée en utilisant la méthode FRAP. L'activité anti oxydante en utilisant FRAP des échantillons des deux zones sont consignés dans la (fig.16).

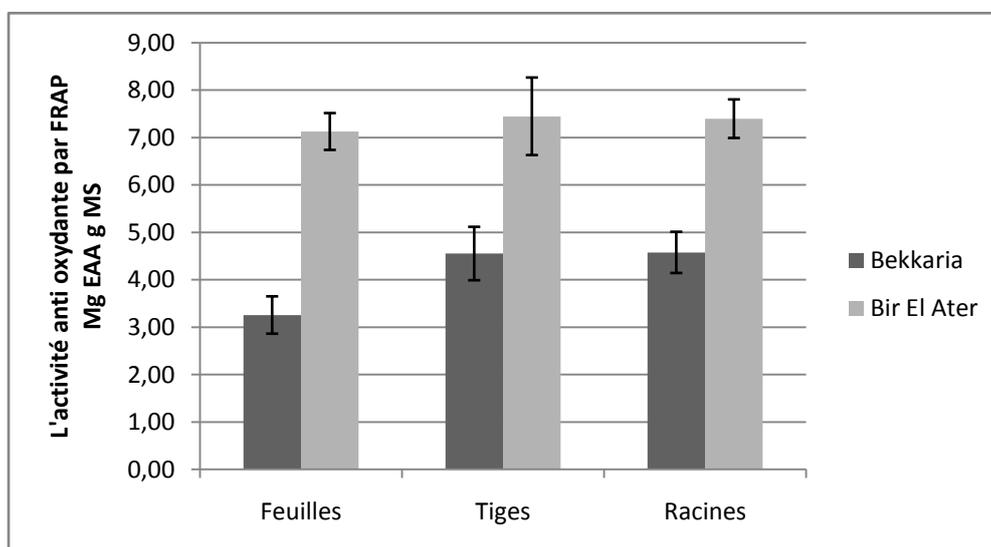


Figure 16: L'activité anti oxydante des différentes parties végétales dans les deux zones testée par FRAP

L'activité anti oxydante dans l'extrait des feuilles des plantes de la zone 01 est la plus faible ($03,25 \pm 0,39$ mg EAA / g MS), par contre elle est la plus élevée au niveau des tiges de la zone 02 ($07,44 \pm 0,38$ mg EAA / g MS).

En revanche l'activité anti oxydante est élevée dans les extraits de toutes les parties des plantes de la zone 02 par rapport aux plantes de la zone 01.

Tableau 14: Analyse de Variance statistique de L'activité anti oxydante des différentes parties végétales dans les deux zones testée par FRAP

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
zone	1	90,319	90,3189	409,67	0,000 ***
partie	2	4,818	2,4090	10,93	0,000***
Error	32	7,055	0,2205		
Lack-of-Fit	2	2,636	1,3181	8,95	0,001***
Pure Error	30	4,419	0,1473		
Total	35	110,512			

L'analyse de la variance a fait ressortir des différences très hautement significatives pour les deux facteurs zones et parties. (Tab.14)

Le test de tukey à affiché deux groupes de zones, le groupe A représente la zone de Bir El Ater avec la valeur antioxydante la plus élevée (Annexe 03).

2. Discussion générale

La comparaison de la végétation de deux stations d'études mène à comparer les conditions climatiques et édaphiques.

La comparaison des deux Zones montre pour les propriétés du sol que : Bekkaria a un sol léger, avec un très bon drainage, la matière organique est décomposée avec une faible fertilité, et une perte importante d'éléments azotés par lessivage et aussi du à la capacité du sol à libérer l'azote. La teneur en phosphore assimilable est normale (0.04 ppm), ce qui favorise le bon développement du système racinaire de la plante et surtout avec la teneur faible en carbonates (7.13 %). Il est donc difficile qu'il y ait des fixations de phosphore qui réduisent sa disponibilité. Il peut y avoir carence induite de Mg par excès de Ca. La teneur en K est faible (0.1 meq / 100 g).

Bir El ater a un sol moyennement léger, avec un drainage moyen et une capacité de rétention de l'eau et des éléments nutritifs un peu faible. Le faible rapport carbone/azote indique une minéralisation rapide de la matière organique du sol. La teneur en phosphore est faible (0.02 ppm) et il y a risque de rétrogradation du phosphore ce qui réduit sa disponibilité par rapport à la teneur normale en carbonates (17.91 %) . Il peut y avoir carence induite de Mg (1.0 meq / 100 g). par excès de Ca. La teneur en K est normale (0.3 meq / 100 g). et le rapport K/Mg est normal aussi, donc pas de risque de carence en K.

Les sols sont moyennement différents pouvant influencer la croissance et le développement des populations végétales.

La comparaison du climat des deux zones montrent que Bir al ater est plus chaud et avec moins de précipitations que Bekkaria, ce qui préconise une concentration de métabolites secondaires comme moyen de défense par la plante contre un stress hydrique.

Le passage à la mise en évidence et aux dosages a permis de faire certaines déductions

La détection colorimétrique des composés phénoliques de poudre végétale met en évidence divers métabolites secondaires dont les flavonoïdes, les leucoanthocyanes, les tanins catéchiques, les stéroïdes et les alcaloïdes, détectés dans toutes les parties végétales (feuilles, tiges et racines) de la plante *Thymelaea hirsuta*. Les travaux de Ouda-Amari *et al.*, (2014) montrent la présence de tous les composés testés en screening chimique en plus des quinones et les terpènes. Aussi Dohou *et al.* (2003) montrent que les différents organes de *T. hirsuta* contiennent des tanins catéchiques alors que certaines autres Thymelaeacées telle que *T. lythroides* contiennent aussi bien le type gallique que catéchique. La présence des alcaloïdes dans nos échantillons peuvent rendre la plante indigeste pour le cheptel (Lastherme, 2009)

La présence de la plus part des composés phénoliques dans les trois parties végétales (feuilles, tiges et racines) donne une importance à *T. hirsuta* comme une source médicinale non négligeable. Pour bien exploiter cette plante il faut déterminer les concentrations de tous ses principes actifs d'une manière à connaître leurs complémentarités, d'où, la complexité de l'effet simple de chacun.

Pour la teneur en cendre, les résultats obtenus sont confirmés par les travaux de Turner (1956), Lambercy (1993), De Monmollin (1997) et Brill (1999), qui montrent que les cendres ont des compositions très variées, influencées par la nature de l'espèce végétale, la partie prélevée (feuillage, branche, tronc, ...), la saison et le sol.

La phytochimie quantitative a révélé des taux notables et variables en polyphénols et flavonoïdes.

Le dosage des polyphénols totaux a donné des valeurs proches entre toutes les parties de plante et même entre zones, ce qui explique que pour le total des polyphénols des deux populations de la plante n'a subi aucune influence relative aux conditions pédoclimatiques sur les différentes parties végétales dont les valeurs sont comprises entre $20,14 \pm 2,09$ mg EAG/g MS et $23,27 \pm 1,84$ mg EAG/g MS. Ces résultats ne concordent pas avec les études de Aganga, (2001) ; Pedneault *et al.*, (2001) ; Fiorucci., (2006) in Bouzid., (2009) qui montrent que plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques, tel que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols.

En ce qui concerne les flavonoïdes, les résultats obtenus montrent des différences entre les valeurs de la zone de Bakkaria et Bir El Ater, dont les plus élevées sont celles de Bakkaria, avec une valeur chez les racines égale à $1,66 \pm 0,09$ mg EAC/g MS comparativement à une valeur de $1,29 \pm 0,16$ mg EAC/g MS pour les racines de Bir El Ater, cette variation peut être expliquée par la différence climatique et pédologique entre les deux zones, où le développement du système racinaire est normal à cause de la disponibilité élevée de phosphore assimilable (12,2 ppm) et une teneur faible de calcaire total (carbonates 7,13%) dans un sol sableux, et les précipitations plus élevées dans la zone de Bakkaria. Un système racinaire développé donne une plante vigoureuse, en assurant un équilibre entre la partie souterraine et aérienne, ce qui explique les valeurs les plus élevées $1,61 \pm 0,08$ mg EAC /g MS et $1,46 \pm 0,11$ mg EAC /g MS respectivement dans les feuilles et tiges de la zone de Bakkaria. Egalement on peut justifier les valeurs obtenues dans les feuilles et les tiges par l'étude de Gehin *et al.* (2006) qui montre que les flavonoïdes assurent la protection des tissus

de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire. Comparativement, les résultats obtenus sont plus élevées de celles de Ouda Amari et *al.* (2014) qui trouvent des teneurs de 2.94, 3.15 et 5.7 mg ECAT/ g MS chez les tiges, feuilles et fleurs respectivement. Nous pouvons expliquer cette différence par les conditions et stade de récolte et la méthode d'extraction.

Les valeurs des anthocyanes, sont très variable entre zone et entre parties, pour les zones la valeur la plus élevée est celle de Bir El Ater (02.73 ± 0.29 mg/g), cette différence trouve probablement son explication dans le facteur ensoleillement et la nutrition azoté et potassique qui est peu favorisées dans la zone de Bekkaria, ces deux facteurs ont un effet positif sur la photosynthèse et la surface foliaire des parties feuilles, où les grandes valeurs sont enregistrées ($2,73 \pm 0,29$ mg/g et $1,34 \pm 0,11$ mg/g) de Bir El Ater et Bekkaria respectivement. Ces résultats sont convenables avec les études de Hilbert, (2002), qui met également en évidence des interactions de la nutrition azotée et de l'alimentation hydrique avec l'ensemble de l'alimentation minérale de la vigne (en particulier P et K). Une alimentation hydrique réduite ou une nutrition limitée en azote stimulent la synthèse d'anthocyanes tandis qu'un niveau d'azote très élevé semble inhiber cette synthèse. Cet effet inhibiteur n'est pas observé sous contrainte hydrique. Les alimentations hydrique et azotée exercent donc probablement un contrôle sur l'activité d'une ou de plusieurs enzymes impliquées dans les premières étapes de la voie de biosynthèse des anthocyanes. Les niveaux de nutrition azotée et d'alimentation hydrique conduisent à des profils d'anthocyanes différents.

Le test de l'activité anti oxydante a été effectué par la méthode de réduction du fer (FRAP) basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu. Les résultats obtenus montrent une différence entre les deux zones, où les meilleures valeurs sont trouvées chez la population de la zone de Bir El Ater avec une valeur de 7,33, ces résultats sont en corrélation positive avec les valeurs d'anthocyanes, mais pas avec celles des flavonoïdes. La comparaison des valeurs du test du FRAP obtenues pour les trois parties (feuilles, tiges et racines) montre que les valeurs les plus faibles ($3,25 \pm 0,39$, $4,55 \pm 0,56$, $4,57 \pm 0,43$ mg EAA/ g MS) respectivement de pouvoir antioxydant sont enregistrées dans la zone de Bekkaria, ce qui confirme le rôle important des anthocyanes dans la neutralisation des radicaux libres.

les différentes teneurs obtenues des composés phénoliques, pouvant s'expliquer par la distribution des métabolites secondaires, qui peut changer pendant le développement de la plante et aussi peuvent être lié aux différents facteurs climatiques (température, exposition

solaire, précipitations, caractéristiques physico-chimiques de sol), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes (Falleh *et al.*, 2008).

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques.

Conclusion

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

La famille des polyphénols renferme de nombreux composés d'intérêt nutritionnel et valorisables dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et dans la cosmétologie en raison de leurs propriétés réductrices (antioxydant), de leur capacité à interagir avec les ions métalliques et une grande variété de protéines.

Dans l'objectif de la valorisation des plantes spontanées à caractère médicinal de Tébessa et d'évaluation de la richesse en composés phénoliques, une étude phytochimique de l'espèce *Thymelaea hirsuta* a été effectuée dans les deux zones Bekkaria et Bir El Ater.

Les résultats obtenus ont montré que nos échantillons analysés sont riches en composés phénoliques avec une légère supériorité des plantes de Bekkaria, cependant les anthocyanes sont assez élevés chez les plantes de Bir El Ater avec aussi une bonne activité antioxydante.

En fin, la présente étude montre la richesse de la plante étudiée en composés phénoliques, et apporte donc une contribution scientifique quant à l'usage traditionnel massif de *T.hirsuta* par les populations. Le potentiel antioxydant intéressant d'extraits de l'espèce permet de l'utiliser dans plusieurs domaines : en médecine, en industrie alimentaire et en cosmétique. Il sera, donc, important dans les futures études d'identifier les constituants actifs, responsables de l'activité antioxydante qui semblent être une alternative aux antioxydants synthétiques. D'autres études plus poussées concernant la confirmation de la capacité antioxydante de la plante par des tests *in vitro* et *in vivo*.

Références bibliographiques

1. Abou-Karam, M., El-Shaer, N. S., & Shier, W. T. (1998). Inhibition of oncogene product enzyme activity as an approach to cancer chemoprevention. Tyrosine-specific protein kinase inhibition by daphnoretin from *Thymelaea hirsuta* root. *Phytotherapy Research*, 12(4), 282-284.
2. Afanas'eva, I. B., Ostrakhovitch, E. A., Mikhal'chik, E. V., Ibragimova, G. A., & Korkina, L. G. (2001). Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals. *Biochemical pharmacology*, 61(6), 677-684.
3. Akinmoladun A.C., Ibukun E.O., Afor E., Obuotor E.M., Farombi E.O. Phytochemical constituent and antioxidant activity of extract from the leaves of *Ocimum gratissimum*. Scientific research and essay, 2007, 2(5), 163-166
4. Ali, M. A., Oh, J. H., & Kim, P. J. (2008). Evaluation of silicate iron slag amendment on reducing methane emission from flood water rice farming. *Agriculture, ecosystems & environment*, 128(1), 21-26.
5. Aliaga, C., & Lissi, E. A. (2004). Comparison of the free radical scavenger activities of quercetin and rutin An experimental and theoretical study. *Canadian journal of chemistry*, 82(12), 1668-1673.
6. Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *Productions animales*, 15(1), 67-82.
7. Baborun, T., Grinier, B., Trofin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C. and Pinkas, M. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11) : 1086-1089
8. Baize, D. (2000). *Guide des analyses en pédologie: 2e édition, revue et augmentée*. Editions Quae.
9. Barsoum, Maged Sami, et al. "Tamponade and injection sclerotherapy in the management of bleeding oesophageal varices." *British Journal of Surgery* 69.2 (1982): 76-78.
10. Belouahem-Abed, D., F. Belouahem, and G. Bélair. "Biodiversité floristique et vulnérabilité des aulnaies glutineuses de la Numidie algérienne (NE Algérie)." *European Journal of Scientific Research* 32.3 (2009): 329-361.
11. Berkiks, I., Mesfioui, A., Ouichou, A., Benazzouz, B., El Hessni, A., **2013**, *J. Neurol. Sci*, 333 Supplement 1, 287.
12. Bolton, G. E., & Ockenfels, A. (2000). ERC: A theory of equity, reciprocity, and competition. *American economic review*, 166-193.
13. Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., 2013, *J. Ethnopharmacol*, 148 (2), 395-402.
14. Brooks, S., & Suchey, J. M. (1990). Skeletal age determination based on the os pubis: a comparison of the Acsádi-Nemeskéri and Suchey-Brooks methods. *Human evolution*, 5(3), 227-238.
15. Bruneton J. 1999. Pharmacogirosie (Photochimie plantes médicinales) 3^e Ed : Paris,France.

16. Bruneton, J. 1993. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier, Paris.
17. Carpena, J., & Lacout, J. L. (1997). Des apatites naturelles aux apatites synthétiques: Utilisation des apatites comme matrice de conditionnement de déchets nucléaire séparés. *L'actualité Chimique*, (2), 3-9.
18. Chebil, L., Humeau, C., Falcimaigne, A., Engasser, J. M., & Ghoul, M. (2006). Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochemistry*, 41(11), 2237-2251.
19. Cheriti, A., Rouissat, A., Sekkoum, K., & Balansard, G. (1995). Plantes de la pharmacopée traditionnelle dans la région d'El-Bayadh (Algérie). *Fitoterapia*, 66(6), 525-538.
20. Cowan MM. 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Res.*, 12 (4): 564- 582.
21. Crozier, S. R., Javaid, M. K., Harvey, N. C., Gale, C. R., Dennison, E. M., Boucher, B. J., ... & Princess Anne Hospital Study Group. (2006). Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *The Lancet*, 367(9504), 36-43.
22. Das, S. R., & Nasipuri, A. (1999). On-demand multipath routing for mobile ad hoc networks. In *Computer Communications and Networks, 1999. Proceedings. Eight International Conference on* (pp. 64-70). IEEE.
23. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97: 654-660.
24. Dohou (N.), Doumi (L.), Gmira (N.), Hmamouchi (M.) – Valorisation des substances naturelles de *Thymelaea lythroïdes* (Barr. & Murb.). -
25. Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N., 2003, *Bull. Soc. Pharm*, Bordeaux, 142, 61-78.
26. Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroïdes*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.
27. Dohou, Tarik, René Billaz, and Enda Graf Sahel. *La décentralisation en Afrique de l'Ouest: Entre politique et développement*. Ed. Marc Totté. KARTHALA Editions, 2003.
28. Dumas, Y., Leoni, C., Portas, C. A. M., & Bieche, B. (1993, November). Influence of water and nitrogen availability on yield and quality of processing tomato in the European Union countries. In *V International Symposium on the Processing Tomato 376* (pp. 185-192).
29. Edenharder, R., & Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 540(1), 1-18.
30. Edenharder, R., & Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 540(1), 1-18.

31. El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., & Young, A. J. (2004). Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*, 430(1), 37-48.
32. Ercil, D., Sakar, M.K., Del Olmo, E., San Feliciano, A., **2004**, *Turk. J. Chem*, 28, 133.
33. Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331: 372-379.
34. Ferhat, M., Harkat, H., Lavaud, Ca., Haba, H., Long, C., Benkhaled, M., **2010**, Iridoids and flavonoid from *Linaria aegyptiaca* (L.) Dum. subsp. fruticosa, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38 833–835.
35. Fleuriet, A. N. N. I. E., & Macheix, J. J. (1977). Effect des blessures sur les composés phénoliques des fruits de tomates cerise (*Lycopersicum esculentum* var. cerasiforme). *Physiol Veg*, 15, 239-250.
36. García-Granados, A., & Sáenz de Buruaga, J. M. (1980). Thymelaeaceae phytochemistry I. Diterpenes, triterpenes and sterols of *Thymelea hirsuta* L. *Anales Quim Ser C: Quim Org Bioquim*, 76, 94-95.
37. García-Granados, A., & Sáenz de Buruaga, J. M. (1980). Thymelaeaceae
38. George, V., & Rishi, A. K. (1982). Constituents of *Thymelaea passerina*. *Fitoterapia*.
39. Georgetti, S. R., Casagrande, R., Di Mambro, V. M., Azzolini, A. E., & Fonseca, M. J. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *The AAPS Journal*, 5(2), 111-115.
40. Gharbi, H., & Ktari, M. H. (1970). Régime alimentaire des rougets (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758 et *Mullus surmuletus* Linnaeus, 1758) du Golfe de Tunis.
41. Guignard, B., Bossard, A. E., Coste, C., Sessler, D. I., Lebrault, C., Alfonsi, P., ... & Chauvin, M. (2000). Acute Opioid Tolerance Intraoperative Remifentanyl Increases Postoperative Pain and Morphine Requirement. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 93(2), 409-417.
42. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1990). [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in enzymology*, 186, 1-85.
43. Handjieva, N.V., Ilieva, E.I., Spassov. S.L., Popov, S.S., **1993**, *Tetrahedron*, 49 (41), 9261-9266
44. Harborne, J. B., & Williams, C. A. (1973). A chemotaxonomic survey of flavonoids and simple phenols in leaves of the Ericaceae. *Botanical journal of the Linnean Society*, 66(1), 37-54.
45. Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
46. Heimler, D., Vignolini, P., Din, M.G., Vinueri, F.F., Ronani, A. 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food chemistry*, 99 : 464-469.
47. Heywood VH. 1996. Les Plantes à Fleurs. Ed : Nathan. Paris. Pp : 159-160.
48. Hilbert, Gilles, et al. "Noninvasive ventilation in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease in patients with and without home noninvasive ventilation." *Critical care medicine* 30.7 (2002): 1453-1458.

49. Hua, S. S., Grosjean, O. K., & Baker, J. L. (1999). Inhibition of aflatoxin biosynthesis by phenolic compounds. *Letters in applied microbiology*, 29(5), 289-291.
50. Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.
51. Ismail, M. E., & May, C. P. (1978). On a family of approximation operators. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 63(2), 446-462.
52. Ismail, M. E., & May, C. P. (1978). On a family of approximation operators. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 63(2), 446-462.
53. J Marco, J., Silber, S., Albertsson, P., Avilés, F. F., Camici, P. G., Colombo, A., Hamm, C., ... & Urban, P. (2005). Guidelines for percutaneous coronary interventions. *European heart journal*, 26(8), 804-847.
54. Jarrige, Jean-Francois, and M. Usman Hassan. "Funerary complexes in Baluchistan at the end of the third millennium in the light of recent discoveries at Mehrgarh and Quetta." *South Asian Archaeology* (1985): 150-166.
55. Karonen, M., Loponen, J., Ossipov, V., & Pihlaja, K. (2004). Analysis of procyanidins in pine bark with reversed-phase and normal-phase high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 522(1), 105-112.
56. Kitagawa, I., Tani, T., Akita, K., Yosioka, I., 1978, *Chem. Pharm. Bull*, 21.
57. Landis, G. N., & Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of ageing and development*, 126(3), 365-379.
58. Lastherme G. 2009. Indicator of potential residual carbon after exogenous organic matter application, paru à l'European Journal of Soil Science.
59. Leyva, A., Jarillo, J. A., Salinas, J., & Martinez-Zapater, J. M. (1995). Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. *Plant physiology*, 108(1), 39-46.
60. Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y. 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food chemistry*, 102 : 771-776
61. Lopez-Andreu, F. J., Esteban, R. M., Molla, E., & Carpena, O. (1988). Effect of nutrition on tomato fruit quality. I. Yield, physical parameters, nitrogen fractions acidity, and sugar contents. *An Edaphol. Agrobiol.*, 47, 1181-1190.
62. Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR Presses polytechniques.
63. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
64. Mekhalfi, Mohamed L., et al. "Recovering the sight to blind people in indoor environments with smart technologies." *Expert Systems with Applications* 46 (2016): 129-138.
65. Mekhalfi ,T. (2016). *Séparation et Détermination Structurale de Métabolites secondaires de deux Plantes Algériennes - Activités Biologiques* (Doctorat de troisième cycle LMD). P 07
66. Miski, M., Meriçli, A. H., & Mabry, T. J. (1988). Sesquiterpene lactones of *Onopordon tauricum*. *Phytochemistry*, 27(5), 1417-1420.

67. Mohammadi, Z. (2013). *Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie* (Doctoral dissertation). p 27.
68. Mortensen, L. M., & Gislerød, H. R. (2005). Effect of air humidity variation on powdery mildew and keeping quality of cut roses. *Scientia horticultrae*, 104(1), 49-55.
69. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.
70. Napoli, C., Glass, C. K., Witztum, J. L., Deutsch, R., D'armiento, F. P., & Palinski, W. (1999). Influence of maternal hypercholesterolaemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *The Lancet*, 354(9186), 1234-1241.
71. Nawwar, M. A., Ishak, M. S., Alei El Din, A., & Meshaal, S. A. (1977). Flavonoids of *Reaumuria mucronata* and *Thymelaea hirsuta*. *Phytochemistry*, 16(8), 1319-1320.
72. Olsen S. R., Cote C. V., Watanabe F. S., Dean L. A., 1954. *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. U.S.D.A. Circular 939, 8 p.
73. Ouda Amari, N., Bouzouina, M., Berkani, A., Lotmani, B., Asian Pac. **2014**, *J. Trop. Dis*, 4 (2), 104-109.
74. Ozenda, P. (1991). *Flora and vegetation of the Sahara*. CNRS.
75. Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., & Akev, N. (2008). *Antioxidant activity of Smilax excelsa L.* leaf extracts. *Food Chemistry*, 110(3), 571-583.
76. Penalosa, J. M., Sarro, M. J., Revilla, E., Carpena, R., & Cadahia, C. (1989). *Influence of phosphorus supply on tomato plant nutrition*. *Journal of plant nutrition*, 12(5), 647-657.
77. phytochemistry I. Diterpenes, triterpenes and sterols of *Thymelea hirsuta L.* *Anales Quim Ser C: Quim Org Bioquim*, 76, 94-95.
78. Potterat, O., **1997**, Antioxidants and free radical scavengers of natural origin, *Current*
79. Pryor, J. (2000). The skeptic and the dogmatist. *Noûs*, 34(4), 517-549.
80. Quezel, P., Santa, S., 1963, *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2.
81. Quinlan, J. R. (1992, November). Learning with continuous classes. In *5th Australian joint conference on artificial intelligence* (Vol. 92, pp. 343-348).
82. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
83. Rizk, S. L., & Sky-Peck, H. H. (1984). Comparison between concentrations of trace elements in normal and neoplastic human breast tissue. *Cancer research*, 44(11), 5390-5394.
84. Ruiz-Carrascal, J., Ventanas, J., Cava, R., Andrés, A. I., & Garcia, C. (2000). Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33(2), 91-95.
85. Saleh, S. D., Lee, R. J., & Prien, E. P. (1965). Why nurses leave their jobs: An analysis of female turnover. *Personnel Administration*, 28(1), 25-28.
86. Shaltout, K. H., & El-Beheiry, M. A. (2000). Demography of *Bassia indica* in the Nile Delta region, Egypt. *Flora-Morphology-Geobotany-Ecophysiology*, 195(4), 392-397.

87. Smith, S. M., Jenkinson, M., Woolrich, M. W., Beckmann, C. F., Behrens, T. E., Johansen-Berg, H., ... & Niazy, R. K. (2004). Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage*, 23, S208-S219.
88. Spichiger, Rodolphe, Clément Calenge, and Bastian Bise. "Geographical zonation in the Neotropics of tree species characteristic of the Paraguay-Paraná Basin." *Journal of Biogeography* 31.9 (2004): 1489-1501.
89. Sroka, J. J., & Braid, L. D. (2005). Human and machine consonant recognition. *Speech Communication*, 45(4), 401-423.
90. Stewart, S. H., & Kushner, M. G. (2001). Introduction to the special issue on "Anxiety Sensitivity and Addictive Behaviors". *Addictive Behaviors*, 26(6), 775-785.
91. Svoboda, K. P., & Hampson, J. B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW*, 1-17.
92. Tabry, I. F., Nassar, V. H., Rizk, G., Touma, A., & Dagher, I. K. (1975). Cavernous hemangioma of the heart: case report and review of the literature. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 69(3), 415-420.
93. Touati D. 1985. Contribution à la connaissance du profil biochimique des dicotylédones buissonnantes et arbustes de la Méditerranée. Thèse de 3 ème cycle. Université Claude Bernard, Lyon I, Pp :168.
94. Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(3), 147-157.
95. Trigui M, Ben housna A, Tounsi S, Jaoua S. 2012. Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaea hirsute* with special reference to its mode of action. centre of biotechnology of sfax, University of sfax, Tunisia. P: 152,156.
96. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
97. Van Acker, S. A., Tromp, M. N., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331-342.
98. Van Antwerpen, B., Hutton, M. D., Baeckler, G., & Yuan, R. (2006). *U.S. Patent No. 7,120,883*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
99. Van der Bank, M., Fay, M. F., & Chase, M. W. (2002). Molecular phylogenetics of *Thymelaeaceae* with particular reference to African and Australian genera. *Taxon*, 51(2), 329-339.
100. Vendrell, J., Fernandez-Real, J. M., Gutierrez, C., Zamora, A., Simon, I., Bardaji, A., ... & Richart, C. (2003). A polymorphism in the promoter of the tumor necrosis factor- α gene (-308) is associated with coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*, 167(2), 257-264.
101. Virot, P., Petitcolin, P. B., & Vallejo, C. (2004). Collaboration urgentistes et cardiologues dans la prise en charge de l'infarctus du myocarde aigu. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux. Pratique*, (FEV), 7-8.

- 102.** Wikimedia, Localisation des communes dans la wilaya de Tébessa, 5 juin 2012. Dans *Wikipédia, l'encyclopédie libre*. Repéré le 12 février 2017 à 20 :30 <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Fichier:Dz - 12 - T%C3%A9bessa.svg&lang=fr>
- 103.** Wilkens, R. T., Spoerke, J. M., & Stamp, N. E. (1996). Differential responses of growth and two soluble phenolics of tomato to resource availability. *Ecology*, 77(1), 247-258.
- 104.** World Health Organization, **2002**, WHO traditional medicine strategy 2002-2005.
- 105.** Zhu, X., Wang, J., Zhang, X., Chang, Y., & Chen, Y. (2010). Trophic transfer of TiO₂ nanoparticles from daphnia to zebrafish in a simplified freshwater food chain. *Chemosphere*, 79(9), 928-933.
- 106.** Zornoza, P., & Esteban, R. M. (1984). Flavonoids content of tomato plants for the study of the nutritional status. *Plant and soil*, 82(2), 269-271.

Annexes

Annexes 01 : Enquête ethnobotanique sur l'utilisation traditionnelle de la plante
Thymelaea hirsuta

Nom : _____

Prénom : _____

Age : _____ Sexe : _____

Hébergement : _____ wilaya de : _____

Habitation : Ville campagne

Marié Oui Non

Questions :

Est-ce que vous faites des traitements avec des plantes ? Oui Non

Est-ce que vous connaissez la plante el methnane ? Oui Non

Où se trouve-t-elle généralement ?

Est-ce que vous utilisez cette plante ?

Quels sont les maladies qui peuvent être guéris par cette plante ?

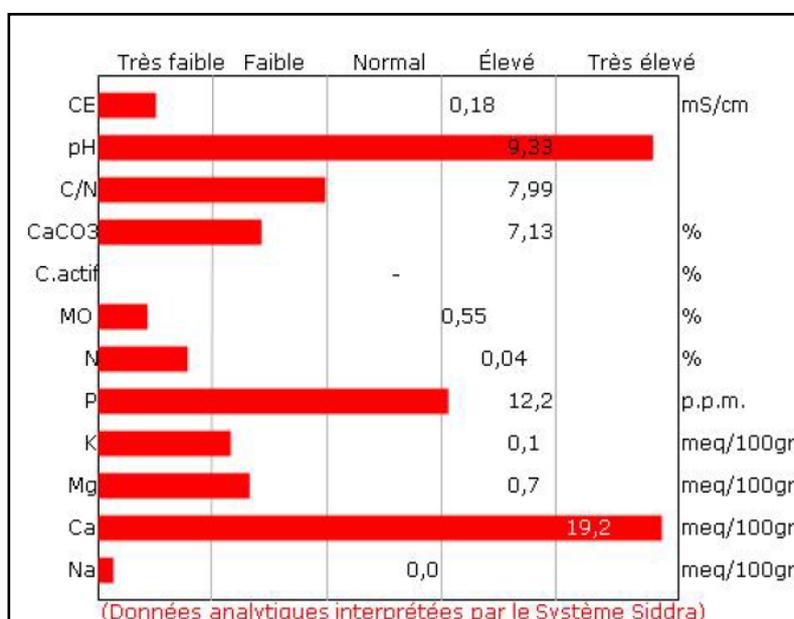
Quelles parties utilisez-vous ? Et de quelles manières ?

Est-ce que vous remarquez de bons résultats après l'utilisation ?

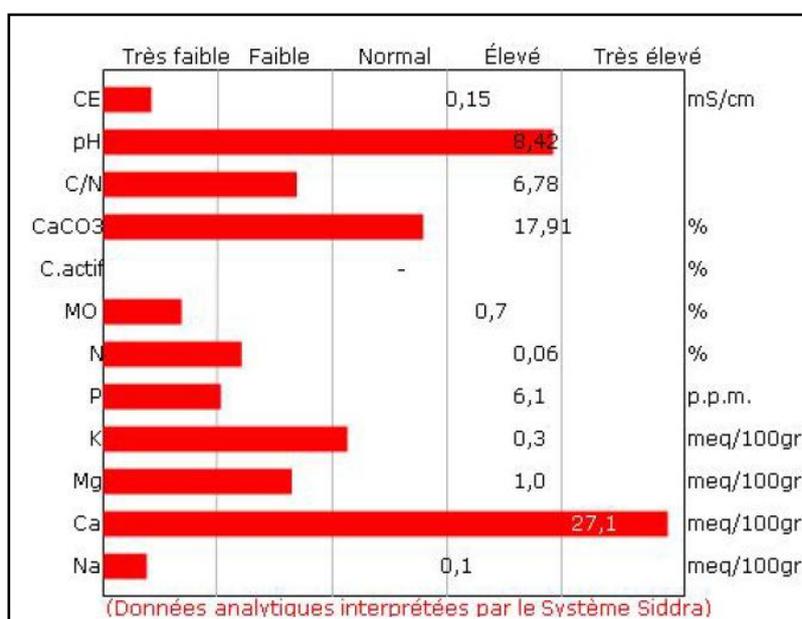
CHAIB Faouzi
HAFFAD Ammar

Annexes 02 : Interprétation analytique des données d'analyse du sol des deux zones par le système SIDDRA

Zone de Bekkaria



Zone de Bir el ater



Annexes 03 : Différents groupes trouvés lors de l'analyse statistique**Tukey Pairwise Comparisons: Response = eau, Term = zone**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

zone	N	Mean	Grouping
Bir El Ater	9	64,7778	A
Bekkaria	9	53,6111	B

Tukey Pairwise Comparisons: Response = eau, Term = partie

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

partie	N	Mean	Grouping
Tige	6	61,7500	A
Feuille	6	61,3333	A
Racine	6	54,5000	B

Tukey Pairwise Comparisons: Response = flavonoïde, Term = zone

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

zone	N	Mean	Grouping
Bekkaria	15	1,58305	A
Bir El Ater	15	1,35138	B

Tukey Pairwise Comparisons: Response = anthocy, Term = zone

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

zone	N	Mean	Grouping
Bir El Ater	12	1,61438	A
Bekkaria	12	1,05613	B

Tukey Pairwise Comparisons: Response = anthocy, Term = partie

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

partie	N	Mean	Grouping
Feuille	8	2,03963	A
Tige	8	0,99838	B
Racine	8	0,96775	B

Comparisons for frap**Tukey Pairwise Comparisons: Response = frap, Term = zone**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

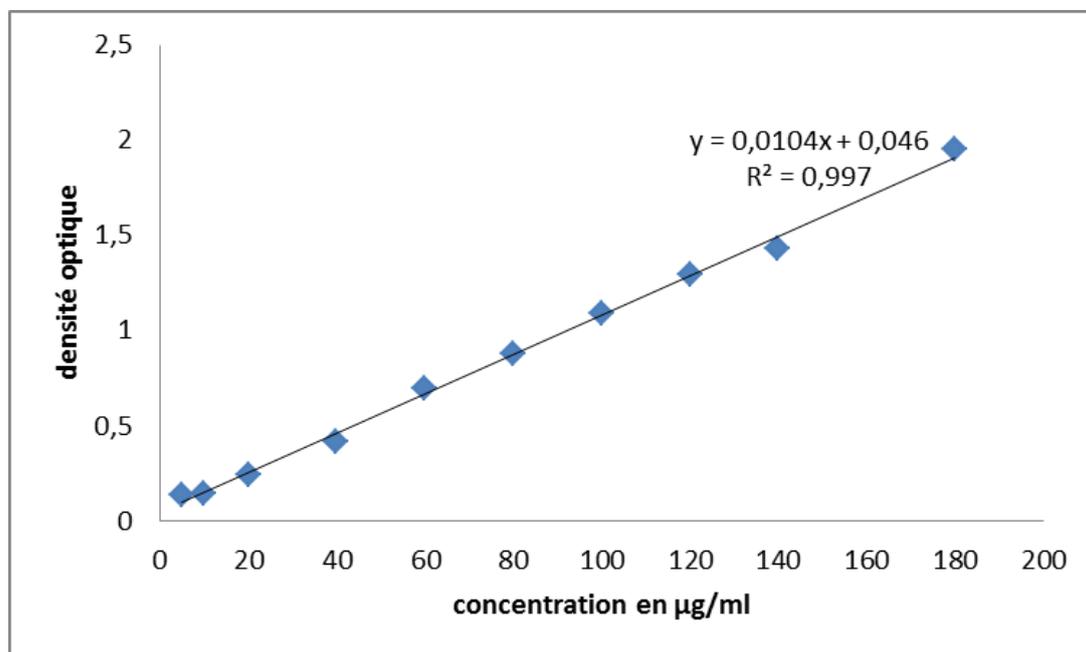
zone	N	Mean	Grouping
Bir El Ater	15	7,33087	A
Bekkaria	21	4,08271	B

Comparisons for frap**Tukey Pairwise Comparisons: Response = frap, Term = partie**

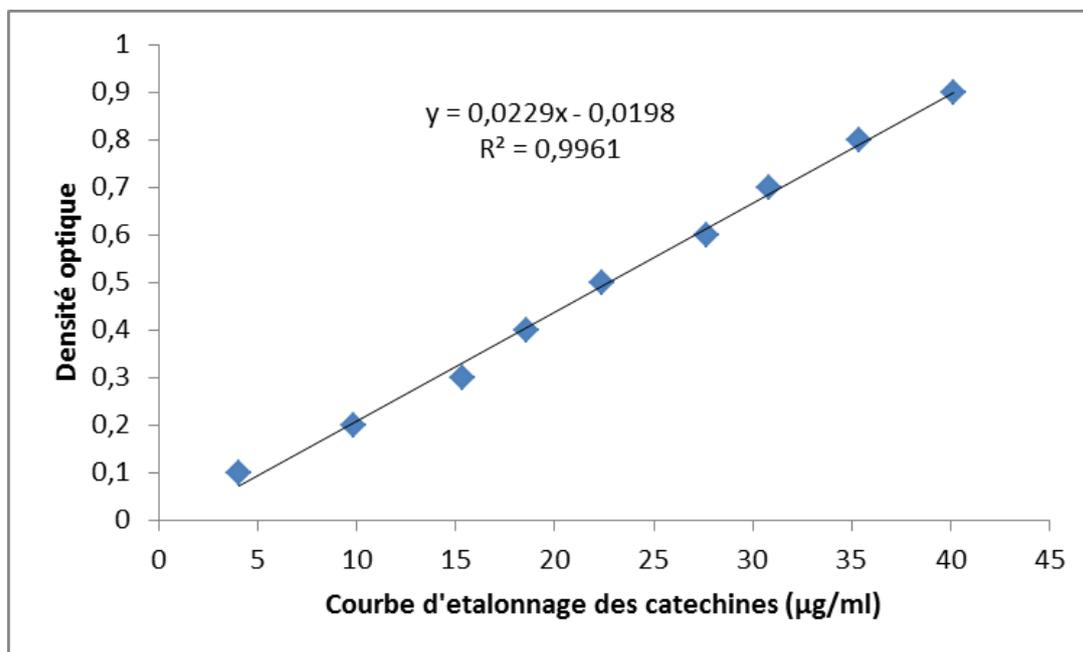
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

partie	N	Mean	Grouping
Racine	10	6,00890	A
Tige	11	5,90342	A
Feuille	15	5,20804	B

Annexes 04 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme composé de référence des polyphenols totaux



Annexes 05 : Courbe d'étalonnage des catéchines comme composé de référence des flavonoïdes et flavonoïdes aglycones



Annexes 06 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique comme composé de référence des tanins condensés

