



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université Larbi Tébessi-Tébessa-



Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Département : science de la matière

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

Domaine : sciences de la matière

Filière : chimie

Option : Chimie des produits naturels

*Etude comparative de différentes méthodes d'extraction
des principes actifs de l'Atriplex Halimus L. de la ville
de Tébessa et estimation du pouvoir antioxydant de cette
plante par voltammétrie cyclique*

Présenté par :

BOUDIBA Fériel

OUNADI Rekia

Devant le jury :

Dr. BOUGUESSA Sabrina	MCA	U. Tébessa	Présidente
Dr. TEBBOUB Omar	MCB	U. Tébessa	Examineur
Dr. BOUDIBA Louiza	Pr.	U. Tébessa	Encadreur

Promotion **2020-2021**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Le choix de notre plante s'est porté sur l'*Atriplex halimus L.* pour ces vertus thérapeutiques traditionnels contre le diabète, la dépression, l'inflammation et le cancer. Elle a un pouvoir de faire dissoudre les kystes et les calculs rénaux. Dans ce travail, nous avons identifié ses composants et étudié son comportement antioxydant par voltamétrie cyclique.

Les tests phytochimiques ont mis en évidence les polyphénols et les flavonoïdes (flavonones) entre autres. Des extractions solide-liquide et liquide-liquide ont été faites dans différents solvants et par différentes méthodes.

Un test antioxydant des différents extraits de cette plante, pour le piégeage des radicaux superoxydes, a été effectué par voltamétrie cyclique, et l'un des extraits a montré une efficacité inhibitrice similaire à celle de l'acide gallique.

Mots clés : *Atriplex halimus L.*, comparaison, méthodes d'extractions, activité antioxydante, voltamétrie cyclique.

The *Atriplex halimus* L. was our plant choice for its traditional therapeutic virtues against diabetes, depression, inflammation, and cancer. It has the power to dissolve cysts and kidney stones. In this work, we have identified its components and studied its antioxidant behavior by cyclic voltammetry.

Phytochemical tests revealed the presence of polyphenols and flavonoids (flavonones) among others. Solid-liquid and liquid-liquid extractions were made in different solvents and by several methods.

An antioxidant test of different extracts of this plant for the scavenging of superoxide radicals was carried out by cyclic voltammetry, and one of the extracts showed an inhibitor efficacy similar to gallic acid.

Keywords: *Atriplex halimus* L., comparison, extraction methods, antioxidant activity, cyclic voltammetry.

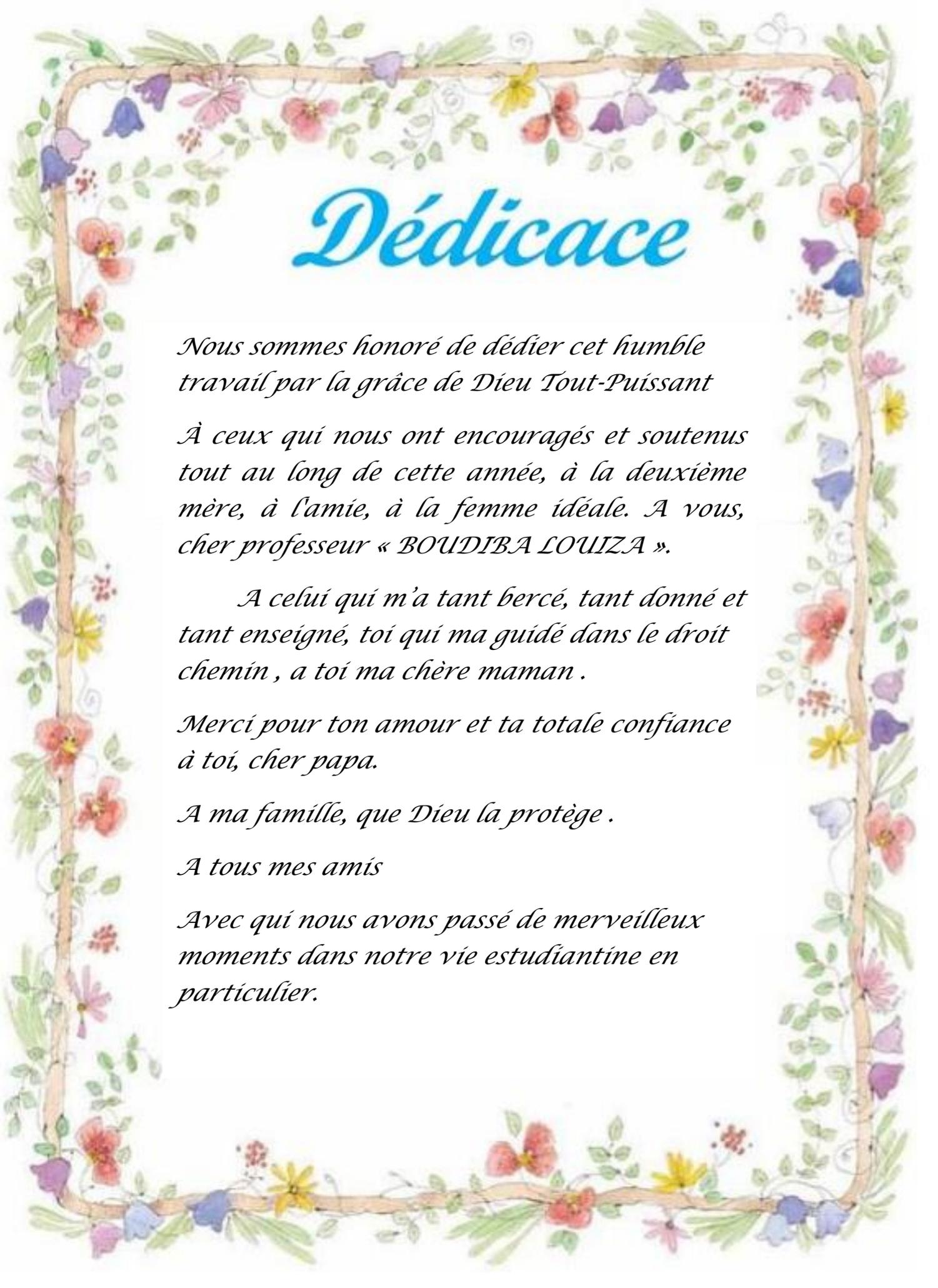
وقع اختيارنا على نبات *Atriplex halimus L.* لخصائصه العلاجية ضد مرض السكري، الاكتئاب، الالتهابات والسرطان. لديها أيضا القدرة على إذابة الخراجات وحصى الكلى.

في هذا العمل ، حددنا مكوناته ودرسنا سلوكه المضاد للأكسدة عن طريق قياس الفولتميتر الدوري.

كشفت الاختبارات الكيميائية النباتية عن وجود مادة البوليفينول والفلافونويد (الفلافونونات) وغيرها، كما تم إجراء الاستخلاصات الصلبة - السائلة والسائلة - السائلة في مذيبات مختلفة وبعده طرق.

بعد إجراء اختبار مضاد للأكسدة لمستخلصات مختلفة من هذا النبات لإزالة جذور الأكسيد الفائق بواسطة قياس الفولتميتر الدوري ، أظهر أحد المستخلصات فعالية مثبتة مشابهة لحمض الغال.

الكلمات المفتاحية: *Atriplex halimus L.* ، المقارنة ، طرق الاستخلاص ، النشاط المضاد للأكسدة ، قياس الفولتميتر الدوري.



Dédicace

Nous sommes honoré de dédier cet humble travail par la grâce de Dieu Tout-Puissant

À ceux qui nous ont encouragés et soutenus tout au long de cette année, à la deuxième mère, à l'amie, à la femme idéale. A vous, cher professeur « BOUDIBA LOUIZA ».

A celui qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui ma guidé dans le droit chemin , a toi ma chère maman .

Merci pour ton amour et ta totale confiance à toi, cher papa.

A ma famille, que Dieu la protège .

A tous mes amis

Avec qui nous avons passé de merveilleux moments dans notre vie estudiantine en particulier.

Remerciements

Nous remercions Dieu Tout Puissant et Miséricordieux de nous avoir donné santé, volonté, courage et patience pour réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent à:

Notre agréable promoteur madame BOUDIBA LOUIZA pour son encadrement, ses orientations et ses conseils ainsi que pour le temps qu'elle nous a consacré pour la réalisation de ce travail ;

Madame Bouguessa S. qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Monssieur Taboub A. d'avoir bien voulu lire et juger ce travail.

Madame Boudiba S. pour son aide et son soutien.

Nous tenons également à remercier tous les membres du Laboratoire de la "Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences de la Matière"

et spécialement Monsieur Hmaidia H. pour son aide.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation tout au long de notre chemin d'étude.

Merci à Khamer R. et Hattabi H. qui nous ont aidés au cours de la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour que nous arrivions à ce merveilleux instant.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes classes des composés phénoliques	6
Tableau 2 : Répartition des espèces d' <i>Atriplex</i> dans le monde	17
Tableau 3 : Les principales EOR générées dans les systèmes biologiques	22
Tableau 4 : Caractéristiques de la zone d'étude	28
Tableau 5 : Gros matériel	29
Tableau 6 : Petit matériel et produits	33
Tableau 7 : Matière sèche et teneur en eau de <i>l'Atriplex Halimus L.</i>	51
Tableau 8 : Composition de <i>l'Atriplex Halimus L.</i>	53
Tableau 9 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait aqueux	54
Tableau 10 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait aqueux (par infusion)	55
Tableau 11 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait éthanolique	56
Tableau 12 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait chloroformique et de l'extrait acide	57
Tableau 13 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs des extraits éther de pétrole et éther diéthylique	58
Tableau 14 : Résultats des rendements et de la masse des extraits bruts dans différents solvants et par différentes méthodes	60
Tableau 15 : Résultats des rendements des extraits bruts, concentrations des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans différents mélanges MeOH/H ₂ O.....	63
Tableau 16 : Rendements des extractions par les solvants successifs de polarité croissante.....	66
Tableau 17 : Pourcentages d'inhibition de l'ion superoxyde par l'acide gallique et les différents extraits de <i>l'Atriplex Halimus L.</i> de Tébessa	71

Listes des figure

Figure 1 : Structure des dérivés de l'acide salicylique.....	7
Figure 2 : Structure de l'acide ellagique (A) et gallique	7
Figure 3 : Structure des différentes classes des flavonoïdes	8
Figure 4 : Structure des flavone, flavanol et 4, 2',4',6'-tétrahydroxychalcone	8
Figure 5 : Structure des flavanone et dihydroflavonol	9
Figure 6 : Structure des flavan-3-ols et flavan-3,4-diols	9
Figure 7 : Structure de coumarine	10
Figure 8 : Structure des coumarines simples	11
Figure 9 : Structure des coumarines complexes.....	11
Figure 10 : Structure de l'acide gallique et penta-O-galloylglucose.....	12
Figure 11 : Structure des HHDP et acide ellagique	13
Figure 12 : Structure des flavan-3-ols et flavan-3, 4-diols	13
Figure 13 : Structure de l'isoprène	14
Figure 14 : Structure d'alcaloïde	15
Figure 15 : Arbuste de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	16
Figure 16 : Feuilles de l' <i>Atriplex halimus L</i>	20
Figure 17 : Fleurs d' <i>Atriplex halimus L</i>	20
Figure 18 : Fruits de l' <i>Atriplex halimus L</i>	20
Figure 19 : Graines de l' <i>Atriplex halimus L</i>	20
Figure 20 : Racines de l' <i>Atriplex halimus L</i>	21
Figure 21 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR.....	24
Figure 22 : Régulation de la production EOR par les systèmes de défenses antioxydants.....	25
Figure 23 : Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique.....	26
Figure 24 : EOR non enzymatique.....	26
Figure 25 : Carte géographique du lieu de récolte dans la ville de Tébessa.....	28
Figure 26 : Les étapes d'extraction de la plante solide/liquide et liquide/liquide.....	45
Figure 27 : Voltamogramme d'un système réversible.....	47
Figure 28 : Voltamogramme d'un système irréversible.....	48
Figure 29 : Voltamogramme d'un système réversible à deux vagues	49
Figure 30 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène	50
Figure 31 : Teneur en eau de l' <i>Atriplex Halimus L</i>	51

Figure 32 : Matière sèche de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	52
Figure 33 : Teneur en eau et matière sèche de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	52
Figure 34 : Teneur en matières organique et minérale de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	53
Figure 35 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	59
Figure 36 : Courbe d'étalonnage de la catéchine	59
Figure 37 : Effet du solvant avec différentes méthodes d'extractions sur le rendement brut de la plante	61
Figure 38 : Effet du solvant avec différentes méthodes d'extractions sur la concentration des polyphénols de la plante.....	61
Figure 39 : Effet du solvant avec différentes méthodes d'extractions sur la concentration des flavonoïdes de la plante.....	62
Figure 40 : Effet de la variation de la composition du mélange hydro-alcoolique sur le rendement brut de la plante.....	64
Figure 41 : Effet de la variation de la composition du mélange hydro-alcoolique sur la concentration des polyphénols de la plante	65
Figure 42 : Effet de variation de la composition du mélange hydro-alcoolique sur la concentration des flavonoïdes de la plante.....	65
Figure 43 : Rendements des extractions par les solvants successifs de polarité croissante.....	67
Figure 44 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans l'eau et NaCl.....	68
Figure 45 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans le DMF et PF_6^-	68
Figure 46 : Voltammogrammes de l'acide gallique barboté (AGB) et l'oxygène.....	69
Figure 47 : Voltammogrammes de tous les extraits de la plante de Tébéssa avec barbotage comparés à l'oxygène.....	70

Liste des Abréviations

AcOEt : Acétate d'éthyle.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AG : Acide gallique.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

Aq : Aqueux.

BuOH : Butanol.

CAT : Catalase.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

Cd : Teneur en cendre.

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane.

CHCl₃ : Chloroforme.

DCM : Dichlorométhane.

DMF : Diméthylformamide.

ECS : Electrode au calomel saturé

EOR : Espèces oxygénées réactives.

Epa : Potentiel d'oxydation anodique.

Epc : Potentiel de réduction cathodique.

Eq : d'équivalents.

EtOH : Ethanol.

FeCl₃ : Chlorure Ferrique.

G6PD : Glucose-6- Phosphate déhydrogénase.

GPx : Glutathion peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion.

GSSG : Glutathion oxydée.

H₂SO₄ cc : Acide sulfurique concentré.

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

HCl_{CC} : Acide hydrochlorique concentré.

HHDP : Acide hexahydroxy diphénique.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

Ip₀ : Intensité du courant du pic anodique de l'oxygène.

Ipa : Intensité anodique.

Ips : Intensité du courant du pic anodique de l'oxygène plus l'extrait.

KI : Iodure de potassium.

M1 : Masse de la capsule + prise d'essai.

M2 : Masse de la capsule + cendres.

MeOH : Méthanol.

Mf : Matière fraîche.

MgSO₄ : Sulfate de magnésium.

MO : Matière organique.

Mo₈O₂₃ : Oxyde de molybdène.

Ms : Matière sèche.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaBu₄NPF₆ : Sodium de tétrabutylammoniumhexafluorophosphate.

NADPH : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.

NaOH : Hydroxide de Sodium.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

P : Masse de la prise d'essai.

SOD : Superoxy dismutase.

T : Tébessa ville.

W₈O₂₃ : Oxyde de tungstène.

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Dédicace	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	1
 PARTIE THEORIQUE	
I . Les plantes médicinales	
I.1. Définition	3
I.2. Origine des plantes médicinales	3
I.3. Historique de la plante médicinale	4
I.4. Partie des plantes médicinales utilisées	4
I.5. Différents mode de traitement des plantes	5
I.5.1. L'extraction solide-liquide.....	5
I.5.2. L'extraction liquide-liquide.....	5
I.6. Phytothérapie	5
I.6.1. Définitions	5
I.6.2. Métabolites secondaires	6
I.6.3. Classification des métabolites secondaires	6
I.6.3.1. Acides phénols	7
I.6.3.2. Flavonoïdes	8
I.6.3.3. Coumarines et lignanes	11
I.6.3.4. Tanins	13
I.6.3.5. Terpénoïdes	15
I.6.3.6. Alcaloïdes	16
 II. Généralités sur l'<i>Atriplex Halimus</i>	
II.1. Informations générales	17
II.2. <i>L'Atriplex Halimus</i> dans le monde	18

II.3. <i>L'Atriplex Halimus</i> en Algérie.....	18
II.4. Propriété sécologique de <i>L'Atriplex Halimus</i>	19
II.5. Intérêt de <i>L'Atriplex Halimus</i>	19
II.5.1. Intérêt thérapeutique.....	19
II.5.2. Intérêt écologique	19
II.5.3. Intérêts médicaux	20
II.6. Description de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	20
II.7. Origine	20
II.8. Description.....	20

III. Activité antioxydante

III.1. Introduction	23
III.2. Les radicaux libres.....	23
III.3. Pathologies causées par les EOR.....	24
III.4. Stress oxydant.....	24
III.5. Les antioxydants de l'organisme.....	25
III.6. Les antioxydants d'origine végétale.....	28

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétale	29
I.2. Situation géographique.....	29
I.3. Récolte et séchage de la plante.....	30
I.4. Matériel de laboratoire utilisé	30
I.5. Les paramètres physico-chimiques.....	36
I.5.1. Détermination de la teneur en eau.....	36
I.5.2. Détermination de la teneur en cendre et de la matière organique	36
I.6. Screening phytochimique (dosage qualitatif).....	37
I.6.1. Introduction.....	37
I.6.2. Caractérisation des métabolites.....	37
I.6.2.1. Produit végétal épuisé avec l'eau	37
I.6.2.1.1. Caractérisation de l'amidon	37
I.6.2.1.2. Caractérisation des composés réducteurs.....	37
I.6.2.1.3. Caractérisation des Saponosides	37

I.6.2.1.4. Caractérisation des tanins	38
I.6.2.2. Produit végétal épuisé par infusion (screening phyto)	38
I.6.2.2.1. Caractérisation des polyphénols	38
I.6.2.2.2. Caractérisation des mucilages	38
I.6.2.2.3. Caractérisation des glycosides cardiaques	39
I.6.2.2.4. Caractérisation des caroténoïdes	39
I.6.2.3. Produit végétal épuisé avec l'éthanol	39
I.6.2.3.1. Caractérisation des alcaloïdes	39
I.6.2.3.2. Caractérisation des anthracénosides et les anthocyanosides.....	39
I.6.2.3.3. Caractérisation des composés réducteurs	40
I.6.2.3.4. Caractérisation des flavonoïdes	40
I.6.2.3.5. Caractérisation des stérols et stéroïdes	40
I.6.2.4. Produit végétal épuisé avec du chloroforme.....	40
I.6.2.4.1. Caractérisation des stérols insaturés et terpènes	41
I.6.2.4.2. Caractérisation des anthraquinones.....	41
I.6.2.5. Produit végétal épuisé avec l'acide sulfurique.....	41
I.6.2.5.1. Caractérisation des quinones combinées.....	41
I.6.2.6. Produit végétal épuisé avec l'éther de pétrole.....	41
I.6.2.6.1. Caractérisation des lipoides	41
I.6.2.7. Produit végétal épuisé avec l'éther diéthylique.....	41
I.6.2.7.1. Caractérisation des huiles volatiles.....	42
I.6.2.7.2. Caractérisation des acides gras.....	42
I.6.2.8. Tests chromatographiques.....	42
I.6.2.8.1. Caractérisation des coumarines.....	42
I.7. Préparation des extraits.....	42
I.7.1. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques (Recherche du meilleur solvant et de la meilleure méthode d'extraction).....	42
I.7.1.1. Recherche du meilleur solvant et la meilleure méthode d'extraction.	42
I.7.1.2. Recherche du meilleur mélange de solvants hydro-alcooliques	43
I.7.1.2.1. Méthodes d'extraction solide/liquide.....	43
I.7.1.2.2. Extraction liquide-liquide.....	46
I.7.1.3. Rendements des extraits bruts.....	47
I.8. Dosage quantitatif des métabolites secondaires.....	47

I.8.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	47
I.8.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux.....	47
I.9. Estimation de l'effet antioxydant de l' <i>Atriplex Halimus</i> par voltamétrie cyclique	48
I.9.1. Principe.....	48
I.9.2. Mode opératoire.....	50
I.9.2.1. Voltammogrammes cycliques de l'oxygène.....	50
I.9.2.2. Etude du comportement de l'acide gallique.....	51
I.9.2.3. Voltammogrammes cycliques des extraits	51
 II. Résultats et discussions	
II.1. Paramètres physico-chimiques.....	52
II.1.1. Détermination de la teneur en eau.....	52
II.1.2. Détermination de la teneur en cendre et la matière organique.....	54
II. 2. Screening phytochimique.....	55
II.2.1. Extrait aqueux.....	55
II.2.2. Extrait éthanolique	56
II.2.3. Extraits chloroformique et acide	57
II.2.4. Extrait d'éther de pétrole et éther diéthylique	59
II.3. Comparaison entre les différentes méthodes d'extraction des principes actifs de l' <i>Atriplex Halimus L.</i>	59
II.3.1. Extraction solide/liquide.....	59
II.3.1.1. Avec différentes méthodes et différents solvants purs	61
II.3.1.2. Avec différents pourcentages de mélanges hydro-alcooliques.....	64
II.3.2. Extraction liquide/liquide.....	67
II.4. Evaluation de l'activité antioxydante par voltammétrie cyclique (piégeage de l'anion superoxyde O_2^-).....	68
II.4.1. Comportement de l'oxygène	68
II.4.2. Comportement de l'acide gallique.....	70
II.4.3. Comportement des extraits de l' <i>Atriplex halimus L.</i>	70
Conclusion générale	73
Références	75

La population mondiale et particulièrement celle des pays d'Afrique a recours aux remèdes naturels d'origine végétale. Les traitements médicamenteux provoquent souvent des effets secondaires néfastes, c'est pour cela qu'ils se tournent vers la médecine traditionnelle, en particulier vers les remèdes à base de plantes appelé phytothérapie.

Les plantes médicinales renferment plusieurs molécules actives utilisées dans l'agroalimentaire (additifs antioxydants et conservateurs), la cosmétologie (saveurs et dermatologie) ainsi que la pharmacologie thérapeutique (médicaments). Parmi ces molécules, on retrouve, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, etc. **(Bahorun, 1996)**, qui possèdent des activités biologiques très intéressantes **(Bekkara, 2007)**.

Les polyphénols, issus des plantes, font l'objet de plusieurs recherches récentes pour leurs propriétés inhibitrices de la corrosion, ainsi que leur utilisation pour la préparation des surfaces lors de l'électrodéposition des métaux **(Hanini, 2020)**. Leur extraction, identification et séparation des métabolites végétaux sont largement décrites **(Sanchez, 2002 ; Marc, 2004 ; Huang, 2005)**.

L'*Atriplex halimus L.* est une plante à usage traditionnel qui possède de nombreuses propriétés biologiques, telles que les propriétés antioxydantes de ces métabolites secondaires issus des parties aériennes **(Benhammou, 2009)**, des propriétés hypoglycémiantes et antidiabétiques **(Bouchoucha, 2018)**.

La plupart des espèces d'*Atriplex* contiennent des phénols totaux, des tannins, des alcaloïdes, des saponines glycosidiques, des betaïnes et des flavonoïdes (surtout des flavonols) **(Abd El-Rahman, 2006 ; Benhammou, 2009)**.

Dans cette recherche nous avons donc choisi d'étudier l'*Atriplex halimus L.* de la région de Tébessa, qui est une plante très répandue en Algérie, pour identifier ses métabolites et essayer d'étudier son comportement antioxydant **(Bouthaina, 2009 ; Al Turkis, 2000 ; Nedjimi, 2013)**.

Le mémoire comportera quatre chapitres :

Un premier chapitre sera consacré à des généralités sur les plantes médicinales, le deuxième chapitre présentera l'étude botanique de *Atriplex halimus L.*, le troisième chapitre comportera le matériel utilisé, les produits chimiques et les protocoles opératoires du screening phytochimique et des dosages des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que l'explication de la méthode électrochimique utilisée pour l'étude du pouvoir antioxydant.

La partie résultats et discussion comportera :

- L'analyse de quelques paramètres physico-chimiques,
- L'identification qualitative (screening phytochimique) de la plante,
- L'optimisation des facteurs d'extraction des métabolites de la plante, à savoir le choix de la meilleure méthode d'extraction, du meilleur solvant pur et du meilleur mélange hydro-alcoolique,
- L'étude du pouvoir antioxydant par voltammétrie cyclique.

On terminera par une conclusion.

PARTIE

THEORIQUE

I . Les plantes médicinales

I.1. Définition

Pendant longtemps, les praticiens traditionnels utilisaient les plantes médicinales pour soigner certaines maladies sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. Récemment la pharmacologie étudie les principes actifs, contenus dans les plantes qui sont responsables des propriétés positive ou négative ressenties par l'être humain. Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter le nombre de découvertes de nouvelles molécules thérapeutique (**Pelt, 2001**).

Les plantes fabriquent de nombreux composés appelés métabolites primaires (protéines, lipides, acides nucléiques et glucides) essentiels à leur alimentation et à leur reproduction (**Small, 2000**) ainsi que des métabolites secondaires (molécules complexes et très diverses présentant des structures riches en composés phénoliques) responsables de leurs effets thérapeutique (**Graham, 2002**). Ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries et les animaux (**Wichtl, 1999**).

Jusqu'à présent, sur les 300000 espèces végétales recensées, on estime que seules 15% d'entre elles ont été étudiées sur le plan phytochimique, dont 6% pour leurs activités biologiques, ce qui fait des plantes un réservoir de molécules bioactives encore peu exploré (**Verpoorte, 2002**).

En raison du traitement sûr offert par la plante par rapport aux médicaments puissants fabriqués à partir d'agents isolés, les herboristes utilisent la plante entière pour préparer des remèdes plus efficaces.

Les applications traditionnelles des plantes contre les maladies sont nombreuses telles que les brûlures, la douleur, les inflammations le rhumatisme, les troubles mentaux et nerveux, etc. (**Kintzio, 2000**).

I.2. Origine des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont deux origines différentes, nous avons les plantes spontanées dites « sauvages » ou « à récolter », et les plantes cultivées (**Bézanger-Beau, 1986**).

- **Plantes spontanées**

Ce sont des plantes qui poussent naturellement sans être cultivées ou introduites (**Ozenda, 1991**).

- **Plantes cultivées**

La culture garantit une quantité suffisante des plantes pour répondre aux besoins des populations (**Bilgarmi, 1992**). En médecine traditionnelle, qui sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion de la plante fraîche ou séchée (**Dutertre, 2011**).

I.3. Historique de la plante médicinale

Depuis des milliers d'années l'homme utilisait les plantes (feuille, bulbe, racine, graines, fruits et fleurs) pour se nourrir et se guérir. La découverte des vertus des plantes et leur toxicité était progressif jusqu'à la classification d'un nombre important de plantes dites médicinales ou thérapeutiques (**Biljana, 2012**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (**Elqaj, 2007 ; Zeghad, 2009**).

Des médecins du monde islamique, dont Abu Ali Ibn Sina, ont apporté leurs travaux, leurs techniques, leurs observations cliniques et leurs expériences pour identifier les substances des plantes. Les médicaments peuvent provoquer des effets secondaires indésirables, d'où la nécessité de ne les utiliser que lorsque cela est vraiment nécessaire et de les remplacer chaque fois que possible par des plantes ayant un effet efficace sur le risque actif (**Cherif, 1981**).

I.4. Partie des plantes médicinales utilisées

Le phytothérapeute sait quelle partie de la plante a des propriétés thérapeutiques. La pomme de terre, connue de tous pour ses qualités nutritives, est le tubercule d'une plante de la famille des solanacées. Les feuilles et les fruits de cette plante sont en revanche toxiques. (**Guide des plantes qui soignent, 2010**).

En matière de plante médicinale, seule la partie qui contient le plus de principes actifs est employée. Il arrive que la plante entière soit utilisée, comme dans le cas de la piloselle ou de la saponaire. Mais la plupart du temps, c'est seulement une partie de la plante qui est employée : rhizome du petit-houx, sommité fleurie du mélilot, écorce de la bourdaine, racine de la gentiane, feuille du boldo, baies de l'argousier, graines du psyllium, etc. Plusieurs parties sont parfois employées dans une même préparation: racine, feuilles et fleurs pour l'arnica, sommités fleuries et feuilles pour le millepertuis, ou encore tige et plante entière pour

la prêle, etc. Enfin, on peut également utiliser un suc extrait du végétal par incision : baume du baumier du Pérou, opium du pavot, gomme de sterculia ou suc d'aloès. (**Guide des plantes qui soignent, 2010**).

Les plantes qui ont des propriétés thérapeutiques peuvent être utilisées également à des fins alimentaires ou cosmétiques. Il s'agit soit des mêmes parties de plante (pissenlit par exemple), soit de parties différentes (**Guide des plantes qui soignent, 2010**).

I.5. Différents mode de traitement des plantes

I.5.1. L'extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est un transfert de matière entre la plante à extraire «solide», et un solvant d'extraction «liquide». Pour cela, on met en contact la poudre de la plante séchée ou fraîche, avec un ou plusieurs solvants liquides (chloroforme, méthanol, eau, etc.) (**Herodez, 2003 ; Clémentine, 2012**).

L'extraction d'un composé se fait en plusieurs étapes :

- la solvatisation du composé par le solvant d'extraction,
- la désorption de la surface de la matière,
- et, le transport du composé dans le liquide d'extraction (**Dean, 1996**).

I.5.2. L'extraction liquide-liquide

Après la mise en contact de la plante avec le solvant organique, on ajoute de l'eau et on extrait par un solvant approprié et non miscible à l'eau. L'extraction est effectuée sur un volume important de l'échantillon dans une ampoule à décanter puis le solvant est évaporé et le résidu est repris dans le milieu adéquat pour être analysé. L'utilisation de solvants de différentes polarités permet la séparation des différents groupes de molécules actives dans la plante. Cette méthode consiste à faire passer des métabolites (solutés) dissous dans une phase liquide, dans une seconde phase liquide non miscible (**Bouزيد, 2011**).

I.6. Phytothérapie

I.6.1. Définition

Le mot "Phytothérapie" du grec « *phuton* » et « *therapeia* » qui désignent respectivement "plante" et "traitement" et qui veut dire «**Soigner par les plantes**» (**Les plantes médicinales, 2016**). C'est une science qui utilise des plantes médicinales (fraîche, sèche,

extrait), riches en principes actifs, pour soulager les symptômes de diverses maladies (**Caroline, 2013**). Selon les phytothérapeutes, une maladie ne survient pas par hasard. Elle est la conséquence d'un déséquilibre interne à l'organisme qui doit en permanence s'adapter à son environnement (**Devoyer, 2012**).

I.6.2. Métabolites secondaires

Toutes les plantes ont la capacité de produire des substances naturelles très variées appelées métabolites primaires tels que les lipides, les protéines et les glucides, ainsi que des métabolites secondaires qui représentent les principes actifs (les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes, les flavonoïdes, les alcaloïdes, etc.). Tous ces composés (**Krief, 2003**) interviennent dans la nutrition de la plante, dans son système d'autodéfense c'est-à-dire l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la défense contre les prédateurs et les pathogènes, ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits ainsi que dans son effet thérapeutique pour prévenir plusieurs maladies (cancer, inflammations, maladies circulatoires et respiratoires, les infections virales, le diabète, etc.) (**Marin, 2002 ; Makkar, 2007**). Ils sont utilisés dans la fabrication des produits cosmétiques, des produits pharmaceutiques et des additifs alimentaires (**Bruneton, 1993 ; 1999**).

Les métabolites secondaires sont emmagasinés dans toutes les parties de la plante (racines, tiges, feuilles, fruits et graines), et leur concentration dépend de plusieurs facteurs environnementaux (température, lumière, humidité, etc.). Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées (**Khenaka, 2011**).

I.6.3. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grandes classes : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes. Chacun de ces groupes contient une large gamme de composés possédant plusieurs activités biologiques.

Les composés phénoliques sont une grande classe de substances organiques cycliques avec au moins un cycle aromatique hydroxylé (l'exemple le plus simple est le phénol C_6H_5OH). Ces composés peuvent se trouver sous forme d'esters ou d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins) (**Bruneton, 1993 ; 1999**).

Les composés poly-phénoliques sont définis selon leur squelette de base (tableau 1).

Tableau 1: Les différentes classes des composés phénoliques (Daayaf, 2008).

<i>Squelette carboné</i>	<i>Classes de composés phénoliques</i>
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénonnes et les acides phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthonnes
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1)2	Tannins hydrolysables
(C6-C3)2	Lignanes et néolignanes
(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes
(C6-C3) n	Lignines
(C6) n	Catéchols
(C6-C3-C6) n	Tannins condensés

Parmi les polyphénols les plus connus, on peut citer :

I.6.3.1. Acides phénols

Les acides phénols sont dérivés de l'acide cinnamique et de l'acide benzoïque. Nous citerons trois sous-familles de composés importants pour leurs effets biologiques: les dérivés de

l'acide salicylique à effets anti-inflammatoires, de l'acide vanillique à effet antimicrobien (figure 1) et les tanins hydrolysables pour leur effet antioxydants (**Bruneton, 1993 ; 1999**) (figure 2).

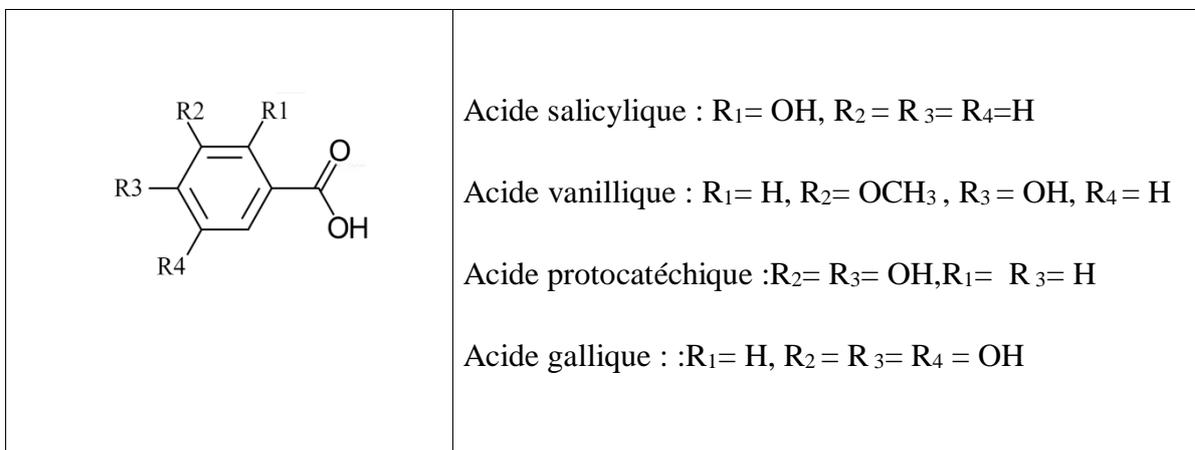


Figure 1 : Structure des dérivés de l'acide salicylique (**Ghestim, 2001**).

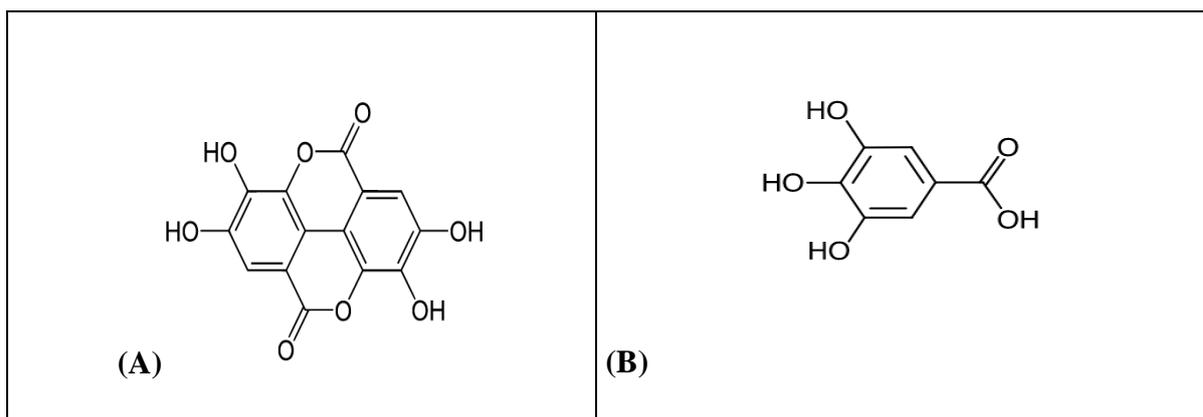


Figure 2 : Structure de l'acide ellagique (A) et gallique (B) (**Ghestim, 2001**).

I.6.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une grande famille des polyphénols, qui sont des pigments de végétaux. Ils peuvent être des flavones, des flavonols, des flavanones, des flavanonols, des flavanes, des flavans, des flavyliums et leurs dérivés (figure 3). La présence de plusieurs fonctions phénol donne à ces composés leur activité antioxydante en captant des radicaux libres. Les flavonoïdes peuvent inhiber des enzymes tels que la 5-lipoxygénase, la cyclooxygénase, etc. (**Francis, CRC press**). Ils sont stockés dans les vacuoles et les chloroplastes (**Bruneton, 1987**). Ils sont généralement glycosylés (contenant des sucres et des

groupes hydroxyles) augmentant leur solubilité dans l'eau. D'autres substituants tels que les méthyles et les isopentyls, rendent les flavonoïdes lipophiles.

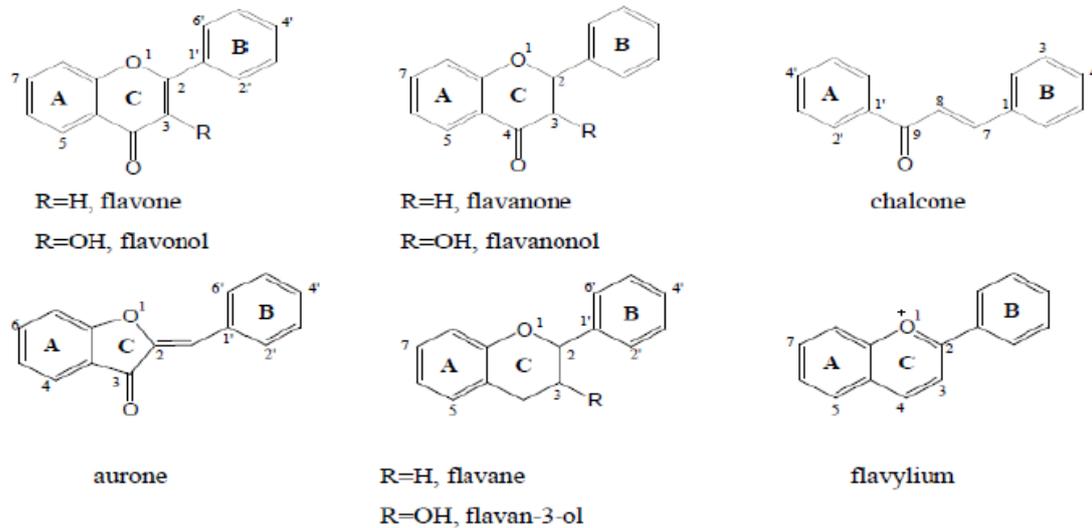


Figure 3 : Structure des différentes classes des flavonoïdes.

- **Flavones et flavonols**

Ils dérivent de la 4, 2', 4', 6' –tétrahydroxychalcone (figure 4) et possèdent au moins trois hydroxyles phénoliques en C-5, C-7 et C-4'. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. Les flavonols se distinguent des flavones par un OH en C3 (**Morreel, 2006**).

On peut citer quelques exemples : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine.

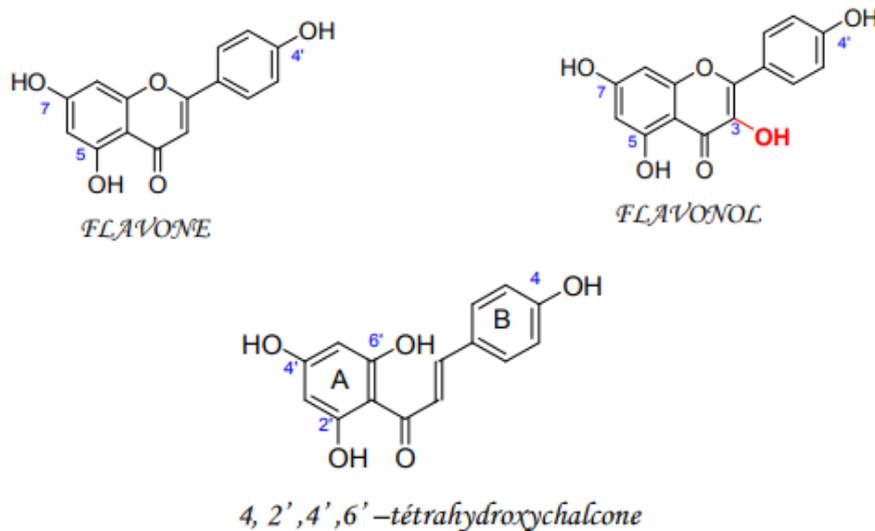


Figure 4 : Structure des flavones, flavanols et 4, 2',4',6'-tétrahydroxychalcone.

- **Flavanones et hydroflavonols**

Ils sont caractérisés l'absence de la double liaison C2-C3 et des variations structurales semblables à celles des flavones et les flavonols (figure 5). Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3 (**Ono, 2006**).

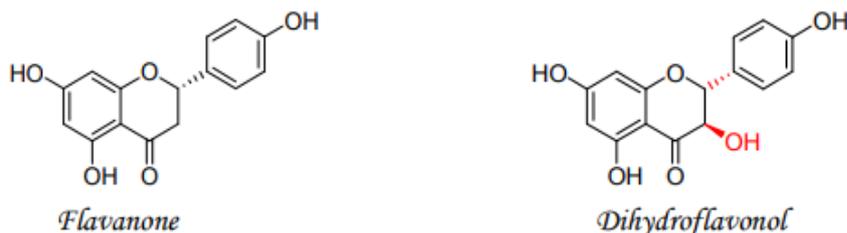


Figure 5 : Structure des flavanones et dihydroflavonols.

Les flavanones (naringénine) ainsi que les dihydroflavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires à cause de leur faible distribution naturelle (**Ghedira, 2005**).

- **Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols et anthocyanidols**

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C4. Cette position peut être libre (flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols) (figure 6). Les anthocyanosides sont caractérisées par l'engagement de l'OH en C3 dans une liaison hétérosidique. On peut citer le palargonidol-3,4-Oglucoside et le cyamidol-3-O-rutinose ou keracyanine. Les flavan-3-ols et les flavan-3,4-diols sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tannins condensés (**Bruneton, 1999**).

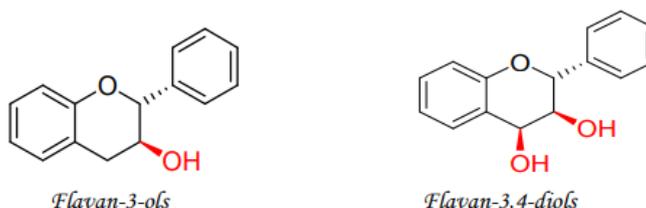


Figure 6 : Structure des flavan-3-ols et flavan-3,4-diols.

- **Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes**

Leur activité la plus intéressante est le piégeage des radicaux libres comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyde par transfert d'hydrogène ou par la chélation des ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives (**Van Acker, 1996**).

Ils sont aussi de bons inhibiteurs d'enzymes comme la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipooxygénase (**Di Carlo, 1999**).

D'autres effets ont été signalés tels que les effets : antiallergique, anti-inflammatoire, anti-ulcérogène, anticancéreux, antidiabétique, anti-tumorale, analgésique, antispasmodique, antibactérienne, hépato-protectrice, etc. (**Tringali, 2001**).

I.6.3.3. Coumarines et lignanes

Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo-a pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique (figure 7). Elles seraient vasculo-protectrices, veinotoniques, stimulantes du drainage lymphatique et anti-œdémateuses.

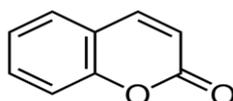


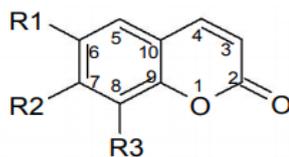
Figure 7 : Structure de coumarine.

Les lignanes sont les composés responsables de la dureté, de la résistance et de l'imperméabilité de la plante, représentés par les unités phénylpropane. Elles sont lipophiles.

Ces constituants possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques, étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine). On les divise en coumarines simples et coumarines complexes (**Small, 2000**).

- **Coumarines simples**

Les coumarines les plus répandues possèdent des OH ou des OCH₃ en position 6 et 7 (figure 8). Exemples :



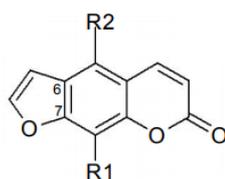
	R ₁	R ₂	R ₃
Ombéllifrone	H	OH	H
Esculétile	OH	OH	H
Scopolétole	OCH ₃	OH	H
Herniarine	H	OCH ₃	H
fraxétole	OCH ₃	OH	OH

Figure 8 : Structure des coumarines simples.

- **Coumarines complexes**

Elles se constituent d'un noyau furane ou pyrane associé au noyau benzo- α -pyrone, elles sont à l'origine des coumarines polycycliques (figure 9). On distingue :

- les furocoumarines (ou furanocoumarin es) : 6,7 furocoumarines (linéaire):



	R ₁	R ₂
Psoralène	H	H
Xanthotoxine	-OCH ₃	H
Bergaptène	H	-OCH ₃
Impératorine	$\text{OH}_2\text{C}-\text{CH}=\text{C}\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	H

Figure 9 : Structure des coumarines complexes.

I.6.3.3. Tanins

Les tanins sont définis comme étant des composés phénoliques hydrosolubles pouvant précipiter les protéines à partir de leurs solutions aqueuses. On peut les classer en deux catégories : les tanins condensés (formés de flavonoïdes et de pro-anthocyanidines et forment des pro-anthocyanidols).

Les propriétés biologiques des tanins sont d'imperméabiliser les couches les plus superficielles de la peau et des muqueuses, protégeant ainsi les couches les plus internes et régénérant les tissus. Ils ont des effets antidiarrhéique, anti-septique, antioxydant et anti-inflammatoire. De plus, les tanins empêchent l'absorption des alcaloïdes (Wynn, 2007).

On distingue 2 groupes de tanins différents :

- **Tanins hydrolysables**

Ce sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) en ose (généralement le glucose) et en acides phénols. Selon la nature de l'acide phénol on distingue :

Tanins galliques ou gallo-tanins (figure 10) : par hydrolyse ils libèrent l'ose et l'acide gallique

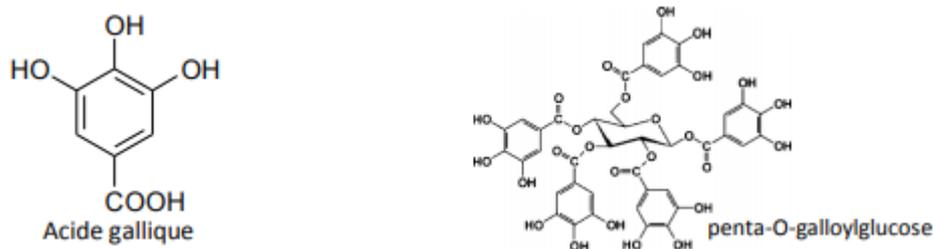


Figure 10 : Structure de l'acide gallique et penta-O-galloylglucose.

Tanins ellagiques ou ellagi-tanins : par hydrolyse, ils libèrent l'ose, l'acide HHDP et différents dérivés (acide ellagique et acide chébulique) (figure 11) :

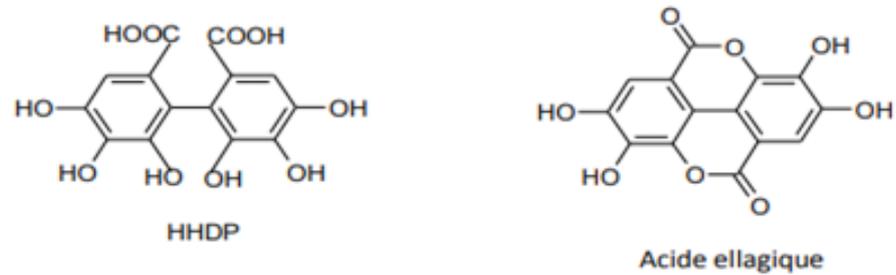


Figure 11 : Structure des HHDP et acide ellagique.

- **Tanins condensés**

Comme les pyrocatechiques ou proanthocyanidols) : Ils diffèrent des tanins hydrolysables par :

- Une structure voisine à celle des flavonoïdes.
- Absence de partie osidique.
- Non hydrolysables, en milieu acide fort et à chaud, ils se polymérisent en donnant des précipités insolubles rouges bruns appelés phlobaphènes. Ils sont formés de 2 à plusieurs unités de flavan-3-ols (catéchol ou épicatechol) et/ou de flavan-3,4-diols (proanthocyanidol) (figure 12) liés entre elles par des liaisons C-C, le plus souvent C4-C8 ou rarement C4-C6.

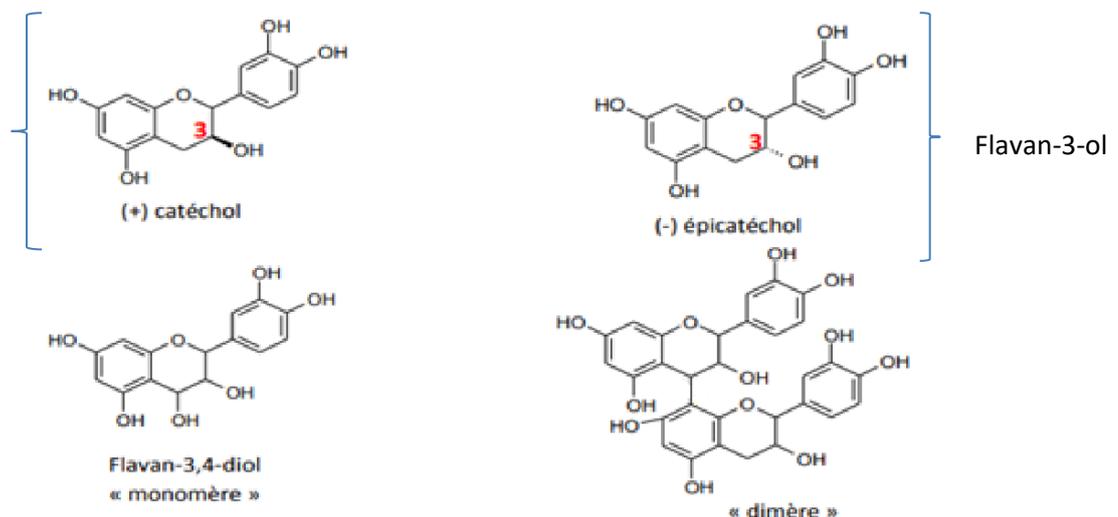


Figure 12 : Structure des flavan-3-ols et flavan-3, 4-diols.

Propriétés pharmacologiques : astringentes, anti-diarrhéiques, antibactériennes, antifongiques, antivirales et antioxydantes.

I.6.3.5. Terpénoïdes

- **Terpénoïdes de faible poids moléculaire**

L'unité de base des terpénoïdes est l'isoprène C_5H_8 (figure13). Les propriétés des monoterpénoïdes (2 unités isopréniques), des sesquiterpénoïdes (3 unités isopréniques) et des phénylpropanoïdes (synthétisés par la voie de l'acide shikimique) peuvent être regroupés. Leur faible poids moléculaire les rend très volatiles.

Des propriétés anti-néoplasiques antibactériennes et antifongiques à différents degrés (**Wynn, 2007**).

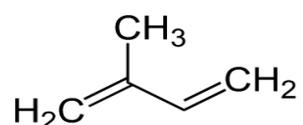


Figure 13 : Structure de l'isoprène.

- **Diterpénoïdes**

Composés de 4 unités isopréniques, les diterpénoïdes sont de poids moléculaire plus importants, ce qui les rend moins volatiles. Très lipophiles, ils apportent un goût très fort à la plante.

Ils ont des activités antinéoplasiques. Leur toxicité est cependant rapportée par contact avec la peau et les muqueuses : irritants, ils pourraient provoquer des réactions inflammatoires importantes (**Ghestem, 2001**).

- **Triterpénoïdes et Saponines stéroïdiens**

Les terpénoïdes et les saponines stéroïdiens sont des molécules pentacycliques. Ils sont des agents émulsifiants et détergents, et forment des colloïdes en contact avec de l'eau, grâce à leurs propriétés lipophiles.

Ils joueraient un rôle sur le métabolisme du cholestérol et diminueraient son absorption intestinale et inhibant sa synthèse hépatique. Ils sont antinéoplasiques, anti-inflammatoires, antivirales et inhibitrices du catabolisme du cortisol (**Wynn, 2007**).

I.6.3.6. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés hétérocycliques (figure 14). Ils influencent le système nerveux central (la morphine) ou le système nerveux autonome (l'atropine). Pouvant franchir la barrière hémato-méningée, ils présentent donc une toxicité non négligeable. Certains alcaloïdes tels que la berberine, la bernmine, l'hydrastine et les alcaloïdes isoquinolines présentent des propriétés anti-inflammatoires (**Lamnaouar, 2008**).

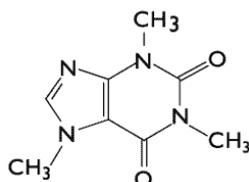


Figure 14 : Structure d'alcaloïde.

La classification la plus adaptée est basée sur l'origine biogénétique, par exemple, les indoles dérivent du tryptophane, sous le même groupe on peut trouver les indoles non terpéniques et terpéniques (irridoïdes). Le groupe est après divisé en plusieurs sous-groupes dépendant ainsi du mode de cyclisation de la partie non glucidique de l'alcaloïde.

Les alcaloïdes ne sont pas tous dérivés des acides aminés, et ainsi quatre groupes sont reconnus :

1. Les alcaloïdes dérivés des acides aminés comme l'ornithine/arginine, lysine, histidine, phénylalanine/tyrosine, tryptophane, l'acide anthranilique ou nicotinique ;
2. Alcaloïdes purines, comme la xanthine caféine ;
3. Terpènes aminés, comme le diterpène aconitine ou triterpène solanine ;
4. Alcaloïdes poly-cétoniques où l'azote est inclus dans le squelette poly-cétonique comme la conine et la coccinelline (**Robert, 1998**).

Les alcaloïdes sont des analgésique (cocaine), anti-cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (reserpine), antitussive (codeine), dépressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaine), narcotique (morphine) et anti-tumeur (**Bhat Sujata, 2013**).

II. Généralités sur l'*Atriplex Halimus*

II. 1. Informations générales

L'*Atriplex Halimus* est un arbuste natif d'Afrique du Nord (**Kinet, 1998**) (figure 15), et qui s'étend au littoral méditerranéen de l'Europe. C'est une plante qui supporte les conditions climatiques d'aridité (sécheresse, salinité, etc.) (**Souayah, 1998**).



Figure 15 : Arbuste de l'*Atriplex Halimus*.

Les *Atriplex* comprennent environ 417 espèces dont 48 dans le bassin méditerranéen, et 5 espèces fourragères pour les raisons suivantes (**Wilson, 1994**):

Atriplex nummularia : en raison de sa productivité élevée.

Atriplex halimus : en raison de sa grande rusticité et sa facilité d'implantation.

Atriplex canescens : en raison de sa haute productivité et son adaptation au sol sableux.

Atriplex glauca : en raison de sa facilité d'implantation par semis direct et de son rôle antiérosif.

Atriplex mollis : en raison de son adaptation au sol hydro morphes salés (**Berri, 2009**).

Atriplex halimus est un Arbuste de 1 à 3 m de haut, très rameux, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre. Les feuilles sont alternes, pétiolées, plus au moins charnues, couvertes de poils vésiculeux blanchâtres, ovales, assez grandes et font 2 à 5 cm de longueur et 0,5 à 1 cm de largeur. L'inflorescence est monoïque, en panicule d'épis, terminale et nue. La valve fructifère est cornée à la base. La graine est d'une teinte roussâtre (**Francllet, 1971**). *Atriplex halimus* comprend deux sous espèces : - *Atriplex halimus* subsp *halimus* - *Atriplex halimus* subsp *Schweifurthii* (**Maalem, 2002**).

II.2. *L'Atriplex Halimus* dans le monde

L'Atriplex Halimus se trouve dans la plus part des régions du monde en grande Bretagne, la Sibérie, l'Alaska, la Norvège, l'Afrique du nord et du sud, le proche Orient, etc. (Tableau 2) (Franclet, 1971 ; Choukr-Allah, 1996).

Tableau 2 : Répartition des espèces d'*Atriplex Halimus* dans le monde (Houérou, 1992).

Pays ou régions	Nombre d'espèce et/ou sous-espèce	Pays ou régions	Nombre d'espèce et/ou sous-espèce
Australie	78	Californie(Mexique)	25
Bassin-méditerranéen	50	Afrique du nord	22
Europe	40	Texas	20
Proche Orient	36	Afrique du sud	20
Mexique	35	Iran	20
Argentine	35	Syrie	18
Californie	32	Palestine & Jordanie	17
Chili	30	Algérie & Tunisie	17

II.3. *L'Atriplex Halimus* en Algérie

En Algérie, *L'Atriplex Halimus* est spontané dans les étages bioclimatiques et les régions arides et semi-arides, elle est présente dans les régions (Tiaret, Tbessa, Msila, Saida, Djelfa, Boussaâda, Biskra, Batna). *Atriplex Halimus* se rencontre aussi au Sahara, particulièrement dans la région de Béchar (Benrbiha, 1987).

L'Atriplex Halimus est utilisé comme fourrage hebdomadaires des troupeaux et spécialement pour les ovins (H.C.D.S, 1996).

En Algérie, Quezel et Santa (Quezel, 1962). ont dénombré 13 espèces natives dont 5 pérennes et 8 annuelles (Houérou, 1992). a ajouté à cette liste deux espèces naturalisées (*A. semibacata* R.Br : Espèce pérenne et *A. injlata* F. V Muell : Espèce annuelle).

Le haut-commissariat algérien au développement de la steppe (H.C.D.S.) et dans le cadre du programme d'amélioration des parcours steppiques, a introduit en 1985, les espèces d'*Atriplex*

suivantes : *A. lentiformis* S.Wats (originaire de Californie), *A. canesoens* (purch) (originaire des USA) et *A. nummularia* Lindl. subsp *nummularia* (originaire d'Australie).

II.4. Propriété sécologique de *L'Atriplex Halimus*

L'Atriplex Halimus supporte les conditions défavorables du milieu. Il résiste à la salinité (NaCl) qui peut avoisiner celle de l'eau de mer (30g/L) (**Zid, 1977**) et supporte des températures de -10 °C à 10 °C (**Fromont, 1972 ; Rosas, 1989**).

C'est une espèce spontanée ou cultivée dans les étages bioclimatiques humide, semi-aride et aride (**Francllet, 1971**). Elle prospère dans les sols sableux et limoneux (**Killian, 1953**) et peut s'adapter à d'autres types de sol (argileux et marneux). Elle peut s'adapter à des milieux divers (**Fromont, 1972**).

II.5. Intérêt de *L'Atriplex Halimus*

II.5.1. Intérêt thérapeutique

En médecine traditionnelle, elle présente des propriétés (**Aharonson, 1969**), antioxydantes, anti-acidité gastrique contre les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'hypertension, le rhumatisme (**Bellakhdar, 1997**).

Les feuilles fraîches sont utilisées comme cataplasme sur les blessures et les plaies (**Chehema, 2006**).

Les racines sont utilisées pour les soins de la bouche et des dents (**Bellakhdar, 1997**).

L'Atriplex halimus est utilisée comme plante fourragère utilisable par les ovins, les caprins et les camélidés (**Castroviejo, 1990**). Elle est riche en protéines et sucre, et très apprécié durant la longue période de sécheresse lorsque les autres espèces herbacées ont disparu. *L'Atriplex halimus* peut produire jusqu'à cinq tonnes à l'hectare de matière sèche par an sur des sols dégradés ou salins inutilisables pour d'autres cultures (**Dutuit, 1991**).

II.5.2. Intérêt écologique

Le problème de la désertification qui est le recule de zones boisées (incendies ou autres ravages) et l'envahissement du sable est un problème émergent des régions méditerranéennes arides et semi-arides. Le repeuplement des zones affectées par les plantes fourragères constitue une bonne solution. En effet, ces plantes possèdent des racines très développées pour puiser dans les réserves d'eau du sol, permettant d'agrèger le sol et le rendre résistant à

l'érosion. Ces plantes peuvent former une bonne couverture végétale protégeant le sol des agressions climatiques (pluie, vent, grêle, etc.) (**Barrow, 2002**).

II.5.3. Intérêts médicaux

L'*Atriplex halimus* présente des effets thérapeutiques intéressants tels que la lutte contre les affections : coliques, dilatation des vaisseaux, respiratoires et diarrhéique.

II.6. Description de l'*Atriplex Halimus L.*

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Famille : Chénopodiaceae

Genre : *Atriplex*

Espèce : *Atriplex halimus*

Sous espèce : *Atriplex halimus L.*

II.7. Origine

L'*Atriplex halimus L.* est originaire d'Afrique du Nord, elle s'adapte aux terrains salino-argileux. Elle s'installe également dans les zones littorales méditerranéennes de l'Europe et dans les terres intérieures gypso – salines d'Espagne (**Le Houérou, 1980**).

II.8. Description

L' *Atriplex halimus L.* est un arbuste vivace pouvant se développer au ras du sol, elle a une hauteur pouvant atteindre jusqu'à 4 mètre (**Negre, 1961**).

La plante adulte est très ramifiée, ayant un aspect blanc argenté, à tige dressé d'une couleur blanche-grisâtre, à racine blanchâtre, s'orientant horizontalement, pivotante en surface et sa tige peut atteindre 3 à 5 fois sa longueur (**Benrbiha, 1987**).

- Les feuilles (figure 16) sont persistantes de 2 à 6 cm de long, alternées, avec un court pétiole, ovales arrondies lorsqu'elles sont jeunes, triangulaires plus au moins lancéolées, vert argenté et plus ou moins charnues, luisantes couvertes de poils vésiculaires blanchâtres très riches en sel (**Duperat, 1997**).



Figure 16 : Feuilles de l'*Atriplex halimus L.*

- Les fleurs (figure 17) sont monoïques jaunâtres, elles se regroupent en panicules allongées terminales et nues. Ces inflorescences portent souvent des fleurs males à cinq pétales et cinq sommets et des fleurs femelles à la base dépourvue de périanthe (**Kinet, 1998**).



Figure 17 : Fleurs d'*Atriplex halimus L.*

- Les fruits (figure18) composés par les deux bractéoles, arrondies en rênne, dentées ou entières, lisses ou tuberculeuses et droites.



Figure 18 : Fruits de l'*Atriplex halimus L.*

- La graine (figure 19) est verticale, lenticulaire de couleur brune foncée de 2 mm de diamètre environ (**Negre, 1961**). Elle possède à sa base des valves fructifères cornées de 0,3 à 0,4 cm de longueur et de 0,4 à 0,5 cm de largeur, furfuracé et papyracées (**Benrbiha, 1987**).



Figure 19 : Graines de l'*Atriplex halimus L.*

- Les racines (figure 20) sont grosses, d'abord étalées obliques puis s'enfonçant verticalement jusqu'à une profondeur variable avec le sol et l'âge de la plante. Elle peut atteindre 3 à 5 fois la longueur de la tige. Elle est formée de radicelles blanchâtres. La croissance racinaire est souvent un indicateur de la capacité de la plante à s'adapter à la sécheresse (**Ben Ahmed, 1996**).



Figure 20 : Racines de l'*Atriplex halimus* L.

La période de floraison s'étend à partir du mois d'avril jusqu'en novembre. Elle préfère les sols frais, riches en humus (**Sean, 2005**).

III. Activité antioxydante

III. 1. Introduction

Tout organisme vivant a besoin d'un élément très important qui est l'oxygène pour produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Au cours de ces transformations, les cellules génèrent des entités bénéfiques et/ou toxiques à partir de cet oxygène qui sont les radicaux libres organiques. En fait, ces radicaux libres permettent au corps de contrôler la tonicité des muscles lisses, de combattre les inflammations et de lutter contre les bactéries. Cependant, l'opération bénéfique des radicaux libres dépend d'un certain nombre de facteurs, tels que les polluants présents dans l'air que nous respirons comme la fumée de cigarette, le dégagement des carburants, etc. L'eau, les aliments que nous consommons, les rayons UV du soleil et le stress sont également des facteurs qui augmentent considérablement la quantité de ces radicaux libres dans notre corps (**Descheemaeker, 2004**).

III.2. Les radicaux libres

Par définition, un radical libre est tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire), sur leur orbitale externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (pour former une liaison chimique) (**Passwater, 1997 ; Jadot, 1994**).

Les espèces oxygénées réactives (EOR) renferment les radicaux libres de l'oxygène tels que le radical superoxyde, le radical hydroxyle, le monoxyde d'azote, etc., ainsi que certains dérivés non radicalaires réactifs dont la toxicité est plus importante, comme l'oxygène singulet, le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite, qui peuvent être des générateurs de radicaux libres (**Cooper, 1997**). Le tableau 3 regroupe les différentes espèces citées.

Tableau 3 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (**Bartosz, 2003 ; Jadot, 1994**)

Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}

Monoxyde d'azote	NO^\bullet
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	HOCl
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Peroxynitrite	ONOO^-
Radical alcoxy	RO^\bullet
Radical peroxy	ROO^\bullet

Les espèces oxygénées réactives sont instables et leur durée de vie est très courte (de la nano à la milli seconde) (**Bonnefont-Rousselot, 2003, Lehucher-Michel, 2001**).

Dans plusieurs cas, des espèces peu réactives peuvent être très toxiques en raison de leur demie vie longue qui leur permet d'interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production, puisqu'elles ont le temps de se déplacer tranquillement vers les zones d'action (**Kohen, 2002**).

III.3. Pathologies causées par les EOR

Ces radicaux libres sont responsables du vieillissement cellulaire, de l'altération de l'ADN, de l'athérosclérose, du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neuro-dégénératives et du diabète (**Cadenas, 2002**).

III.4. Stress oxydant

Le stress oxydatif est une perturbation du métabolisme cellulaire soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants

(tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques). L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique (Figure 21) (Smirnoff, 2005).

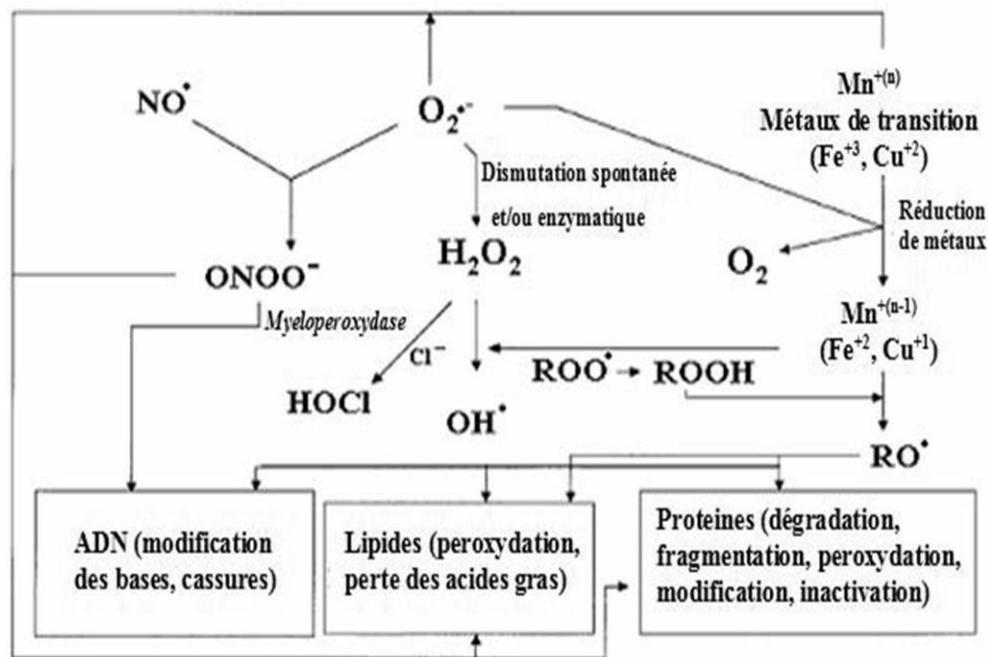


Figure 21: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (Kohen, 2002).

III.5. Les antioxydants de l'organisme

Pour éviter le stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant/antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme.

Les antioxydants sont des espèces capable, à concentration relativement faible, de réagir avec des substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher leur oxydation. Les cellules consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et non enzymatiques (Figure 22) (Shahidi, 1997).

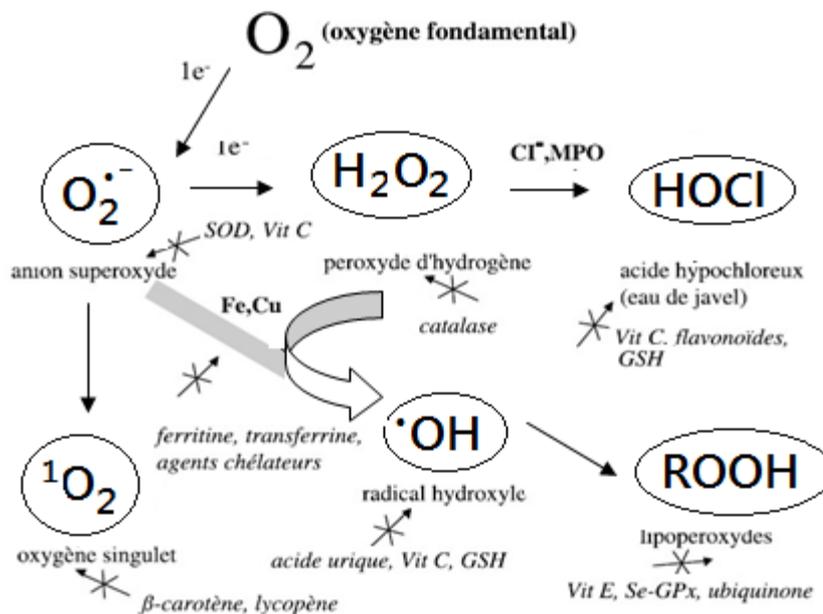


Figure 22 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury, 2008).

Systèmes enzymatiques : (Piquet, 2007 ; Smythies, 1998).

Il s'agit principalement de trois enzymes :

1- **Le superoxyde dismutase (SOD)** [accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Il y a plusieurs iso-enzymes de SOD : SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD)].

2- **La catalase (CAT)** [se trouve dans les hématies et les peroxysomes hépatiques]. Elle agit en synergie avec la SOD puisque elle accélère la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire]

3- **La glutathion peroxydase (GPx)** [La glutathion peroxydase est une séléno-enzyme (Se- GPx) qui détoxifie le peroxyde d'hydrogène résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH : glutathion réduit). **La glutathion réductase (GR)** a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG (glutathion oxydée) tout en utilisant le NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase : enzyme donneur d'électrons) comme un cofacteur.

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du O₂^{•-} et du H₂O₂, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire comme le montre la figure 23.

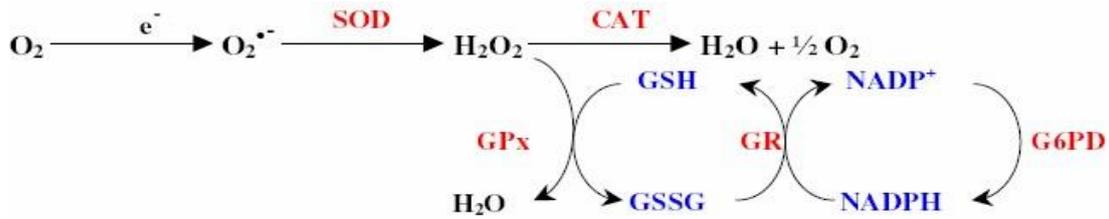


Figure 23 : Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique (Piquet, 2007).

Systèmes non enzymatiques :

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque. De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire). La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires.

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^{+} permettant de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (figure 24) (Trivalle, 2002).

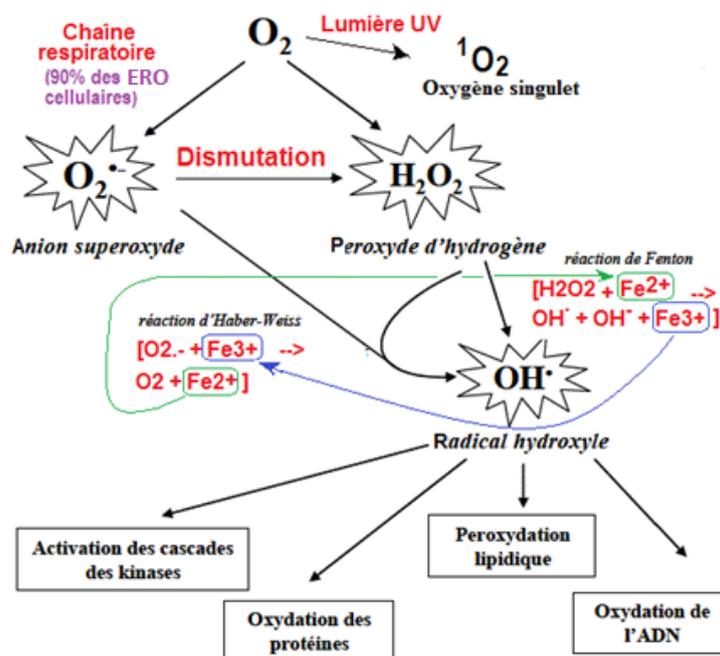


Figure 24 : EOR non enzymatique.

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables. La vitamine piègeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. Par exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, elle-même régénérée par les ascorbates réductases. Des composés comme les alcaloïdes, les polyphénols, les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**) et les flavonoïdes apportés également par l'alimentation, jouent un rôle similaire de piègeurs de radicaux libres.

III.6. Les antioxydants d'origine végétale

Les antioxydants d'origine végétale regroupe presque tout les métabolites secondaire, c'est-à-dire les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, etc.

**PARTIE
EXPETIMENTALE**

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétale

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de *Atriplex halimus L.*, communément appelée « Gtaf », car elle est très abondante dans la région de Tébessa.

I.2. Situation géographique

Les caractéristiques de la zone d'étude sont représentées sur le tableau 4 et sa position est donnée sur la figure 25.

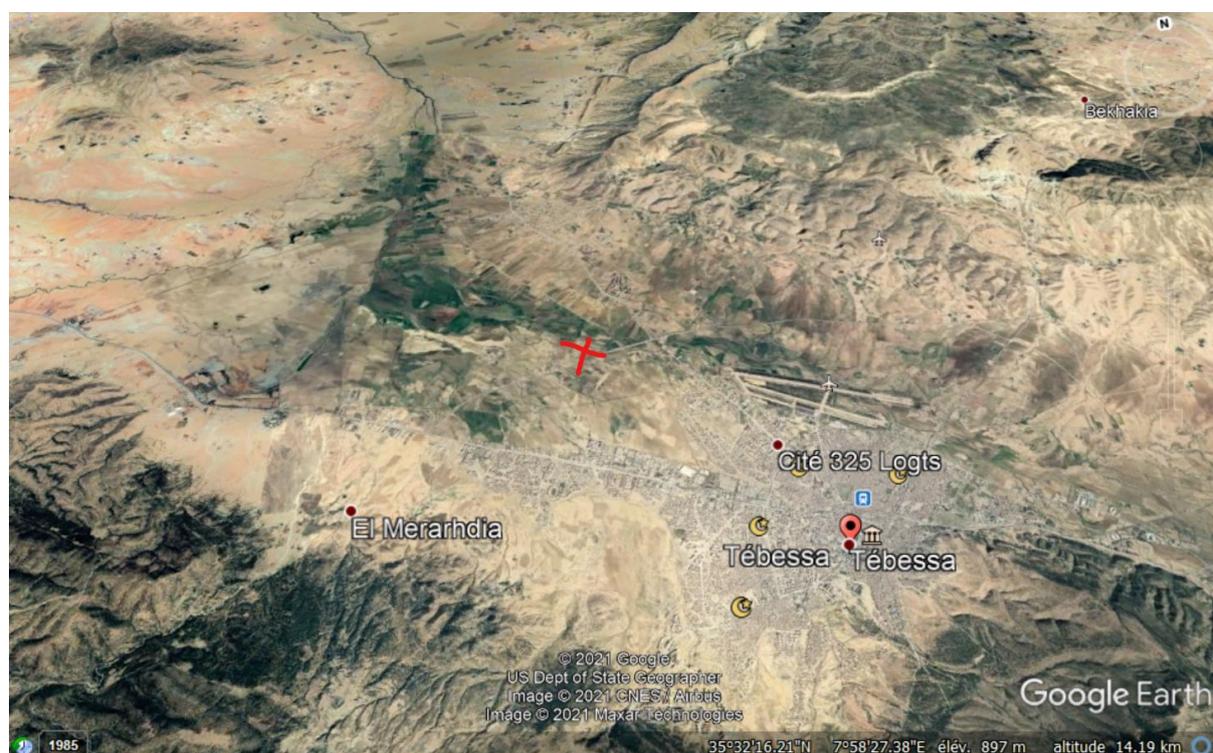


Figure 25 : Carte géographique du lieu de récolte dans la ville de Tébessa.

Tableau 4 : Caractéristiques de la zone d'étude.

Région	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Tebessa	793	N35°.26'35.9944	8°04'27.19"E	Arde et semi-aride

I.3. Récolte et séchage de la plante

Cette plante a été récoltée durant le mois de Décembre 2020 dans la ville de Tébessa. Après la récolte, les parties aériennes débarrassées des débris, lavées et séchées à l'ombre. Elles sont broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique et conservées dans des boîtes hermétiquement fermé et à l'abri de l'humidité.

I.4. Matériel de laboratoire utilisé

Le gros matériel utilisée est représenté dans le tableau 5.

Tableau 5 : Gros matériel.

Matériel	Photo
Four à moufle	
Lampe UV	
Spectrophotomètre UV-Vis	

PARTIE EXPERIMENTALE

Voltalab 40



Rotavapeur



Ultra-son



Lyophilisateur



PARTIE EXPERIMENTALE

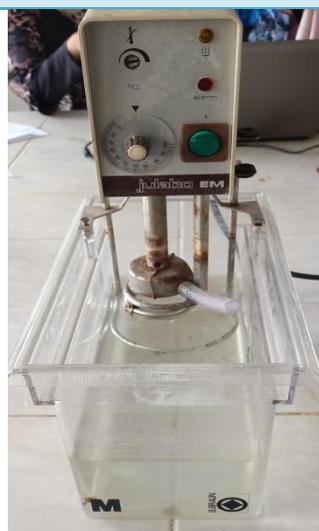
Agitateur magnétique



Balance électronique de précision



Bain thermostaté



Soxhlet



Dessiccateur



Chauffe ballon



Montage de filtration	
Micropipettes	
Etuve	

Le petit matériel et les produits utilisés sont regroupés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Petit matériel et produits.

Petit matériel	Produits
1- Papier filtre	1- MeOH
2- Erlenmeyer	2- EtOH
3- Ampoule à décanter 1l	3- Ether diéthylique
4- Cristalliseur	4- Ether de pétrole
5- Entonnoir	5- CH ₂ Cl ₂
6- Papier PH	6- MgSO ₄
7- Plaque CCM	7- CHCl ₃
8- Buchner	8- Acétate d'éthyle

PARTIE EXPERIMENTALE

9- Spatule	9- n-butanol
10- Becher de (50ml, 100ml, 250ml, 500ml)	10- FeCl ₃
11- Ballon à fond rend 11	11- HCl cc
12- Pierre ponce	12- NH ₄ OH
13- Tubes à essais	13- Folin
14- Eprouvette graduée	14- Tournure de Mg
15- Fiole jaugée	15- Liqueur de fehling
	16- NaOH
	17- AlCl ₃
	18- H ₂ SO ₄ cc
	19- Carbonate de Na
	20- Acide formique
	21- Acétone
	22- Eau distillée
	23- Iode
	24- KI
	25- DMF
	26- Acide trichloroacétique
	27- Acide gallique
	28- Toluène
	29- Empois d'amidon
	30- Acétate de sodium.
	31- Tartrate de potassium
	32- Tartrate de sodium
	33- Anhydride acétique
	34- Formol
35- PF ₆	

I.5. Les paramètres physico-chimiques

Toutes les mesures ont été effectuées en triplicata. L'erreur est mentionnée directement sur toutes les figures.

I.5.1. Détermination de la teneur en eau

Les échantillons sont séchés jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids fixe. Neuf échantillons de la partie aérienne fraîche de 1 g chacun sont placés dans une étuve à 104°C (4 h), ensuite les capsules sont retirées de l'étuve, chaque ½ h, et placées dans un dessiccateur pour être pesées une fois refroidis. La teneur en eau des feuilles est déterminée comme suit (**Benkhaled, 2018**) :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = [(M_f - M_s) / M_f] \times 100$$

M_f : matière fraîche

M_s : matière sèche

I.5.2. Détermination de la teneur en cendre et de la matière organique

La matière végétale est calcinée pour détruire totalement toutes les particules charbonneuses et la pesée de la matière minérale restante (**Hireche, 2013**).

La poudre de 1 g est mise dans un creuset (M1) qui est placé dans un four à moufle à 550°C pendant deux heures jusqu'à obtention d'une poudre grise claire ou blanchâtre.

- Après refroidissement dans un dessiccateur, peser la capsule (M2).

On exprime la matière organique (MO) par la formule suivante:

$$\text{MO \%} = (M1 - M2 / P) \times 100$$

La teneur en cendre (Cd) est calculée comme suit:

$$\text{Cd (\%)} = 100 - \text{MO\%}$$

Où:

M1: masse de la capsule + prise d'essai

M2: masse de la capsule + cendres

P: masse de la prise d'essai

I.6. Screening phytochimique (dosage qualitatif)

I.6.1. Introduction

Le screening phytochimique est une étude qualitative pour rechercher les métabolites primaires et secondaires contenus dans notre plante (phénols, tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, composés réducteurs, etc.). Des réactions de précipitation et de complexation, par des réactifs chimiques spécifiques, constituent les tests de caractérisation de ces groupes de molécules (**Bammou, 2014**). Les tests ont été réalisés sur plusieurs extraits (extrait aqueux, extrait éthanolique, extrait chloroformique, extrait éther de pétrole, extrait éther diéthylique et extrait acide).

I.6.2. Caractérisation des métabolites (Bruneton, 1993, 1999 ; Bentab, 2015 ; Rajeshwar, 2013 ; Awor, 2003 ; Yam, 2009 ; Chenni, 2010 ; Mazari, 2010 ; Beddiar, 2016 ; Ribéreau, 1968)

I.6.2.1. Produit végétal épuisé avec l'eau

5g de matière végétale sont introduites dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 50 mL d'eau distillée. Le mélange ainsi formé est porté au reflux pendant 1h.

L'extrait aqueux obtenu après filtration de la solution a été soumis aux tests suivants :

I.6.2.1.1. Caractérisation de l'amidon

Traiter 1mL de la solution préparée avec l'empois d'amidon ou avec l'iode I₂. L'apparition de la couleur bleu violacée indique la présence d'amidon.

I.6.2.1.2. Caractérisation des composés réducteurs

Traiter 2 ml de la solution avec quelques gouttes de la liqueur de Fehling (0,5 mL de réactif A et 0,5 ml de réactif B) et chauffer. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence d'hydrates de carbone.

I.6.2.1.3. Caractérisation des Saponosides

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire respectivement 1, 2, 3, ..., 10 ml de la solution à analyser. Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau

distillée. Agiter chaque tube pendant 15 secondes. Laisser reposer 15 min et mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube.

La hauteur de mousse doit être égale à 1 cm.

I.6.2.1.4. Caractérisation des tanins

Traiter 1ml de la solution aqueuse avec 1 ml d'eau et quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 1%. L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-verdâtre indique la présence de tanins.

❖ Tanins catéchiques et galliques

10 ml de formol à 30 % et 5 ml d'acide chlorhydrique concentré sont ajoutés à 5 ml de la solution à tester. Le mélange est chauffé au bain-marie pendant 15 mn.

L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Pour les tanins galliques, nous avons filtré la solution précédente. Ensuite, on ajoute au filtrat recueilli 5ml d'acétate de sodium et 3 gouttes de FeCl_3 . L'apparition d'une coloration bleu-noir intense, signe la présence de tanins galliques.

I.6.2.2. Produit végétal épuisé par infusion

Consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 20 ml d'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 20 ml de filtrat.

I.6.2.2.1. Caractérisation des polyphénols

Quelques gouttes de perchlorure ferrique (FeCl_3 , 10%) sont ajoutées à 2 ml d'extrait, la formation d'un précipité noir-vert intense fut le signe de la présence des polyphénols.

I.6.2.2.2. Caractérisation des mucilages

Introduire 1 ml de décocté dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages.

I.6.2.2.3. Caractérisation des glycosides cardiaques

2 ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H₂SO₄ indique la présence des glycosides cardiaques.

I.6.2.2.4. Caractérisation des caroténoïdes

On ajoute 3 ml d'HCl et 3 ml d'H₂SO₄ à 5 ml d'infusé de la plante. L'apparition d'une coloration verte devenant bleu par la suite indique la présence de caroténoïdes.

I.6.2.3. Produit végétal épuisé avec de l'éthanol

20g de matière végétale sont introduits dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 100 ml d'éthanol. Le mélange ainsi formé est porté au reflux pendant 1h. L'extrait obtenu après filtration de la solution a été soumis aux tests suivants :

I.6.2.3.1. Caractérisation des alcaloïdes

Après évaporation de 20 ml de la solution éthanolique, ajouter 5ml d'acide chlorhydrique (HCl) 2N au résidu et chauffer dans un bain-marie. Filtrer puis diviser le filtrat en deux parties. La première est traitée avec le réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner.

L'observation d'une turbidité ou d'un précipité indique la présence d'alcaloïdes.

- Une légère opacité : test faiblement positif (±)
- Une turbidité et non une floculation : test positif (+)
- Une floculation ou un précipité lourd : test très positif (++)

I.6.2.3.2. Caractérisation des anthracénosides et les anthocyanosides

25 ml de l'extrait éthanolique sont introduits dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 15 ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 10%. Le mélange ainsi formé est porté au reflux pendant 30 mn. Après refroidissement, on extrait la solution trois fois avec 15ml d'éther diéthylique, ensuite, les deux phases sont traitées séparément.

❖ Anthracénosides

Traiter 8ml de la solution extractive éthérique avec le réactif de Bornträger. L'apparition d'une couleur qui varie de l'orange-rouge au violet pourpre indique la présence d'anthracénosides.

❖ Anthocyanosides

Doser la phase acide par une solution de soude (NaOH). Un changement de couleur en fonction du pH prouve la présence des anthocyanosides.

- pH < 3 la solution se colore en rouge, coloration qui décroît quand le pH augmente vers la neutralité.
- 4 < pH < 6 la solution prend une coloration bleue.

I.6.2.3.3. Caractérisation des composés réducteurs

Ajouter 2 ml d'eau distillée et quelques gouttes de la liqueur de Fehling à 1ml de l'extrait éthanolique puis chauffer. La formation d'un précipité rouge brique prouve la présence de sucres.

I.6.2.3.4. Caractérisation des flavonoïdes

Ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) à 5 ml de l'extrait éthanolique en présence de 0,5g de tournures de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est indiqué par l'apparition d'une couleur : rose-orangé (flavones) ; rouge (flavonols) ; rouge, violet, bleu (flavonones) et pas de coloration (isoflavones).

I.6.2.3.5. Caractérisation des stérols et stéroïdes

Deux essais ont été réalisés :

- ❖ Traiter le résidu obtenu après évaporation de 10ml d'extrait éthanolique, avec 10 ml de chloroforme (CHCl₃). Après filtration, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré à 5 ml de la solution chloroformique en présence de 5 ml d'anhydride acétique. Agiter puis laisser reposer.

L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert indique la présence des stérols et stéroïdes.

- ❖ Dissoudre le résidu obtenu par évaporation de 10ml de l'extrait alcoolique dans 0,5 ml de chloroforme (CHCl₃). Traiter le filtrat avec 1ml d'acide sulfurique concentré.

L'apparition d'une couleur rouge superposée à une couleur jaune-verdâtre indique la présence des stérols et stéroïdes.

I.6.2.4. Produit végétal épuisé avec du chloroforme

5g de matière végétale sont introduits dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 50ml de chloroforme (CHCl₃). Le mélange ainsi formé est porté au reflux pendant 30mn. L'extrait obtenu après filtration de la solution a été soumis aux tests suivants :

I.6.2.4.1. Caractérisation des stérols insaturés et terpènes

Traiter 2 ml de la solution chloroformique avec 1 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) avec précaution, l'apparition à l'intersection de deux phases, d'une couleur verte qui se transforme en rouge confirme l'existence des stérols insaturés et terpènes.

I.6.2.4.2. Caractérisation des anthraquinones

Ajouter 1ml d'une solution de potasse (KOH aqueux 10%) à l'extrait chloroformique. Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge.

I.6.2.5. Produit végétal épuisé avec l'acide sulfurique

5g de matière végétale sont introduits dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 50ml d'acide sulfurique (2N). Le mélange ainsi formé est porté au reflux pendant 2h. L'extrait obtenu après filtration de la solution a été soumis aux tests suivants :

I.6.2.5.1. Caractérisation des quinones combinées

Extraire la solution obtenue avec du chloroforme (CHCl₃), décanté, puis après évaporation de la phase organique, on ajoute quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) diluée à 50%. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence de quinones combinées.

I.6.2.6. Produit végétal épuisé avec l'éther de pétrole

Macération de 2 g de poudre de la plante dans 15 ml d'éther de pétrole pendant 30 min puis filtration.

I.6.2.6.1. Caractérisation des lipoides

Evaporer l'extrait sur une plaque chauffante jusqu'à l'obtention d'un résidu huileux, on ajoute quelque goutte de H₂SO₄ concentré. L'apparition d'une coloration verte ou violette indique la présence de lipoides.

I.6.2.7. Produit végétal épuisé avec l'éther diéthylique

20g de matière végétale sont introduits dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et contenant 100 ml d'éther diéthylique, le mélange ainsi formé est porté au reflux pendant 1h. L'extrait obtenu après filtration de la solution a été soumis aux tests suivants :

I.6.2.7.1. Caractérisation des huiles volatiles

La détection des huiles volatiles consiste à évaporer à sec 20 ml de l'extrait éthérique, dissoudre le résidu obtenu dans de l'alcool puis concentrer à sec la solution alcoolique obtenue.

- Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu aromatique.

I.6.2.7.2. Caractérisation des acides gras

L'essai effectué est le même que celui utilisé pour la recherche des huiles volatiles, seulement la solution alcoolique obtenue subiras un traitement avec une solution basique de soude ou de potasse, suivie d'un ajout de 2 ml d'eau distillé. Extraire la solution avec l'éther diéthylique et la concentrer à sec.

- Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu gras.

I.6.2.8. Tests chromatographiques

I.6.2.8.1. Caractérisation des coumarines

- ❖ **Test de détection** : 2g de matière végétale en poudre sont mélangées à 10ml de CHCl_3 . Après un chauffage de quelques min et une filtration, les extraits chloroformiques sont révélés par une CCM, avec le mélange toluène /AcEt (90 :10) comme éluant. La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait avec une lampe UV (356 nm) en absence et en présence de vapeur de NH_3 .
- ❖ **Test de confirmation** : 1 g de poudre végétale est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH diluée et sont portés à ébullition.

Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV.

I.Préparation des extraits

I.7.1. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques (Recherche du meilleur solvant et de la meilleure méthode d'extraction)

I.7.1.1. Recherche du meilleur solvant et la meilleure méthode d'extraction

Dans cette première partie, on a choisi d'extraire la poudre végétale par macération simple en variant la polarité du solvant. Cinq solvants purs ont été choisis avec des polarités proches (acétone, éthanol, méthanol, acétate d'éthyle et l'eau) à froid, à chaud et à l'ultra-son. Les extraits sont préparés en ajoutant 10 ml du solvant d'extraction à 1 g de poudre végétale.

L'extraction a été faite par sonication, par soxhlet, par macération, par infusion, par décoction et par extraction à chaud.

I.7.1.2. Recherche du meilleur mélange de solvants hydro-alcooliques

I.7.1.2.1. Méthode d'extraction solide/liquide

- **Macération**

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **(Hamia, 2014)**.

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant :

- Peser 100 gramme de la matière végétale,
- Mettre la matière végétale (100 g) dans 300 ml de solvant,
- .-Agiter de temps en temps,
- Laisser macérer pendant 24 h,
- Filtrer sur un papier filtre Wathman (n°:1),
- Récupérer le filtrat dans un flacon,
- Répéter la procédure trois fois,
- Les macéras de 3 jours sont placés dans un seul récipient,
- Evaporer à sec.

- **Ultra-son**

L'extraction assistée par ultrasons a été faite dans un bain de nettoyage à ultrason avec une fréquence de 50 kHz, à température et pression ambiante.

L'extraction assistée par ultrasons est une bonne méthode pour l'extraction des principes actifs des plantes (**Wang, 2006 ; Melecchi 2002**).

Le protocole expérimental est le suivant :

- Peser 1 g de la plante séchée,
- Ajouter 10 ml de solvant,
- Placer le mélange dans un appareil ultrasonique,
- Laisser le mélange réagir 20 min,
- Filtrer sur un papier filtre wathman n°1,
- Evaporer à l'aide d'un lyophilisateur.

- **Soxhlet**

Un extracteur soxhlet est un montage à reflux utilisé pour extraire les métabolites d'une plante. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles (**Herodez 2003**).

Le protocole expérimental est le suivant :

- Peser 25 g de la plante séché,
- Ajouter 100 ml de méthanol dans le ballon,
- Chauffer le ballon avec le montage de soxhlet,
- Extraire jusqu'à ce que le solvant soit transparent,
- Evaporer le solvant.

- **A Chaud**

Elle se fait en mélangeant la plante et le solvant à reflux pendant 10 min (**Rajeshwar, 2013**).

Le protocole expérimental est le suivant :

- Peser 1 gramme de la matière végétale,
- Mettre la matière végétale avec 10 ml de solvant,
- Maintenir l'ébullition pendant 10 min,
- Filtrer sur un papier filtre Wathman (n°:1),
- Récupérer le filtrat dans un flacon,
- Evaporer à l'aide de lyophilisateur.

- **Décoction**

La plante est versée dans l'eau froide et portée à ébullition pendant 30 min (**Awor 2003**).

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole suivant :

- Peser 1 gramme de la plante séché,
- Ajouter 10 ml d'eau distillée puis agiter manuellement et doucement,
- Chauffer le mélange dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes,
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante,
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1,
- Evaporer à l'aide d'un lyophilisateur.

- **Infusion**

La drogue brute est ajoutée à de l'eau chaude et recouverte jusqu'à refroidissement.

Le protocole expérimental est le suivant :

- Peser 1 g de la plante séchée,
- Ajouté 10 ml d'eau distillée bouillante,
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante,
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1,
- Evaporer le solvant à l'aide d'un lyophilisateur.

I.7.1.2.2. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide des métabolites secondaires dépend de leur solubilité dans les solvants organiques. Ainsi, le fractionnement de l'extrait brut a été mené, d'abord en ajoutant de l'eau chaude et en filtrant, ensuite en utilisant successivement quatre solvants organiques de polarités différentes (l'éther de pétrole, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le 1-butanol). Les extraits sont conservés à froid jusqu'à leur utilisation. La Figure 26, résume les étapes de fractionnement de l'extrait brut.

Les étapes d'extraction de la plante, solide/liquide et liquide/liquide sont représentés sur la figure 26.

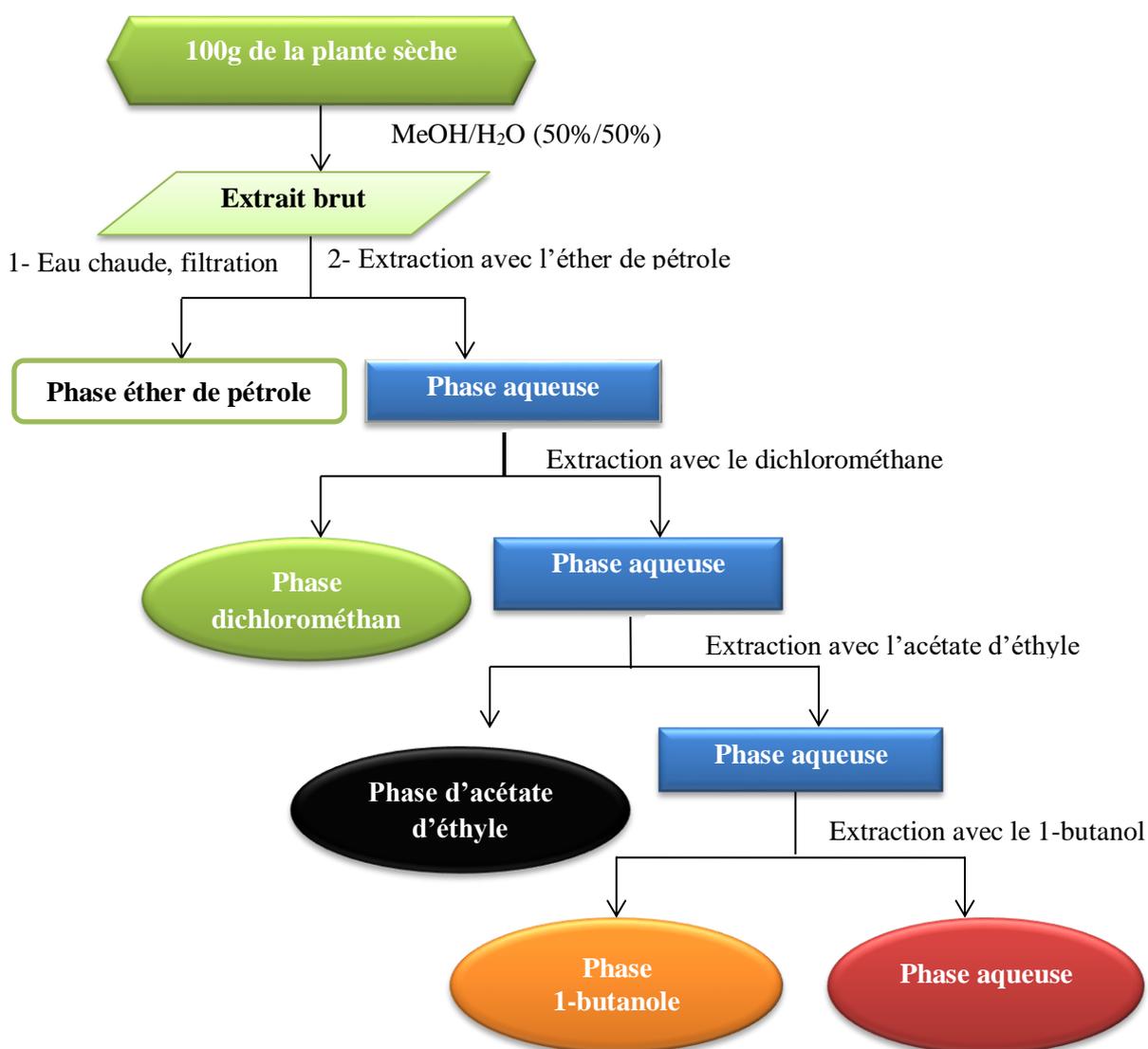


Figure 26 : Les étapes d'extraction de la plante solide/liquide et liquide/liquide.

I.7.1.3. Rendements des extraits bruts

Le rendement en pourcentage de la plante en extrait brut a été calculé par la formule :

$$R = (M/M_0) \times 100$$

R : Rendement en extrait brut exprimé en %.

M : Masse (g) de l'extrait brut après extraction.

M₀ : Masse (g) du matériel végétal sec initial.

I.8. Dosage quantitatif des métabolites secondaires

I.8.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de *L'Atriplex Halimus L.* a été effectué par spectrophotométrie UV selon la méthode du réactif de Folin - Ciocalteu. Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. En milieu alcalin, le réactif de Folin - Ciocalteu oxyde les phénols en ions. (**Hireche, 2013**).

Le protocole expérimental est le suivant :

Une prise de 125 µl de l'extrait est mélangée avec 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3min, une prise de 1250 µl de Na₂CO₃ à 7,5 % est additionnée. Le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm.

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variant de 50 à 500 mg.l⁻¹. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG.g⁻¹ MS). (**Bourgou, 2016**).

I.8.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits bruts, méthanoliques, éthanoliques, acétate d'éthyle, acétone, mélange méthanol/eau et aqueux.

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits (**Kosalec 2004**).

Le protocole expérimental est le suivant :

Dans une fiole jaugée de 50ml, une quantité de 100 μ l de chaque extrait préparé dans le méthanol pur est ajouté à 100 μ l d' $AlCl_3$ à 10% et 30ml de méthanol pur, ensuite la fiole est complétée avec de l'eau distillée. L'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm.

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la catéchine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait (**Fadili, 2017**).

I.9. Estimation de l'effet antioxydant de l'*Atriplex Halimus* par voltamétrie cyclique (Bouhamed, 2019).

I. 9.1. Principe

Les méthodes électrochimiques utilisent la propriété de certaines substances de pouvoir échanger des électrons avec un conducteur électronique qui est l'électrode.

La **voltamétrie cyclique** est une méthode d'analyse électrochimique pour détecter et caractériser des composés oxydables et réductibles en solution.

En voltamétrie cyclique, on fait varier le potentiel de l'électrode de travail d'un potentiel initial E_0 , qui va augmenter jusqu'au potentiel E_{max} , puis il diminue jusqu'à E_{min} avant de retourner à E_0 . On peut enregistrer plusieurs cycles.

Dans le cas d'une réaction réversible, on trouve un courant inverse au retour du balayage de potentiel si le produit de la réaction est stable (figure 27).

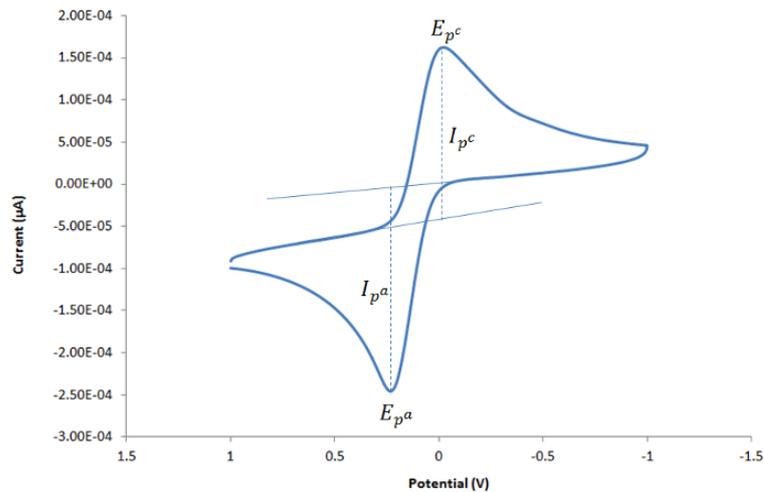


Figure 27 : Voltamogramme d'un système réversible.

* **E_{pa} et E_{pc}** : sont les potentiels d'oxydations et de réductions.

Par contre, si le produit se décompose avant le retour du balayage de potentiel, la vague retour n'est pas observée, c'est le système irréversible (figure 28).

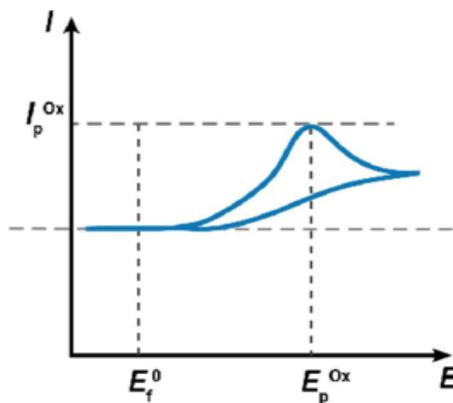


Figure 28 : Voltamogramme d'un système irréversible.

Si un composé contient plusieurs degrés d'oxydation, ou s'il y a plusieurs produits présents avec des potentiels rédox différents, le voltamogramme montre plusieurs vagues successives. La figure 29 montre deux vagues réversibles.

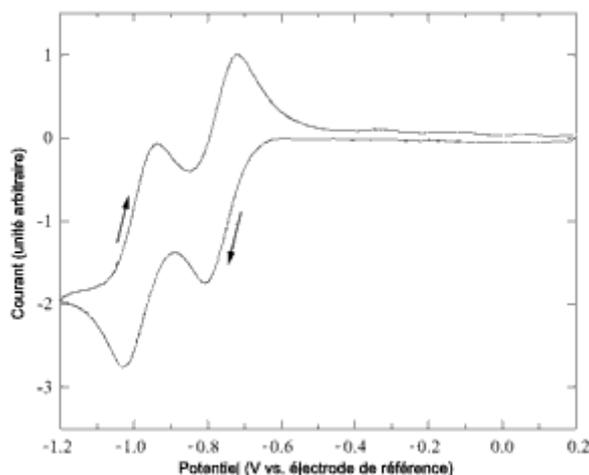
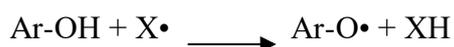


Figure 29 : Voltammogramme d'un système réversible à deux vagues.

L'activité antioxydante des extraits naturels est liée au comportement redox des substituants attachés aux polyphénols (-OH, -OMe, etc.), ce qui est traduit par des pics d'oxydation (intensités (I_{pa}) et potentiels d'oxydation (E_{pa})) et des pics de réduction si le système est réversible.

La réduction de divers radicaux par les polyphénols (Ar-OH) a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. A cause de leur faible potentiel redox, ils sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, les peroxydes ($ROO\bullet$), les alkoxydes ($RO\bullet$) et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène selon l'équation suivante :



Où $X\bullet$: Représente l'une des ERO mentionnées ci-dessus ;

Ar-O \bullet : radical aryloxyde.

L'acide gallique est utilisé comme standard dans notre étude, pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits, à cause de ses propriétés antioxydantes intéressantes.

I.9.2. Mode opératoire (Evaluation de l'activité antioxydante par le piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$)

I.9.2.1. Voltammogrammes cycliques de l'oxygène

D'après (Benabdessalam 2017), les mesures sont effectuées dans une cellule électrochimique de 25 ml et un système à trois électrodes. L'anion radical superoxyde est généré par l'oxygène moléculaire commercial dissout dans le DMF qui contient 0.1M de NaBu₄PF₆ à la température ambiante. La vitesse de balayage est de 100mV/s. La gamme de potentiel appliquée a été réalisée de - 1.6V à 0.0V par rapport à l'ECS. Les voltammogrammes de l'oxygène sont ensuite enregistrés et seront du type figure 30 :

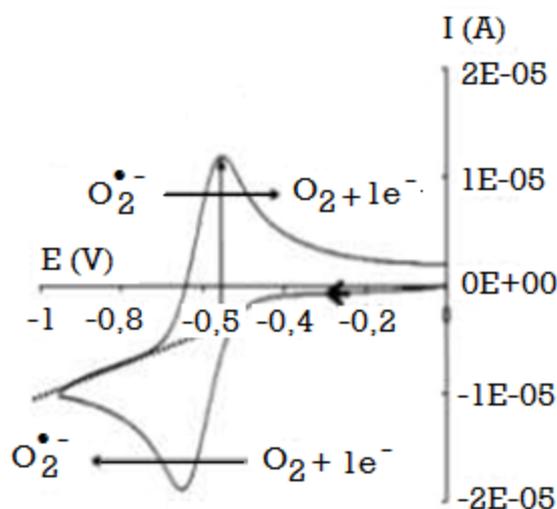


Figure 30 : Voltammogramme cyclique d'oxygène.

I.9.2.2. Etude du comportement de l'acide gallique

L'étude électrochimique du comportement de l'acide gallique est effectuée à une concentration de 0.1mM, un potentiel variant de -0.4 mV à 1.6 mV et une vitesse de balayage de 100 mV/s.

I.9.2.3. Etude du comportement des extraits

Dans les mêmes conditions précédentes, on traite les extraits de *Atriplex halimus* en ajoutant une quantité bien déterminée de l'extrait dans la cellule électrochimique (Boubakri, 2014).on obtient les voltammogrammes cycliques suivants :

La capacité du produit testé à piéger les radicaux superoxydes (O₂^{•-}) est calculée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Capacité inhibitrice de l'ion superoxyde (\%)} = 100 \cdot (I_{p0} - I_{ps}) / I_{p0}$$

Où : I_{p0} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène seul

I_{ps} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène plus l'extrait

II. Résultats et discussions

II.1. Paramètres physico-chimiques

Les analyses physicochimiques de la plante *Atriplex Halimus L.* sont basées sur la détermination des teneurs en eau, matière sèche, matière minérale et matière organique.

II.1.1. Détermination de la teneur en eau

La détermination de la quantité de matière sèche est basée sur la détermination de la teneur en eau de notre plante. Les résultats sont regroupées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Matière sèche et teneur en eau de *l'Atriplex Halimus L.*

	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
T (h)	0	0,50	1	1,50	2	2,50	3	3,50	4	4,50
P (g)	1	0,37	0,27	0,26	0,25	0,27	0,28	0,25	0,26	0,27
MS(%)		37,81	27,10	26,96	25,97	26,52	25,94	25,83	26,08	27,47
TE (%)		62,19	72,90	73,04	74,03	73,48	74,06	74,17	73,92	72,53

P : Poids de la plante en g, **MS :** Matière sèche, **TE :** Teneur en eau, **T :** Temps.

Les figures 31, 32 et 33 montrent les pourcentages en eau et en matière sèche de notre plante.

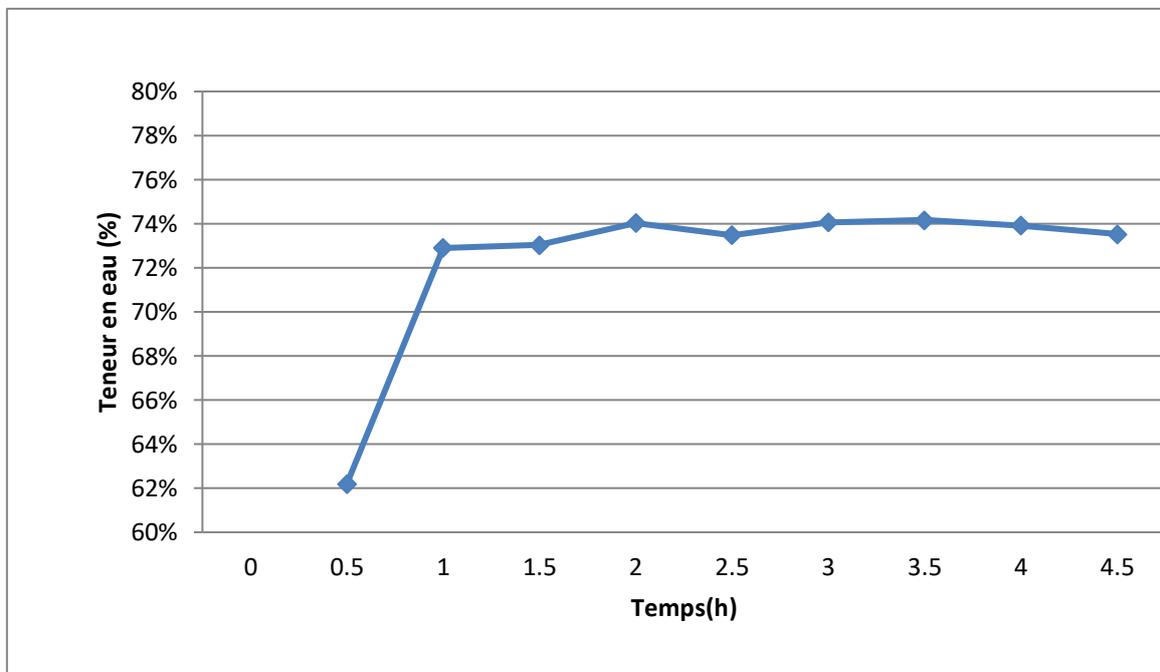


Figure 31 : Teneur en eau de *l'Atriplex Halimus L.*

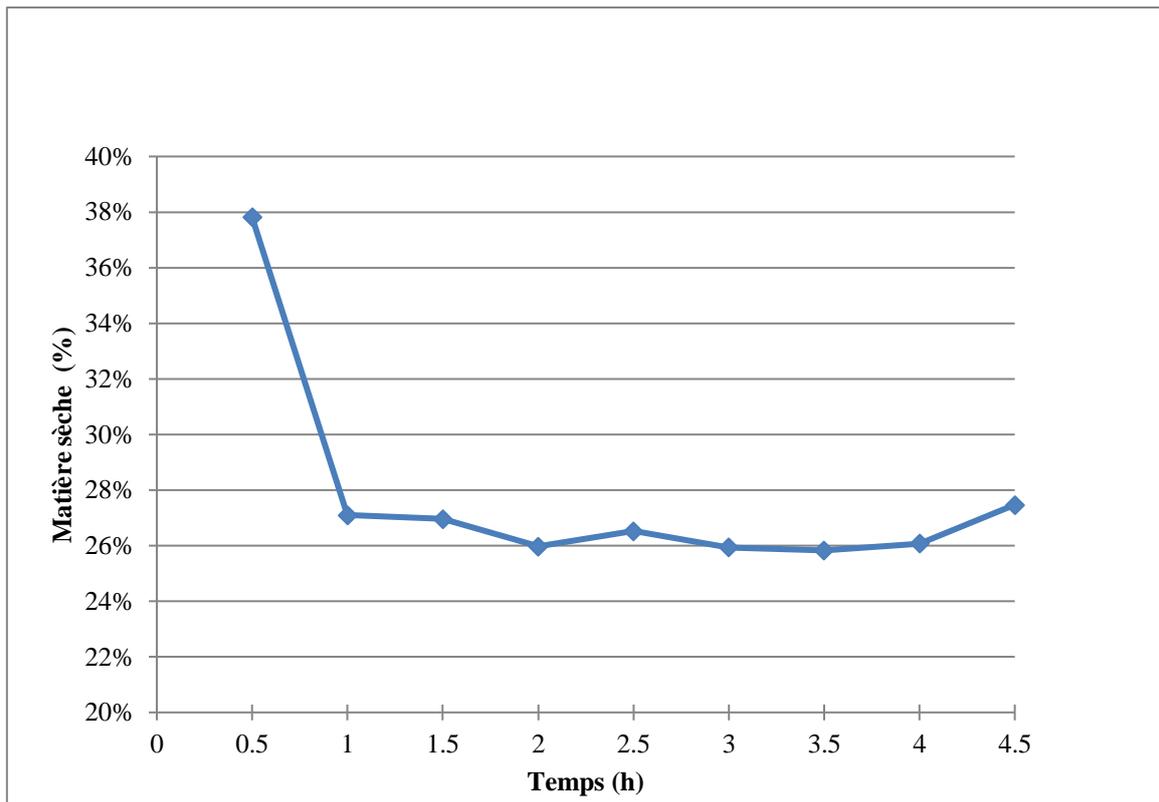


Figure 32 : Matière sèche de l'*Atriplex Halimus L.*

La figure 33 montre les secteurs de la teneur en eau et de la matière sèche de notre plante.

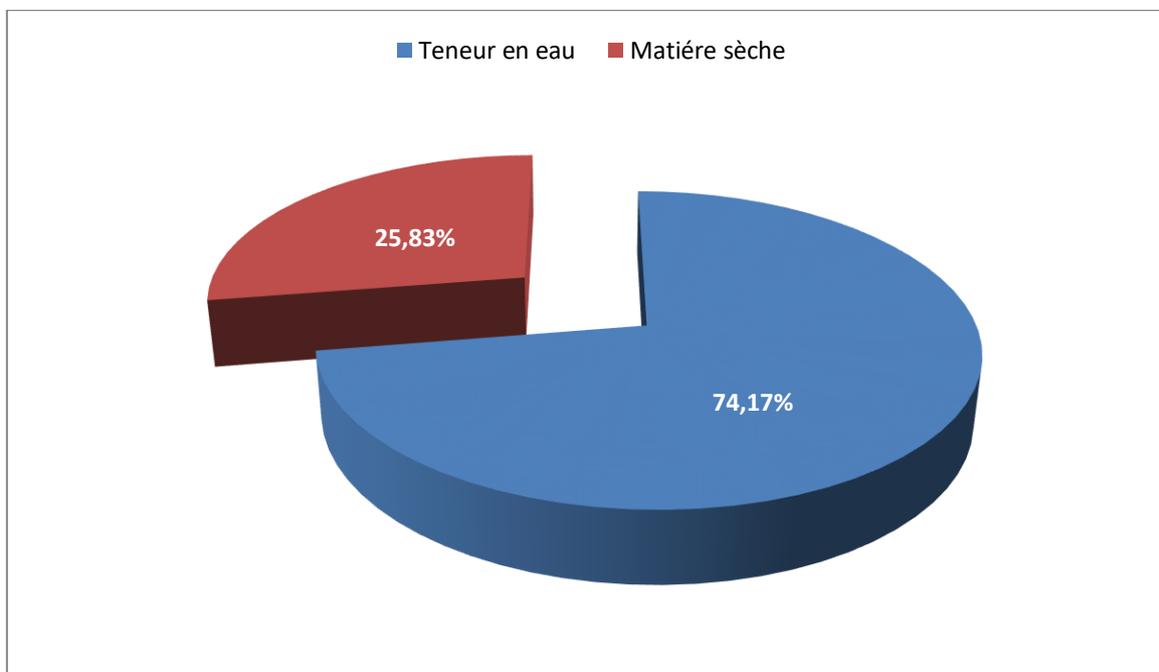


Figure 33 : Teneur en eau et matière sèche de l'*Atriplex Halimus L.*

Les résultats montrent un taux d'humidité très élevé équivalent à 74,17%, ce qui correspond à plus de $\frac{3}{4}$ du poids de la plante fraîche, le reste (25,83%) étant de la matière sèche. Le taux d'humidité des plantes est lié au climat de leur habitat.

II.1.2. Détermination de la teneur en cendre et la matière organique

L'Atriplex Halimus L. présente une teneur élevée en matière organique (85,70%) et une teneur faible en matière minérale (14,29%) comme le montre la figure 34. En effet, la teneur en ces matières peut être expliquée par le stade de développement des plantes.

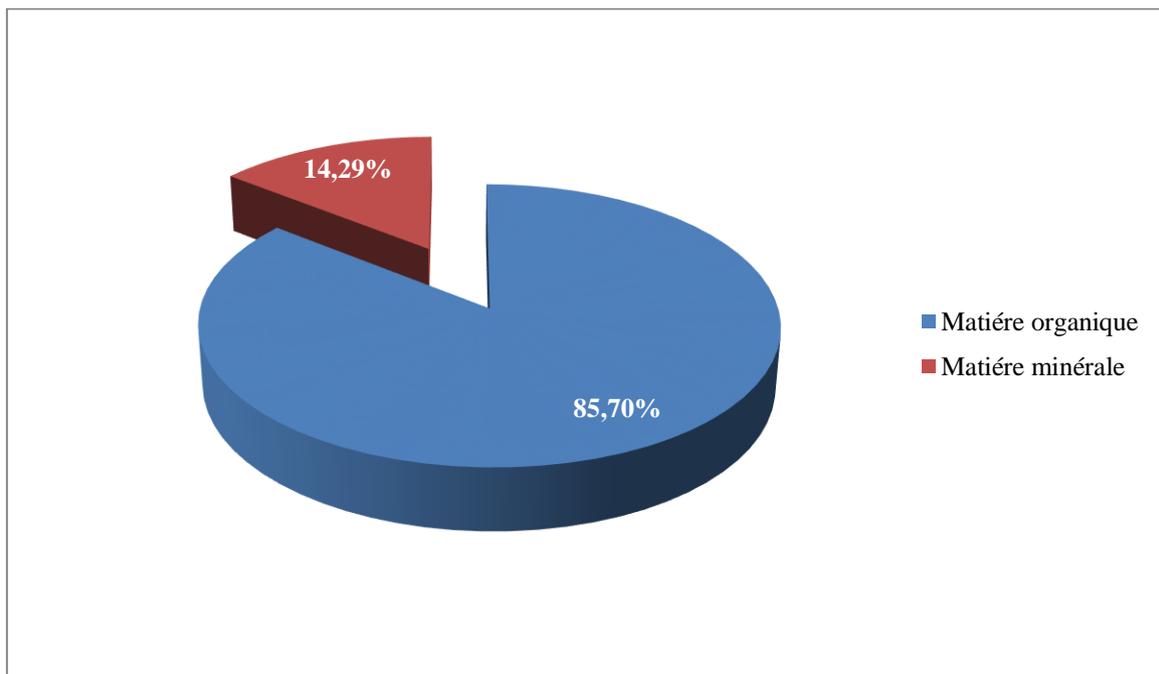


Figure 34 : Teneur en matières organique et minérale de *l'Atriplex Halimus L.*

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Composition de *l'Atriplex Halimus L.*

Matière sèche	25,83%
Matière minérale	14,29%
Matière organique	85,70%
Teneur en eau	74,17%

II.2. Screening phytochimique

Les résultats de cette analyse sont donnés selon le solvant d'extraction.

II.2.1.Extrait aqueux :

- **Extrait préparé par reflux**

Les tests effectués sur cet extrait sont regroupés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait aqueux.

Principe actif	Réactif	Résultat	Photos		Observation
			Avant	Après	
Amidon	I ₂	-			Absence de la couleur bleu violacée
Composées réducteurs	Liqueur de Fehling + HCl CC	+			Apparition d'un précipité rouge brique
Saponosides	La Mousse	-			Apparition d'une mousse de 1 cm.
Tanins	FeCl ₃	+			Apparition d'une coloration vert foncée
Tanins catéchique	Réactifs de Stiasny	+			Obtention d'un précipité
Tanins gallique	Réactif de Stiasny + FeCl ₃ + Acétate de sodium	-			Absence d'une coloration bleu-noir intense

+ : réaction positive

+/- : réaction douteuse

- : réaction négative

• **Extrait préparé par infusion**

Les tests effectués sur cet extrait sont regroupés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait aqueux (par infusion).

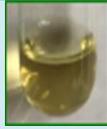
Principe actif	Réactif	Résultat	Photos		Observation
			Avant	Après	
Mucilage	EtOH	+			Apparition d'un précipité floconneux
Polyphénole	FeCl ₃ 1%	+			Apparition d'un précipité noir-vert intense
Caroténoïde	H ₂ SO _{4CC} + HCl _{CC}	-			Absence d'une coloration verte devenant bleu par la suite
Glycoside cardiaque	Chloroforme	+			l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre

D'après les résultats obtenus concernant l'extrait aqueux (à reflux ou en infusion), nous avons noté que *L'Atriplex Halimus L.* contient les polyphénols, des glycosides cardiaques, des composés réducteurs, du mucilage, des caroténoïdes et des tanins catéchiques. D'autre part nous avons remarqué l'absence des tanins galliques, des caroténoïdes, des saponosides et de l'amidon.

II.2.2.Extrait éthanolique

Les tests effectués sur cet extrait sont regroupés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait éthanolique.

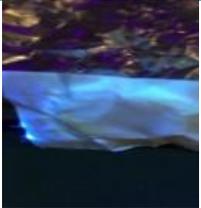
Principe actif	Réactif	Résultat	Photos		Observation
			Avant	Après	
Alcaloïdes	réactif de Mayer	+			Apparition d'une turbidité
	Réactif de Wagner	+			Apparition d'une turbidité
Anthracénosides	Réactif de Borntrager	+			Absence d'une couleur qui varie de l'orange-rouge au violet pourpre
Anthracyanosides	Dosage avec NaOH	-			Aucune coloration (rouge ou bleu) avec le changement de pH
Flavonoïdes	HCl _{cc} + Mg	+			Apparition d'une couleur violette
Stérols et stéroïdes	Réactif de Lieberman Burchard	+			Apparition d'un précipité vert

Les tests effectués sur cet extrait montrent qu'ils contiennent des alcaloïdes, des anthracénosides, des flavonoïdes (la couleur violette indique la présence de flavonones), des stérols et des stéroïdes. La plante ne contient pas d'anthracyanosides.

II.2.3. Extraits chloroformique et acide

Les tests effectués sur cet extrait sont regroupés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs de l'extrait chloroformique et de l'extrait acide.

Principe actif	Solvant d'épuisement	Réactif	Résultat	Photos		Observation
				Avant	Après	
Quinone combinées	Acide sulfurique	Reactifs de Borntrager	+			L'apparition d'une couleur rouge
Stérols insaturés et terpènes	Chloroforme	H ₂ SO ₄	-			L'apparition de deux phases vertes qui ne se transforment pas en rouge
Anthraquinone	Chloroforme	NaOH à 10%	-			L'absence le virage de la phase aqueuse au rouge
Coumarines	Chloroforme	Lampe UV à 365 nm	+			
		Papier filtre imbibé de NaOH dilué	+			fluorescence jaune

Au vu des résultats des tests réalisés sur ces deux extraits (chloroforme et acide sulfurique), nous avons noté que notre plante contient les quinones combinées et les coumarines, tandis que les anthraquinones, les stérols insaturés et les terpènes sont absents.

II.2.4. Extrait d'éther de pétrole et éther diéthylique

Les tests effectués sur cet extrait sont regroupés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Résultats des tests chimiques de détection des principes actifs des extraits éther de pétrole et éther diéthylique.

Principe actif	Solvant d'épuisement	Réactif	Résultat	Photos		Observation
				Avant	Après	
Acide gras	Ether diéthylique	Solution de NaOH	+			Obtention d'un résidu gras
Huiles volatiles	Ether diéthylique	EtOH	+			Obtention d'un résidu aromatique
lipoides	Ether de pétrole	H ₂ SO ₄	+			Apparition d'une coloration verte ou violette

Les tests effectués sur ces extraits sont positifs, ce qui indique que la plante contient des lipoides, des acides gras et des huiles volatiles (une très faible odeur).

II.3. Comparaison entre les différentes méthodes d'extraction des principes actifs de l'*Atriplex Halimus L.*

II.3.1.Extraction solide/liquide

PARTIE EXPERIMENTALE

Pour déterminer la quantité des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans la plante de *Atriplex Halimus L.*, nous avons utilisés la spectrophotométrie UV/Visible (l'acide gallique étant le standard pour le dosage des polyphénols et la catéchine pour le dosage des flavonoïdes), les résultats sont représentés dans les figures 35, 36.

Les quantités des polyphénols et des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en milligramme d'équivalents de l'étalon utilisé par millilitre d'extrait (mg Eq AG/ml d'extrait) pour les polyphénols et (mg Eq Cat /g MS) pour les flavonoïdes donnant des droites d'équation:

Pour les polyphénols : $y = 9,0445x$

Pour les flavonoïdes : $y = 1,527x$

Y étant l'absorbance et x la concentration.

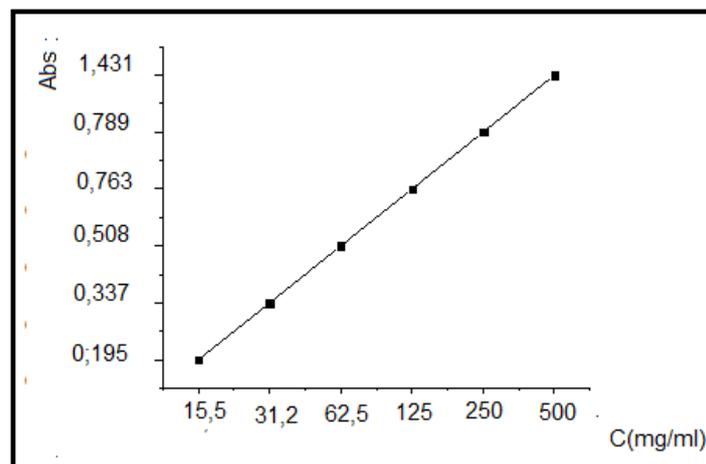


Figure 35 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

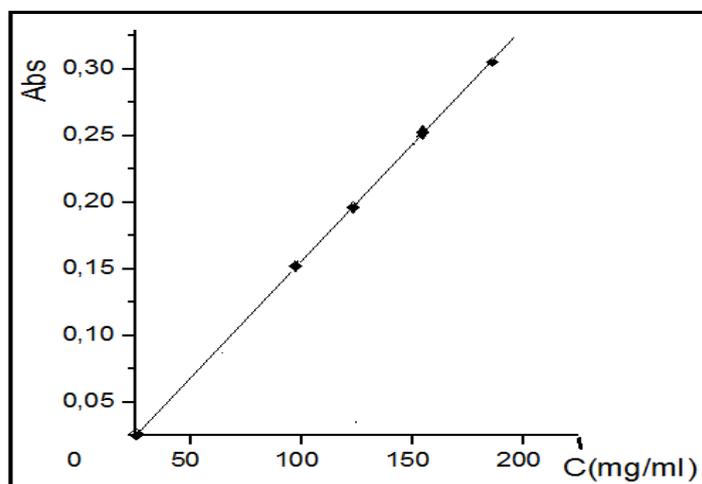


Figure 36 : Courbe étalonnage de la catéchine.

II.3.1.1. Avec différentes méthodes et différents solvants purs

A partir de la plante sélectionnée, nous avons procédé à l'extraction par différentes méthodes et des solvants de polarité voisine. Les rendements bruts, polyphénols totaux et flavonoïdes totaux sont regroupés dans le tableau 14 et montrés sur les figures 37-39.

Tableau 14 : Résultats des rendements et de la masse des extraits bruts dans différents solvants et par différentes méthodes.

Extrait	Solvant d'extraction	La masse (g)	Rendement brut (%)	Polyphénols totaux (mg Eq AG /g MS)	Flavonoïdes totaux (mg Eq Cat /g MS)
Macération	Méthanol	12,13	12,13%	28,63	0,34
	Ethanol	9,47	9,47%	20,68	0,15
	Acétone	3,00	3%	4,98	0,06
	Acétate d'éthyle	6,26	6,26%	15,92	0,10
	H ₂ O	16,00	16%	30,09	0,94
A chaud	Méthanol	6,89	6,89%	23,8	0,23
	Ethanol	1,43	1,43%	16,58	0,10
	Acétone	0,66	0,66%	4,42	0,047
	Acétate d'éthyle	1,32	1,32%	13,92	0,07
	H ₂ O	13,00	13%	22,78	0,26
U-son	Méthanol	3,00	3%	18,92	0,21
	Ethanol	2,00	2%	15,12	0,084
	Acétone	1,00	1%	3,624	0,039
	Acétate d'éthyle	2,00	2%	12,76	0,065
	H ₂ O	13,90	13,9%	19,80	0,23
Soxhlet	Méthanol	8,52	8,52%	20,12	0,20
Infusion	H ₂ O	14	14%	17,46	0,52
Décoction	H ₂ O	13	13%	21,11	0,42

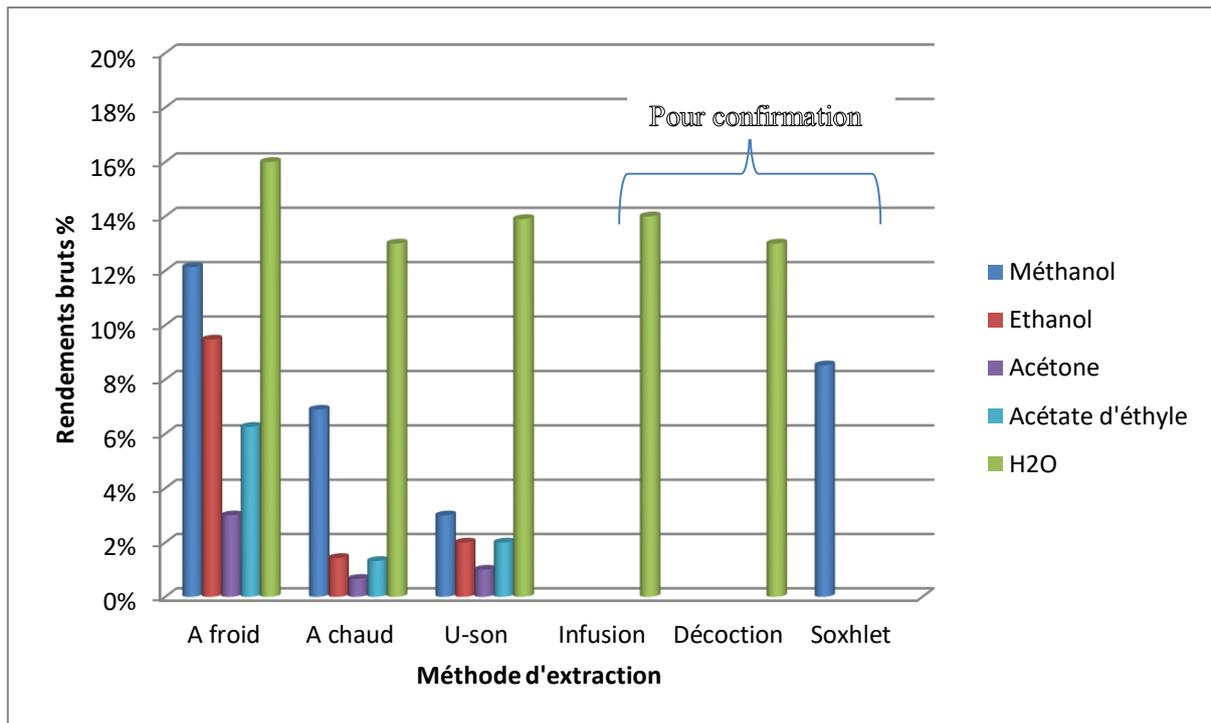


Figure 37 : Effet du solvant avec différentes méthodes d'extractions sur le rendement brut de la plante.

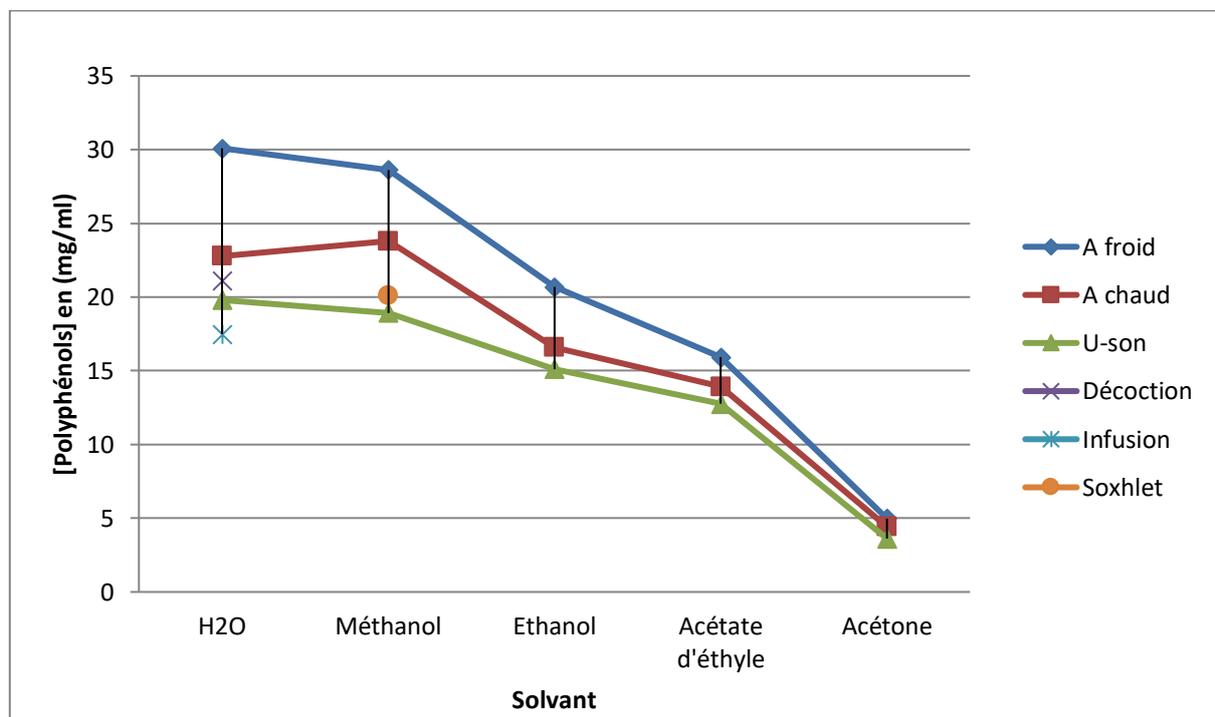


Figure 38 : Effet du solvant avec différentes méthodes d'extractions sur la concentration des polyphénols de la plante.

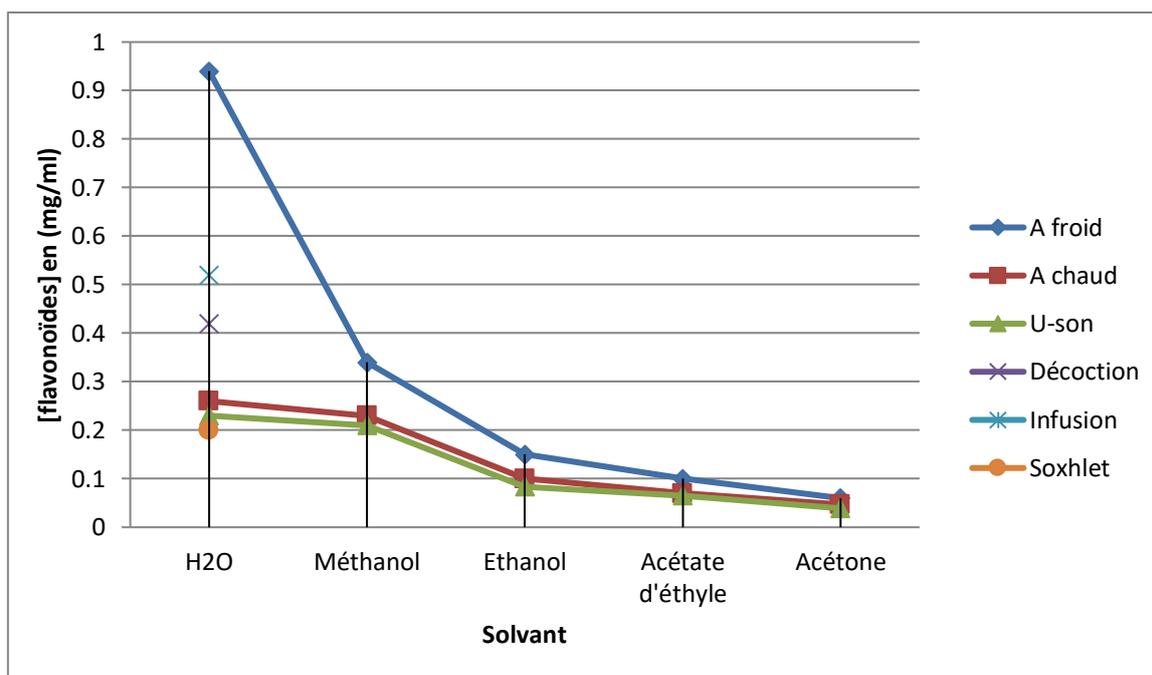


Figure 39 : Effet du solvant avec différentes méthodes d’extractions sur la concentration des flavonoïdes de la plante.

Dans cette étude, nous avons utilisé six méthodes d’extractions : la macération (à froid, 72h), l’ultra-son (à froid, 15 min), l’extraction à chaud (10 min), le soxhlet (48h), l’infusion (15 min), et la décoction (30 min), et nous avons utilisé cinq solvants de forte polarité.

L’étude comparative des ces six méthodes d’extractions a porté sur le rendement d’extraction brut, le dosage quantitatif des polyphénols totaux des flavonoïdes totaux.

Selon le tableau 13 et les figures 37-39, nous avons remarqué que les rendements bruts, les concentrations des polyphénols et des flavonoïdes respectivement, de toutes les méthodes d'extractions des principes actifs sont différents d'un solvant à l'autre. Le rendement le plus élevé a été obtenu pour l'extraction avec l'eau puis le méthanol, ensuite l'éthanol suivi de l'acétate d'éthyle et enfin l'acétone.

Le rendement d'extraction par macération (à froid) est le plus élevé par rapport aux autres méthodes (à chaud et ultra-son). Les méthodes par infusion, par décoction et par soxhlet sont toutes des méthodes à chaud qui ont été choisi pour confirmer que la méthode à froid donne les meilleurs résultats. L’extraction à chaud peut provoquer une dégradation des métabolites secondaires, c’est pour cela que la macération à froid sera utilisée pour le reste de notre étude.

Comme l'eau et le méthanol ont donnés les meilleurs rendements, nous avons voulu tester différents mélanges hydro-alcooliques. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 15 et montrés sur la figure 40.

II.3.1.2. Avec différents pourcentages de mélanges hydro-alcooliques

La majorité des travaux d'extraction des métabolites secondaires contenus dans les plantes mentionne que le mélange hydro-alcoolique 30/70 donne les meilleurs résultats.

Dans notre étude nous avons testé tous les mélanges pour confirmer ce résultat. Les valeurs sont regroupées dans le tableau 15 et montrées sur les figures 40-42.

Tableau 15 : Résultats des rendements des extraits bruts, concentrations des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans différents mélanges MeOH/H₂O.

Méthode	Pourcentage MeOH/H ₂ O	Rendement brut %	Polyphénols totaux (mg Eq AG /g MS)	Flavonoïdes totaux (mg Eq AG /g MS)
Macération (à froid)	100/00	12,13%	28,63	0,34
	90/10	8,50%	30,09	0,25
	80/20	9,90%	23,55	0,36
	70/30	11,90%	22,97	0,31
	60/40	12,76%	24,319	0,32
	50/50	13,40%	29,41	0,38
	40/60	8,66%	25,26	0,14
	30/70	11,75%	27,75	0,19
	20/80	8,60%	25,09	0,15
	10/90	9,83%	23,39	0,30
00/100	8,50%	30,09	0,94	
A chaud	100/00	6,89%	23,80	0,18
	90/10	3,20%	20,01	0,16
	80/20	9,10%	21,22	0,15
	70/30	9,10%	12,93	0,16
	60/40	6,70%	23,99	0,19
	50/50	9,60%	24,64	0,26
	40/60	12,00%	22,91	0,08

PARTIE EXPERIMENTALE

	30/70	6,69%	23,97	0,13
	20/80	3,27%	20,45	0,08
	10/90	2,73%	17,13	0,23
	00/100	9,65%	24,78	0,36
Ultra-son	100/00	3,00%	18,92	0,21
	90/10	3,50%	10,50	0,04
	80/20	2,00%	20,23	0,11
	70/30	8,90%	10,07	0,08
	60/40	8,20%	21,67	0,17
	50/50	12,00%	22,11	0,18
	40/60	10,00%	19,43	0,03
	30/70	8,28%	21,89	0,17
	20/80	9,16%	17,80	0,02
	10/90	7,49%	14,56	0,01
	00/100	10,19%	19,80	0,23

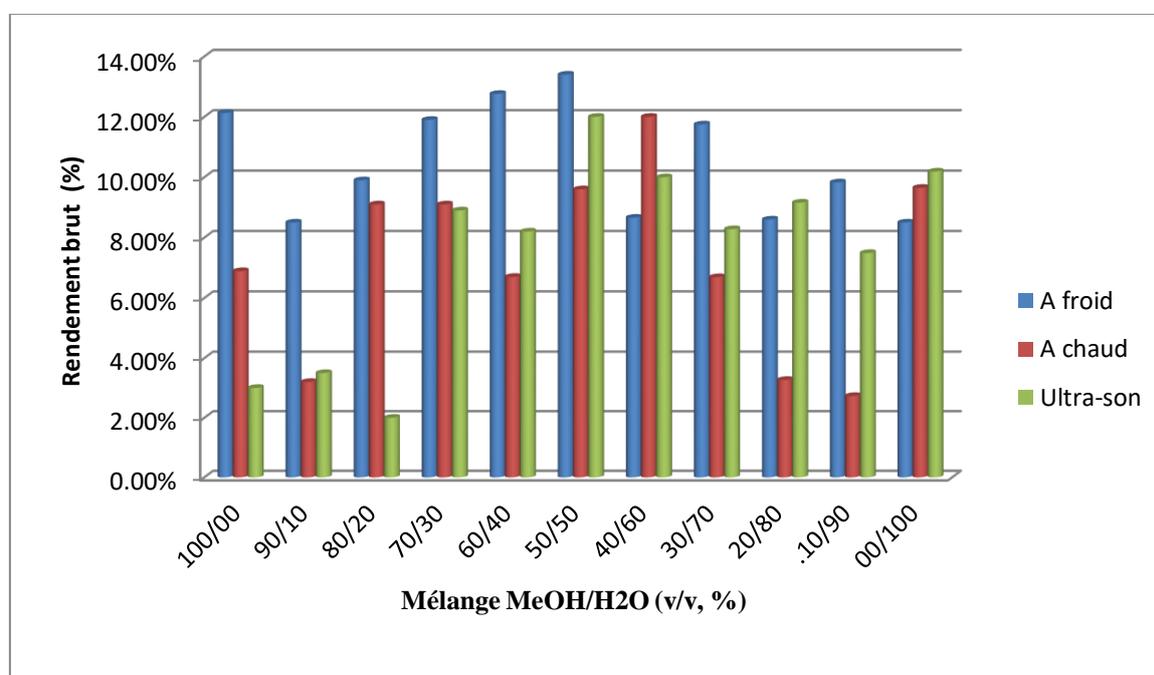


Figure 40 : Effet de variation de la composition du mélange hydro-alcoolique sur le rendement brut de la plante.

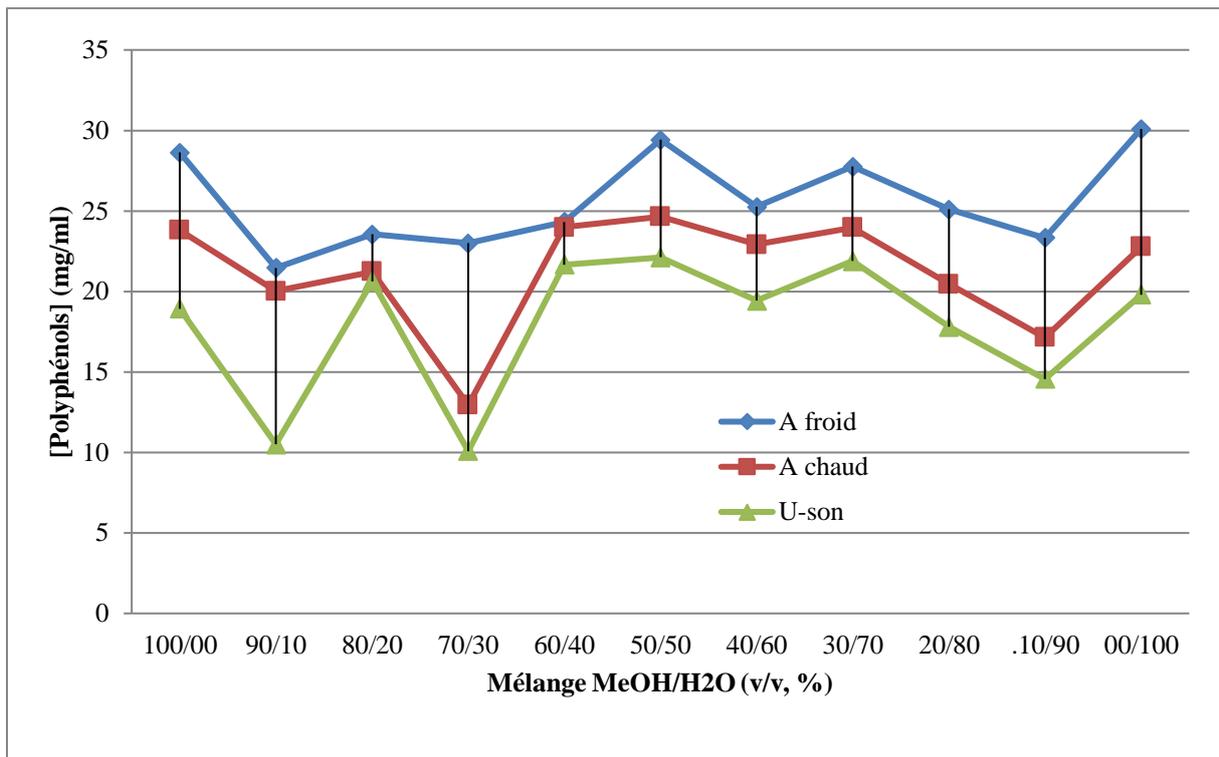


Figure 41 : Effet de variation de la composition du mélange hydro-alcoolique sur la concentration des polyphénols de la plante.

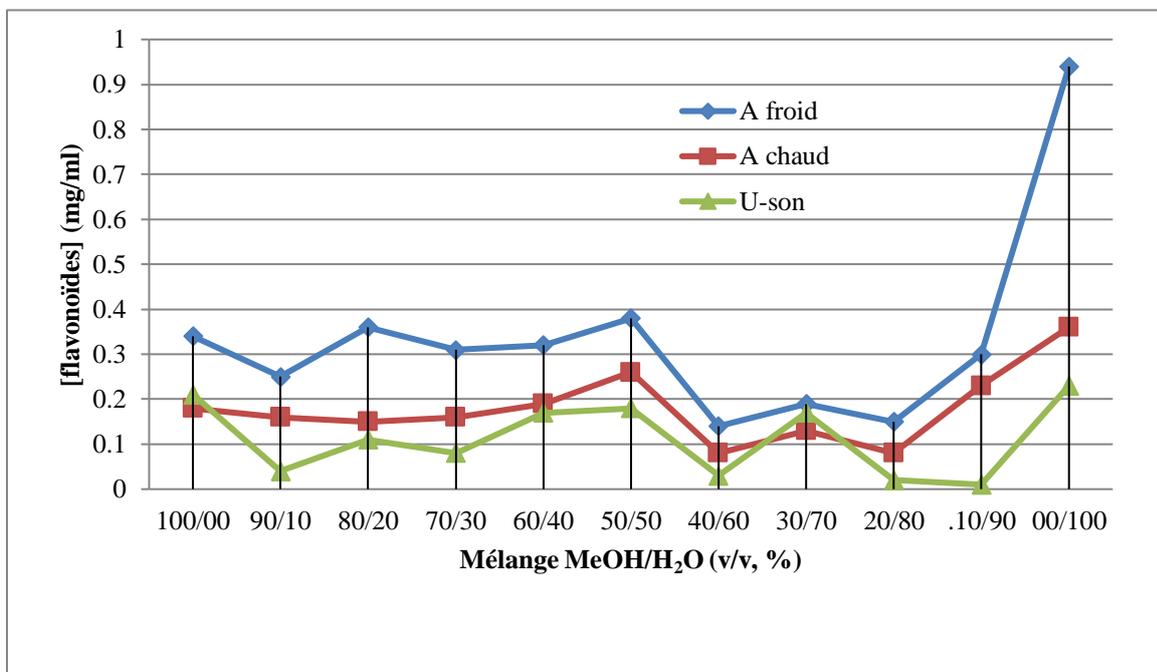


Figure 42 : Effet de variation de la composition du mélange hydro-alcoolique sur la concentration des flavonoïdes de la plante.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que, dans notre cas, le meilleur mélange hydro-alcoolique a été 50% de méthanol et 50% d'eau pour la majorité des méthodes. Ceci implique que chaque plante a sa spécificité par rapport aux solvants d'extractions.

II.2.3.Extraction liquide/liquide

Après avoir choisi la meilleure méthode d'extraction qui est la macération et le meilleur mélange de solvant hydro-alcoolique (50% de méthanol et 50% d'eau), nous allons maintenant procéder à l'extraction liquide/liquide par des solvants successifs de polarité croissante pour séparer les différentes fractions des métabolites secondaires de notre plante pour étudier leur effet antioxydant par voltamétrie cyclique. Les résultats sont regroupés dans le tableau 16 et représentés sur la figure 43.

Tableau 16 : Rendements des extractions par les solvants successifs de polarité croissante.

Extrait	Masse moyenne (g)	Rendement (%)
Brut	27,96	27,96
Ether de pétrole	6,96	6,96
Dichlorométhane (DCM)	0,22	0,22
Acétate d'éthyle (Act)	0,18	0,18
n-butanol (BuOH)	1,20	1,20
Extrait aqueux (Aq)	19,40	19,40

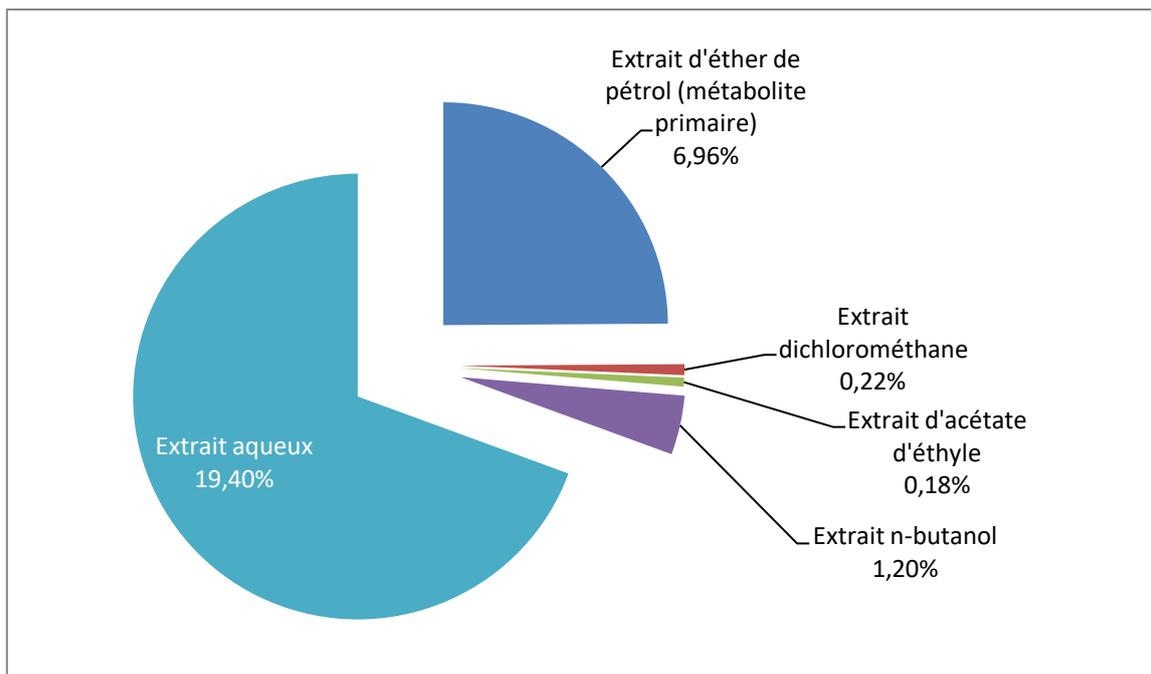


Figure 43 : Rendements des extractions par les solvants successifs de polarité croissante.

D'après ces résultats, le meilleur rendement des métabolites secondaires a été obtenu pour l'extrait aqueux, suivi par l'extrait n-butanol, ensuite l'extrait dichlorométhane et la plus petite quantité a été obtenue pour l'extrait acétate d'éthyle.

II.4. Evaluation de l'activité antioxydante par voltammétrie cyclique (piégeage de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$)

L'activité antioxydante des extraits naturels est liée au comportement redox des substituants attachés aux polyphénols (-OH, -OMe, etc.), ce qui est traduit par des pics d'oxydation (intensités (I_{pa}) et potentiels d'oxydation (E_{pa})) et des pics de réduction si le système est réversible.

L'acide gallique est utilisé comme standard dans notre étude, pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits, à cause de ses propriétés antioxydantes intéressantes.

II.4.1. Comportement de l'oxygène

Les mesures sont effectuées dans une cellule électrochimique de 25 ml et un système à trois électrodes. L'anion radical superoxyde est généré par l'oxygène moléculaire commercial. La vitesse de balayage est de 100mV/s. La gamme de potentiel appliquée a été réalisée de - 1.6V à 0.0V par rapport à l'ECS à la température ambiante.

Dans notre étude, un premier essai a été effectué dans l'eau en présence de 0.1M de NaCl comme électrolyte support. Le voltammogramme de l'oxygène enregistré (figure 44) ne montre pas de vague retour car une fois l'ion radical oxygène formé, il réagit avec l'eau pour se transformer immédiatement en eau oxygénée.

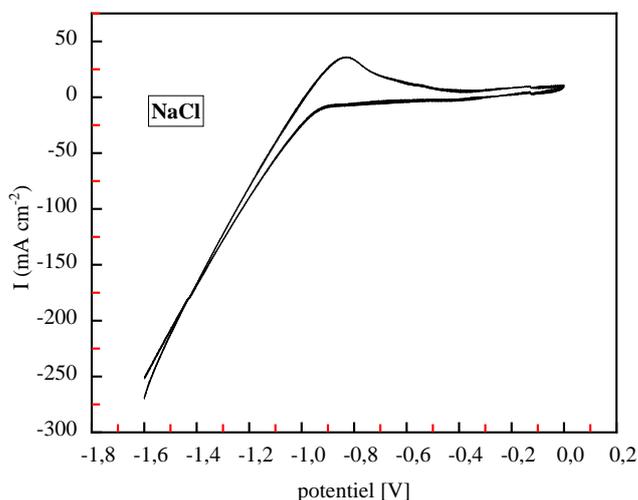


Figure 44 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans l'eau et NaCl.

Il faudrait donc éviter l'eau pour ne pas avoir des sous-produits et une perte de réversibilité. Nous avons donc travaillé avec le DMF contenant 0.1M de NaBu₄PF₆ comme électrolyte support. La figure 45 montre le voltammogramme de l'oxygène enregistré dans ces nouvelles conditions.

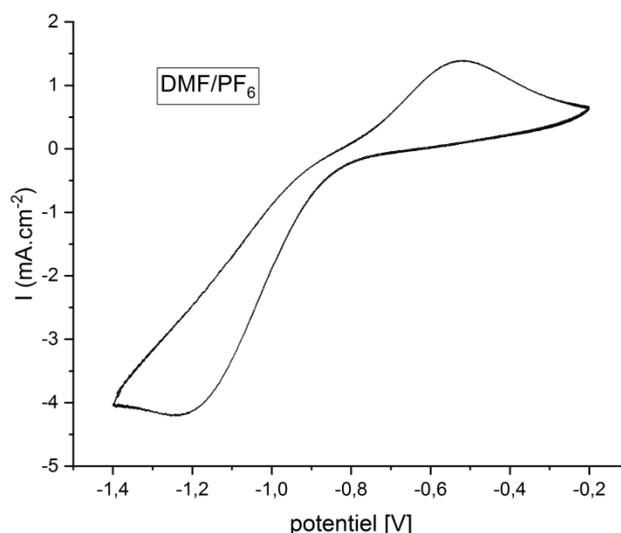


Figure 45 : Voltammogramme cyclique de l'oxygène dans le DMF et PF₆⁻.

D'après cette figure, nous pouvons voir clairement la vague retour de l'oxygène. **L'intensité du courant du pic anodique vaux 1,394 mA/cm².**

II.4.2. Comportement de l'acide gallique :

L'étude électrochimique du comportement de l'acide gallique est effectuée à une concentration de 0.1 mM, un potentiel variant de - 1.6V à 0.0V et une vitesse de balayage de 100 mV/s. On obtient les voltammogrammes cycliques suivants (figure 46) :

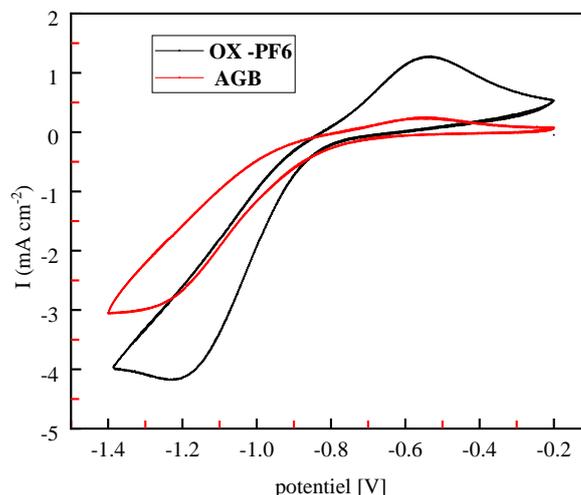


Figure 46 : Voltammogrammes de l'acide gallique barboté (AGB) et l'oxygène.

L'intensité du courant du pic anodique de l'acide gallique avec le barbotage à l'oxygène vaux 0,2751 mA/cm².

II.4.3. Comportement des extraits de *Atriplex halimus L.*

Dans les mêmes conditions précédentes, on traite les extraits de *Atriplex halimus L.* en ajoutant une quantité bien déterminée de l'extrait dans la cellule électrochimique (Boubakri, 2014). Dans notre cas nous avons utilisé 0,0178 mg d'extrait dans 20 ml de solvant. On obtient les voltammogrammes cycliques suivants (figures 47) correspondant aux extraits bruts, dichlorométhane (DCM), acétate d'éthyle (Act), n-butanol (BuOH) et aqueux (Aq) de la plante de Tébessa (T) respectivement avec et sans barbotage à l'oxygène.

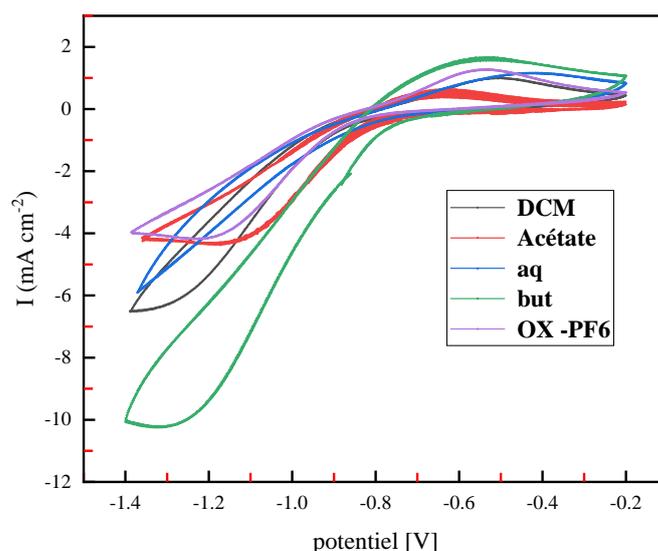


Figure 47 : Voltammogrammes de tous les extraits de la plante de Tébessa avec barbotage comparés à l'oxygène.

La capacité du produit testé à piéger les radicaux superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) est calculée en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Capacité inhibitrice de l'ion superoxyde (\%)} = 100 * (I_{p0} - I_{ps}) / I_{p0}$$

Où : **I_{p0}** : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène seul

I_{ps} : intensité du courant du pic anodique de l'oxygène plus l'extrait

En se basant sur cette équation, on peut calculer les pourcentages d'inhibition de l'anion superoxyde par l'antioxydant standard qui est l'acide gallique ainsi que par les extraits étudiés. Les résultats sont regroupés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Pourcentages d'inhibition de l'ion superoxyde par l'acide gallique et les différents extraits de *Atriplex Halimus L.* de Tébessa.

Entité ou extrait	Intensité du courant du pic anodique (mA/cm ²)	Potentiel (V)	Pourcentages d'inhibition de l'ion superoxyde (%)
Oxygène	1,3940	-0,5225	-
AG	0,2751	-0,5188	80,20
Brut	0,4403	-0,4254	68,40
DCM	1,1640	-0,4854	16,40
Act	0,2798	-0,5149	79,92
BuOH	1,9235	-0,5410	-
Aq	1,1280	-0,4380	19,08

D'après ce tableau, nous pouvons dire que l'acide gallique donne la meilleure inhibition des radicaux superoxydes avec un pourcentage de 80%.

Parmi les extraits de *Atriplex Halimus L.* de Tébessa, nous avons noté que l'extrait Act a donné une inhibition similaire à l'acide gallique avec un pourcentage de 80% ce qui implique que l'extrait Act contient des molécules contenant des OH qui interviennent dans ce processus. Les autres extraits DCM et Aq n'ont pas donné une valeur significative.

L'extrait BuOH a donné une valeur de courant supérieure à celle de l'oxygène, ce qui implique que cette fraction contient probablement plusieurs molécules oxydables qui ont générées une grande quantité de radicaux libres qui a dépassé celle de l'oxygène. L'information sur l'inhibition des radicaux superoxydes n'est pas disponible.

L'extrait brut a montré une bonne inhibition, mais pas aussi importante que l'extrait Act avec un pourcentage de 68%. Ceci est dû à la quantité de radicaux générée par la fraction BuOH.

Une analyse HPLC confirmera cette hypothèse.

Conclusion générale

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique, au dosage des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante des extraits de la plante d'*Atriplex halimus L.*, choisie sur la base de son usage traditionnel dans la région de Tébessa.

Une analyse physicochimique de quelques paramètres a donné une teneur en eau de 74,17% de la plante, 25,83% de matière sèche, 85,70% de matière organique et 14,29% de matière minérale.

Les tests phytochimiques qualitatifs ont été effectués pour identifier les métabolites contenus dans cette plante. Les composés chimiques mis en évidence sont les polyphénols, les glycosides cardiaques, les composés réducteurs, les saponosides, les mucilages, les tanins catéchiques, les alcaloïdes, les antracénosides, les flavonoïdes (flavonones), les stérols, les stéroïdes, les quinones combinées, les coumarines, les lipoides, les acides gras et les huiles volatiles (une très faible odeur).

Les composés phénoliques ont suivi une extraction solide-liquide en utilisant des solvants purs de forte polarité (eau, méthanol, éthanol, acétate d'éthyle et acétone). Les différents extraits obtenus ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour leur contenu en flavonoïdes et en polyphénols.

Les mesures ont été menées par différentes méthodes, à savoir la méthode à chaud et à froid, l'ultrason, le soxhlet, l'infusion et la décoction. Quel que soit le solvant utilisé, la méthode à froid a donné les meilleurs résultats offrant une grande protection des molécules thermosensibles. Par ailleurs, nous avons démontré que l'eau et le méthanol étaient les meilleurs solvants extracteurs, c'est pour cela qu'une étude de l'extraction avec un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau) à différentes compositions a été réalisée, pour des raisons de biodégradabilité et nous avons obtenu le meilleur rendement avec le mélange 50%/50%.

Des extractions successives avec des solvants de polarité croissante ont été menées, et le meilleur rendement a été obtenu pour l'extrait aqueux, suivi par l'extrait du butanol, puis le dichlorométhane et le rendement le plus faible a été observé dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

Conclusion générale

Un test antioxydant de ces extraits, pour le piégeage des radicaux superoxydes générés par l'oxygène, a été effectué par voltamétrie cyclique, et on a constaté que les différents extraits ont présenté des activités antiradicalaires intéressantes. Il a été constaté que l'efficacité des molécules antioxydantes dans l'extrait AcEt (80%), similaire à celui de l'acide gallique, dépasse de loin celle des extraits Brut (68%), DCM (16%) et Aq (19%). L'extrait But a montré une densité de courant supérieur à celle de l'oxygène, ceci est dû probablement à la quantité élevée de radicaux générée par cette fraction. Une analyse HPLC confirmera cette hypothèse.

Références

A

- Aharonson Z., Shani J., Sulman F.G. (1969). "Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Atriplex halimus*) - a feeding source of the sand rat (*Psammomys obesus*)", *Diabetologia*, 5, p 379-383.
- Awor et Samseny R-R. (2003). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le *Strychnos Icaja* Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse, Université de Bamako, Faculté de Médecine; Odontostomatologie, Mali. Available on :
- Atik Bekkara.F; Bousmaha.L; Taleb Bendiab.S.A; Boti.J.B. et Casanova.J, 2007. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 7 : 6-11.
- Abd El-Rahman, 2006 Abd El-Rahman H.H., Mohamed M.I., Gehad A.E.A., Awadallah I.M. 2006. Ameliorating the Anti-nutritional factors effect in *Atriplex halimus* on sheep and goats by ensiling or polyethylene glycol supplementation. *Int. J. AgrBiol* 8 (6): 766–776.
- Al-Turkis T.A; Omer. S; Ghafoor. A, 2000. A synopsis of the genus *Atriplex halimus*.L ,(Chenopodiaceae) in *Feedes Repert*, 111,261-293.

B

- Benhammou, 2009), Benhammou N., Atik Bekkara F., Kadifkova Panovska T. 2009. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *C. R. Chimie* 12:1259–1266.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C.,
- Bouchoucha, N2018). Bouchoucha M., Quezeta R.2018. Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de l'activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de l'extrait méthanolique d'*Atriplex halimus*.L. université des Frères Mentouri, Constantine-1-,92p.
- Bouthaina Ben Amor, 2009. Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs :texturation par détente instantanée contrôlée (DIC).

- Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E. H. (2014). Valorisation du Lentisque « *Pistacia lentiscus L.* » : Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences* 86, p 7966-7975. ISSN1997-5902, Meknès.
- Barrow J.R et Osunda. (2002). Phosphorus solubilization and uptake by dark septate fungi in fourwing saltbush. *Atriplex canescens* (pursh) Nutt. *Journal of Arid Environments*, 51, p 449-459.
- Bartosz G.; (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems; *comments on toxicology* 9; p 5-21.
- Beddiar H. (2016). Etude de *Jénipérus phoenicea L.* de la région de tébessa : composition chimique, activité antioxydante et activité microbiologique.
- Bellakhdar J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, p 247.
- Ben Ahmed H., Zid E., EL Gazzah C., Grignon C., (1996). Croissance et accumulation ionique chez *Atriplex halimus L.* *Cahiers d'Agricultures*, Vol. 5 p 367-372.
- Benabdesselam S. (2017). Synthèse, Activité antioxydante et antibactérienne de quelques dérivés ferrocéniques obtenus par l'arylation du ferrocène.
- Benkhaled, A. (2018). Activités anti-inflammatoire, anti-oxydante et antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Limoniastrum guyonianum*. Thèse pour obtention du diplôme de doctorat en Sciences. Sétif, Université Farhat Abbas Sétif, 1, p 124.
- Benrbiha .F.Z. (1987). Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger, p 5- 20.
- Benrbiha F.Z. (1987). Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites. Mémoire de magister en sciences agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger, p 5- 20.
- Bentabet Lasgaa N. (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredolia aretioides* et *echium vulgare* de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, p 20-21. Available on : www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637.pdf
- Berri R. (2009). mémoire de fin d'étude, en vue de l'obtention du diplôme ingénieur d'état, spécialité: agronomie saharienne, p15-1.

- Bézanger-Beau Quesne L-Pinkas M.(1986). Les plantes dans la thérapeutique moderne 2ème édition MALOINE-Paris, 68, p 262-268.
- Bhat Sujata V., Bhimsen A., (2013). Chemistry of natural products. Editions Narosa Publishing House. New Delhi, p 871.
- Bilgarmi K.S., Sinha K.K., et Sinha,A.K. (1992). Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol, union, and garlic extracts. India. J. Med. Res., 96, p 171-175.
- Biljana Petrovsk national (2012), Historical review of medicinal plants usage.. Institutes of Health. Doi : 10.4103/0973-7847.95849.
- Bonnefont-rousselot D.et *al* ; (2003). Radicaux libres et antioxydants ;ed : médecine-sciences. Flammarion (paris) ; p: 59-81.
- Boubakri, C. (2014). "Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques". Thèse en vue de 'obtention Du diplôme de Doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider – Biskra, p176.
- Bouhamed R., Zidane O. (2019). Contribution à l'étude phytochimique de l'extrait brut de *Lepidium sativum* (hab erchad) et leur effet sur certains maladies
- Bourgou et al., (2016). Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 28(12), p 1650.
- Bouzid W. (2011). M.Abdeddham, M.C.Aberkane et Ayachi Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobiene des extraits de l'aubepine monogyne.
- Bruneton J. (1993 ; 1999). Pharmacognosie, Phytochimie & Plantes médicinales. 2^e ; 3^eéd. Editions techniques et documentation & éditions médicales internationales, Lavoisier, Paris, France.
- Brunrton J., (1987). Elément de phytochimie et de pharmacology; Ed: LAVOISIER ; p 156 - 160.

C

- Cadenas e. Et packer l.; (2002). Handbook of antioxidants; ed 2: marcel dekker(new york); p: 165-187.
- Caroline G. et Michel P. (2013). Guide de poche de phytothérapie acné, migraine, ballonnements... Soignez-vous avec les plantes. Edition Quotidien malin, p 13-21.

- Castroviejo M., Inbar M., Gomez-Villar A., Garcia-Ruiz J M., (1990). Cambios en el cauce aguas abajo de una presa de retention de sedimentos », I Reunion Nacional de Geomorfologia, Teruel, p 457-468.
- Chehma A. (2006) Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien. Ed.
- Chenni M., (2010). Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plantemédicinale : *Bryonia dioica* Jacq de magister, p 42-46.
- Cherif Y. (1981). La santé au naturel, Edit NEA, Alger, p 174.
- Choukr-Allah R.(1996). The potential of halophytes in the development and rehabilitation of arid and semi-arid zones .CIHEAM Instituto Agronomico mediterraneo, BARI, Italy, p1-13.
- Clémentine B., Mathieu S., Elena V., (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L) Revue de génie industriel, 7, p 35-45.
- Cooper R.; (1997). Age-reversing free radical fighters: antioxidants; ed: woodland;p 4-11.

D

- Daayaf F., Lattanzio V. (2008). Vol.1.Oxford, UK :Wiley-Blackwell, p 36-66.
- Dean J.R. (1996). *Chromatography A*, 754, p 221-233.
- Desceemaeker K. ; (2004). Nutri- & phytothérapie: Développements récents ; ed: garant ; p: 41-51.
- Devoyer J. (2012). Stéphane Korsia-Meffre, rédacteur et coordinateur du Guide des plantes qui soignent (éd. Vidal).
- Di Carlo G., Mascolon N., Izzo A.A. et Capasso F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs; *Review Life Science*, 65, p 337-353.
- Duperat M. (1997). *Le guide des arbres et arbustes de France*. Ed, sélection du Reader's Diges, p 255.
- Dutertre J.M., (2011). Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, p 33.

- Dutuit P., Pourrat Y., Dodeman V. (1991). Stratégie d'implantation d'un système d'espèces adaptées aux conditions d'aridité du pourtour méditerranéen. John Libbey Eurotext Press. Paris, France.

E

- Elqaj M, Ahami A. et Belghiti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance de parasites intestinaux aux antiparasitaires, journée scientifique 'ressources naturelles et antibiotique', Maroc.

- Fadili al. (2017). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa* L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. ISSN 2429-5396I www.american-jiras.com, p 111.

F

- Francis, CRC press ; p 22- 25.

- Franclet A. et Le Houérou H.N. (1971). Les Atriplex en Afrique du nord. Edition FAO. Rome, p 271.

- Fromont D. (1972). Etablissement des cultures fourragères d'Atriplex en Tunisie central. Bull recherche Agro.C.E.M.L.Vol extra, p 590-600.

G

- Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique ; Phytothérapie, 4, p 162-169 DOI 10.1007/s10298-005-0096-8.

- Ghestem A., Seguin E., Paris M., (2001). Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homeopathie. Tec et Doc (Ed), p 272.

- Ghesttim A., Seguin E., Paris M., Orechionne AM. (2001). Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-homeopathie. Tec et Doc (Ed), p 272.

- Gorham J., 1977. Lunularic acid and related compounds in liverwortsalgae and

- Graham L.P., Depovere P. (2002). Chimie pharmaceutique.ed. De Boeck, p 154.

- Guide des plantes qui soignent, Vidal, (2010).

H

- H.C.D.S. (1996). Notice bibliographique sur quelques plantes fourragères et pastorales Haut-commissariat du développement de la steppe, p 15.

- Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. Annales des sciences et technologie. Vol 6. p 1.
- Herodez S., Hadolinb M., Skergeta M. et Zeljko K. (2003). Solvent extraction study of antioxydants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, Food Chemistry, 80, p 275– 282.
- Herodez S., Hadolinb M. (2003). Skergeta and Zeljko Knez, Solvent extraction study of antioxydants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, Food Chemistry, 80, p 275– 282.
- Hireche M. (2013). Dosage des polyphénols de la tomate «agora» et étude de leur ouvoir antioxydant .Mémoire de master. Université Hassiba Ben Bouali de Chleff.
- Hireche M. (2013). Dosage des polyphénols de la tomate «agora» et étude de leur pouvoir antioxydant .Mémoire de master. Université Hassiba Ben Bouali de Chleff.
- Houérou H.N., (1992).The rôle of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land réhabilitation in the: Osmond C.B., Bjorkman O., et Anderson D.J., 1980 - physiological process in plant ecology. Toward a semi arid lands. Ed. Academic press. INC, New York (U.S.A), p 601-642.
- Hanini K., (2020), Inhibition de la corrosion d'un acier au carbone par les plantes *Taxus baccata* et *Cedrus atlantica* et leurs utilisations comme additifs dans les bains d'électrodeposition, thèse de doctorat, Université de Tébessa.
- Huang.D Ou B and Prior.R.L, 2005. The chemistry behind antioxydant capacity assays; Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 1841-1856 .

J

- Jadot G. ; 1994 ; antioxydants et vieillissement ; ed: john libbey eurotext paris ; p 33-36.

K

- Khenaka K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin. Mémoire de magister .Université Mentouri de Constantine.
- Killian C. (1953). La végétation autour de chott Hodna indicatrice des possibilités culturelles et son milieu édaphique. A.n.Inst. Agro. T. VII, p 51-80.
- Kinet J.M., Benrbiha E., Bouzid S., Laihacar S., Dutuit P. (1998). Le réseau Atriplex ou comment allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions semiarides et arides. Cahiers d'Ariculture. 7 (6), p 505-509.
- Kinet, J.-M., Benrebiha, F., Bouzid, S., Laihacar, S. et Dutuit, P., (1998). Le réseau Atriplex:Allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semiarides. Cahier d'agriculture. Vol. 7, p 505-509.

- Kintzios, S.E. (2000). Sage the genus *Salvia*, Taylor et Francis e-Library, p 9.
- Kohen r. Et nyska a.; (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants redox reactions and methods for their quantification; toxicologic pathology 30; p: 620-650.
- Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Vladimir-Knez E. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.* ; 54, p
- Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal.

L

- Lamnaouar D. (2008). Plantes médicinales du Maroc: usages et Toxicité. p 1-7. www.uae.ma.
- Le Houérou H.N. (1980). Background and justification in H.N. Le Houérou (ed). *Browse in Africa .The current state of knowledge .International livestock .center for Africa , Addis Abeba (Ethiopia)*, p 491 .
- Lehucher-michel m.p. Et al ; (2001). Stress oxydant et pathologies humaines ; la presse médicale 30 ; p: 1076-1081.
- Les plantes médicinales (2016). IESV Institut européen des substances végétales Association loi 1901. Document réservé à l'usage des professionnels de la santé, p 3.

M

- Maalem S. (2002). Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre *Atriplex* (*A. canescens*, *A. halimus* et *A. nummularia*) soumises à l'enrichissement phosphaté. Thèse de magistère en physiologie végétale et applications biotechnologiques. Université Baji Mokhtar, Annaba, Algérie, 76p.
- Makkar H.P.S., Siddhuraju P. et Becker K. (2007). *Plant Secondary Metabolites, Methods in Molecular Biology* 393; Ed: Humana Press, 67, p 111.
- Marin F., Frutos M., Perez-Alvarez J., (2002). Flavonoids as nutraceuticals : Structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation *Studies in Natural products Chemistry . Elsevier Science BV*, 26, p 741-78.

- Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi C., Fernandez X.(2010).Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Isolated from Algerian Juniperus phoenicea L. and Cupressus sempervirens. Medicinal Plants Research, 4(10), p 959-964.
- Melecchi M., Martinez M., Abad F., Zini P., Nascimento F., Caramão E. (2002). Chemical composition of Hibiscus tiliaceus L. flowers: A study of extraction methods. Journal of Separation Science 25 (1-2), p 86-90
- Milbury p. E. Et Richer a. C.; (2008). Understanding the antioxidant controversy; ed: praeger; p: 81-100.
- Morreel K, Goeminne G., Storme V., Sterck L., Ralph J., Coppieters W., Breyne P.,Steenackers M., Georges M., Messens E., Boerjan W., (2006). Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in Populus: a case study. Plant J., 47 p 224-37.
- Marc.Fr; Davin.A; Deglene-Benbrahim L and Ferrand.C, 2004. Methodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments; Erudit, M/S : médecine sciences 20(4), 458-463.

N

- Negre R., (1961). Petite flore des régions arides du Maroc occidental. Tome 1.Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, p 179- 180.
- Nedjimi.B; Bguit.M.Toumi; B,Beladel; A,Akem; Y.Daoud, 2013. *Atriplex halimus* subsp,schweinfurthii(*Chenopodiaceae*):description,écologie et utilisations pastorales et thérapeutiques ,Fourrages 216,333-338.

O

- Ono E., Hatayama M., Isono Y., Sato T., Watanabe R., Yonekura-Sakakibara K., FukuchiMizutani M., Tanaka Y., Kusumi T., Nishino T., Nakayama T., (2006). Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles. Plant J.
- Ozenda P. (1991). Flore et végétation du sahara.2ème édition. CNRS. Paris, p 344.

P

- Passwater R.A.; (1997). The antioxidants; ed: Keats good health guide; p 7-11.
- Pelt J.M. (2001). Les nouveaux actifs naturels. Marabout. Paris, p 219-124.
- Pierre M., Lis M. (2007). Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris, p 463.
- Piquet m. A. Et hébuterne x. ; (2007). Nutrition en pathologie digestive ; ed : doin ;p: 16-20.

Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim. Forsch*, 46 : 1086-1089.

Q

- Quezel et Santa (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 1 et 2., CNRS, 1962-1963, p 1170 -3989.

R

- Rajeshwar, Y., litha, N. (2013). Preliminary phytochemical screening and in vitro anthelmintic effects of acmella paniculata plant extracts. *Biolife*, 1 (3), p 106-112.

- Ribéreau-Gayon J. et Peynaud E. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Traité d'œnologie, Paris, Édition Dunod, p 254.

- Robert M. F. et Wink M., (1998). ALKALOIDS: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications; Ed: PLENUM, p 1- 6.

- Rosas M.R. (1989). El genero *Atriplex* (Chenopodiaceae) en Chile .*Gayana Bot*, 46(1-2), p 3-82.

S

- Sean H., et Timothy R. (2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Réseau canadien d'info traitements sida (CATIE). Edition révisée. Canada. Paul R., Saunders, PhD, p 43.

- Shahidi f.; (1997). Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications; ed: aocs mission statement; p: 174-197.

- Small, E., Catling, P.M. (2000). Les cultures médicinales canadiennes. Canada Ottawa (Ontario), NRC Research.

- Smirnoff n.; (2005). Antioxidants and reactive oxygen species in plants; ed 1:blackwell; p: 141-210.

- Smythies j.r.; (1998). Every person's guide to antioxidants; ed: british cataloging;p:

- Souayah, N., Khouja, M.L., Rejeb, M.N. et Bouzid, S., (1998). Micropropagation d'un arbuste sylvo-pastoral, *Atriplex halimus L.* (Chénopodiacées), p 131-135.

-Sanchez-Moreno.C, 2002. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *Food Science and Technology International* 8 (3),121-137.

T

- Tringali C. (2001). Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation Characterisation and Biological Properties; Ed1: TAYLOR & FRANCIS; 1, 24, p 339- 367.
- Trivalle c. ; (2002). Gériologie préventive: élément de prévention du vieillissement pathologique ; ed : masson (paris) ; p: 104-106.

V

- Van Acker S., Van Den Berg D., Tromp M., Griffion D., Van Bennekom W., Van Der Vijgh W., et Bast A. (1996). Structural Aspect of Antioxidant Activity of Flavonoids; Free. Rad. Biol. Med., 20 ; p 331-342.
- Verpoorte R. (2002). La pharmacognosie du nouveau millénaire : pistes et biotechnologie. Des sources du savoir aux médicament du futur, 4^o congrès européen d'ethnopharmacologie. IRD Ed : Paris, p 274.

W

- Wang L., Weller CL. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology 17 (6), p 300-312.
- Wichtl M., Anton. R. (1999). Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed Tec & Doc. Editions Médicales Internationales, p 636.
- Wilson A., Ayoub a., (1994). Halophytes and shrubs in semi-arid regions of Australia: value for grazing and land stabilization In: V.R squires.
- Wynn S G., Fougère B. (2007). Veterinary Herbal Medicine. Elsevier Health Sciences, Chapter 19, p 275-290.

Y

- Yam M.F, Ang L.F, Ameer O.Z, Salman I.M, Aziz H.A, Asmawi M.Z. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of Elephantopus tomentosus ethanolic extract. Journal of acupuncture and meridian studies. ; p 280-287. Available on : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20633503>.

Z

- Zeghad N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine.

- Zid E., Boukheris M. (1977). Quelques aspects de tolérance de l'*Atriplex halimus* L. en chlorure de sodium, multiplication, composition minérale. *Oecol. Plant*, 12, p 351.

89-110. *hydrangea*. *Phytochemistry*. Vol. (16):249-253. surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle.

www.keneya.net/fmpos/theses/2006/pharma/pdf/06P18.pdf